



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**“Efecto de la suplementación crónica de D-serina sobre conductas espontáneas y la conectividad funcional cerebral de ratas envejecidas”**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**LIC. ALEJANDRO MEDA HERNÁNDEZ**

**TUTOR PRINCIPAL:**

**DRA. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES – JURQUILLA, UNAM**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:**

**DR. LUIS ALBERTO TELLEZ LIMA**

**INSTITUTO DE NEURIBIOLOGÍA, UNAM**

**DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRIGUEZ**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNAM**

**CAMPUS UNAM JURQUILLA, QUERÉTARO, QRO, MÉXICO, FEBRERO, 2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

*“Si hay algo en nosotros verdaderamente divino es la voluntad, por ella afirmamos la personalidad, templamos el carácter, desafiamos la adversidad, reconstruimos el cerebro y nos superamos diariamente”*

Santiago Ramón y Cajal en Pensamientos de tendencia educativa

Dedicado a mis abuelos, Pablo Meda, Rosa Leal, Carlos Hernández y a la memoria de Carmen Herrera;  
por ser el pilar de la familia y ejemplo de valores, con el deseo que los frutos de este trabajo lleven a  
facilitar el derecho a una vejez digna para las personas mayores

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca NO. 1133422 para la realización de mis estudios de maestría, al proyecto CONAHCYT Ciencia de Frontera 171874 y PAPIIT-DGAPA IA208120 y IA208022.

A mi tutora. Dra. Mónica Andrea López Hidalgo, por su apoyo constante en mi formación académica y personal.

A los miembros de mi comité tutorial, Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez y Dr. Luis Alberto Tellez Lima, por sus valiosas contribuciones que ayudaron a dar forma a este trabajo.

Al Dr. Martín García Servín, a la Dra. Alejandra Castilla León, a la Dra. María Antonieta Carbajo y demás personal del Laboratorio Universitario de Bioterio del Instituto de Neurobiología, por proveer los animales para este proyecto de investigación y su apoyo en el alojamiento y mantenimiento del bienestar animal.

A la Dra. Deisy Gasca Martínez, técnico académico de la unidad de análisis conductual del Instituto de Neurobiología, por proveer los espacios y apoyo técnico para la realización de las pruebas conductuales.

Al Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética (LANIREM), por facilitar el espacio y equipo necesario para los estudios de imagen por resonancia magnética.

Al Dr. Juan José Ortiz Retana, técnico académico del LANIREM; por su apoyo técnico y en la adquisición de las imágenes por resonancia magnética.

A la Dra. Nuri Aranda López, coordinadora de la unidad de enseñanza del Instituto de Neurobiología, por su apoyo en lo administrativo durante el proceso de maestría.

Al Dr. Sarael Alcauter, por su contribución en el análisis de imágenes de resonancia.

Al Dr. Oswaldo Pérez, por sus aportes en el análisis de los datos y diseño de modelos matemáticos.

A Cutberto Dorado y Rafael Olivares, por su apoyo técnico en el trabajo de laboratorio.

A mis compañeros del laboratorio de interacciones neurogliales. Por todo el aprendizaje compartido y su apoyo incondicional. A Laura Nava, Alejandra Calero, Angelica Rivera, Barbara Vázquez, Frida Higinio, Jonathan Gutiérrez, Laura del Pilar.

A nuestro laboratorio hermano, laboratorio de integración sensorimotora, por todas las experiencias compartidas. A Verónica López, Martin Masías, Moisés Altamira, Paola Rodríguez, Juliana Loza, y en especial al Dr. Gerardo Rojas Piloni, gracias por brindarme un espacio para desarrollarme.

A mi familia, en especial a mis padres, Gilberto Meda y Maricela Hernández, por su apoyo, por creer que podía lograr lo que me propusiera y por enseñarme el valor del trabajo honesto.

## Resumen

La D-serina es un coagonista del receptor *N-metil-D-aspartato* (NMDA), localizada en la corteza cerebral, hipocampo y ganglios basales; regiones con actividad glutamatérgica asociada a procesos cognitivos y emocionales. En el envejecimiento existe una disminución en los niveles de D-serina en el cerebro y de la actividad del receptor NMDA, que se ha asociado con el deterioro en diversas funciones cognitivas y con cambios en el estado de ánimo. Estos efectos en el envejecimiento podrían estar relacionados con cambios en el comportamiento motivado, en el que las alteraciones en el estado de ánimo se manifiestan con una menor voluntad de los individuos a involucrarse en tareas cognitivamente demandantes. En este trabajo, evaluamos las conductas motivadas en ratas envejecidas suplementadas crónicamente con D-serina utilizando herramientas de *deep learning*. Además, evaluamos cambios en la conectividad funcional cerebral con estudios de resonancia magnética funcional. Nuestros resultados demuestran que los animales envejecidos indicaron menores conductas similares a la ansiedad en un entorno novedoso y más conductas exploratorias. A nivel de redes funcionales, los animales envejecidos presentaron una disminución en la conectividad funcional entre regiones asociadas a conductas motivadas que forman parte de la red mesolímbica de recompensas y mayor conectividad funcional entre regiones asociadas al procesamiento de información emocional que forman parte de la red de control frontoparietal y la red de social de toma de decisiones. Tras la suplementación crónica de D-serina, observamos cambios conductuales en animales jóvenes y adultos, pero no en aquellos de mediana edad. A nivel de las redes funcionales, la D-serina revierte los cambios que ocurren con la edad. Esta discrepancia entre los resultados conductuales y a nivel de redes podría explicarse por la diferencia en los niveles de alerta entre un entorno novedoso y en un estado de habituación. En general, estos resultados sugieren un papel de la D-serina en la modulación de conductas motivadas y el estado de ánimo, y cómo el efecto de la suplementación de D-serina es dependiente de la edad, posiblemente por variaciones en los niveles iniciales de la D-serina en estas áreas glutamatérgicas del cerebro, que determinan su actividad.

## Abstract

D-serine it's a coagonist of the N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA), localized in the cerebral cortex, hippocampus, and basal ganglia; regions with glutamatergic activity associated with cognitive and emotional functions. With ageing, it occurs a reduction in D-serine levels and NMDA receptor activity, that's been associated with changes in cognition and mood. These changes might be related by means of changes in motivated behavior in which individuals with altered mood are less willing to engage in cognitive demanding tasks. In this work, we evaluated motivated behaviors on aged rats chronically supplemented with D-serine using deep learning tools. We also evaluated changes in brain functional connectivity using functional magnetic resonance imaging. Our results on aged rats suggest reduced anxiety like behaviors in a novel environment and more explorative behaviors. At the level of brain functional networks, aged animals presented reduced functional connectivity between regions included in the mesolimbic reward network, associated with motivated behaviors; and also increased functional connectivity between regions included in the frontoparietal control network and the social decision-making network, associated with emotional information processing. After chronic D-serine supplementation, we observed behavioral changes in young and adult animals, but not middle aged. The treatment also reversed the effect of ageing in brain functional connectivity networks. The apparent discrepancy between behavioral results and those of brain functional connectivity at different ages might be explained by differences in the arousal state in a novel environment and in habituation. Overall, these results suggest a role for D-serine in the modulation of motivated behaviors and mood, and also an aged dependent effect for the D-serine supplementation, possibly by variations in basal D-serine levels in glutamatergic brains areas that determine its activity.

# Índice

Agradecimientos .....	iv
Resumen .....	vi
Abstract .....	vii
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	2
2.1 El envejecimiento .....	2
2.1.1 Panorama general .....	2
2.1.2 Deterioro cognitivo asociado al envejecimiento.....	4
2.1.3 Alteraciones del estado de ánimo y motivación.....	5
2.1.4 Cambios anatómicos y funcionales en el sistema nervioso central en el envejecimiento .....	10
2.2 Receptor NMDA, D-serina y plasticidad .....	11
2.2.1 Fisiología del receptor NMDA .....	11
2.2.3 Receptor NMDA en el envejecimiento.....	15
2.2.4 Fisiología de la D-serina .....	17
2.2.5 D-serina en el envejecimiento .....	19
2.2.6 Farmacocinética de la D-serina .....	21
2.3 Imagenología por resonancia magnética y redes neuronales .....	24
2.3.1 Conectividad funcional medida por imagenología por resonancia magnética.....	24
2.3.2 Participación de redes neuronales en funciones cognitivas y conductuales .....	24
3. Justificación .....	27
4. Hipótesis.....	28
5. Objetivos .....	28
5.1 Objetivo general.....	28
5.2 Objetivos específicos.....	28
6. Metodología.....	28
6.1 Sujetos.....	28
6.2 Suplementación crónica de D-serina .....	29
6.3 Tareas conductuales.....	29
6.3.1 Campo abierto .....	29
6.3.2 Laberinto elevado en cruz.....	30
6.3.3 Prueba de interacción social .....	30

6.3.4 Modelos de Machine Learning y Deeplabcut .....	30
6.4 Resonancia Magnética .....	37
6.4.1 Adquisición de imágenes anatómicas y funcionales.....	37
6.4.2 Preprocesamiento .....	38
6.4.3 Análisis de conectividad funcional con Network Based Statistics (NBS).....	39
7. Resultados .....	40
7.1 Caracterización de los cambios en la conducta espontánea y actividad de redes de conectividad funcional cerebral con el envejecimiento .....	40
7.1.1 Cambios en la conducta similar a ansiedad y de exploración con la edad .....	40
7.1.2 Efecto del envejecimiento sobre la conectividad funcional cerebral de diferentes redes.....	42
7.1.3 Correlaciones entre la conducta espontánea y la actividad funcional neuronal en estado de reposo .....	45
7.2 Caracterización del efecto de la D-serina sobre la actividad espontánea y la conectividad funcional cerebral en ratas de diferentes edades.....	48
7.2.1 La suplementación con D-serina aumenta la conducta de exploración en animales jóvenes y adultos.....	48
7.2.2 El efecto de la D-serina en la conectividad funcional es dependiente de la edad, y en animales envejecidos revierte los cambios que ocurren con la edad .....	48
7.2.3 La suplementación con D-serina tiene efectos en la correlación entre la actividad cerebral y la conducta espontánea.....	51
8. Discusión .....	54
8.1 Conectividad funcional y conducta .....	54
8.1.2 Cambios en las conductas espontáneas y la conectividad funcional asociada con el envejecimiento.....	54
8.1.3 Efecto de la D-serina sobre las conductas espontáneas y la conectividad funcional en animales de diferentes edades.....	57
8.1.4 Cambios en los mecanismos de control ejecutivo como mediador del efecto de la D-serina en funciones cognitivas.....	59
8.1.5 Perspectivas de redes, conectividad y MRI .....	60
8.2 Mecanismos celulares, moleculares y electrofisiológicos.....	61
8.3 Limitaciones y perspectivas futuras .....	63
9. Conclusiones .....	64
10. Referencias.....	65

# 1. Introducción

El envejecimiento es un proceso asociado con el avance de la edad con efecto en diferentes funciones. De los sistemas más afectados se encuentra el sistema nervioso central, con alteraciones tanto anatómicas como funcionales (Cole et al., 2019). Estas alteraciones se han asociado a cambios en la señalización glutamatérgica mediada por el receptor NMDA (Kumar, 2015; Magnusson et al., 2010). Este receptor está involucrado en diferentes tipos de plasticidad sináptica como es potenciación de larga duración (LTP) y depresión de larga duración (LTD), además de regular la actividad neuronal tanto excitatoria como inhibitoria, modulando la actividad a nivel de redes neuronales (Hansen et al., 2021). Para que ocurra la apertura del receptor, se requiere la despolarización previa de la membrana para remover el bloqueo por iones  $Mg^{+2}$ , en coincidencia con la unión de glutamato. De manera particular, también es necesaria la unión del coagonista D-serina, un aminoácido presente en el sistema nervioso central de mamíferos sintetizado a partir de la L-serina por la enzima serina racemasa (J.P. Mothet et al., 2000; Wolosker et al., 1999). Los niveles de D-serina en el cerebro cambian a lo largo de la vida. En el periodo postnatal, elevaciones de los niveles de D-serina tienen un papel en procesos de desarrollo cerebral, mientras que en el envejecimiento los niveles de D-serina disminuyen, lo cual está acompañado por una disminución en la actividad de los receptores NMDA.

Se ha probado el uso de D-serina para revertir cambios cognitivos en el envejecimiento (J. P. Mothet et al., 2006). En nuestro grupo hemos probado como la suplementación con D-serina en animales envejecidos mejora la flexibilidad cognitiva al aumentar la reserva, con correlatos a nivel de redes funcionales cerebrales (Nava-Gómez et al., 2022); V. Además, hemos encontrado que los animales envejecidos tratados con D-serina son más activos en la rueda de actividad locomotora (resultados no publicados). Ante esto, nos preguntamos si podía existir un mecanismo subyacente que explicara estos efectos cognitivos y motores. Planteamos que esto sería posible debido a cambios en la conducta motivada, que permitiera reclutar

mayores recursos cerebrales e involucrarse en tareas demandantes, con posibles efectos en el valor recompensante de los estímulos. Para probar esta hipótesis, evaluamos animales a diferentes edades tratados con D-serina en una batería de pruebas de comportamientos espontáneos, diseñada para evaluar aspectos de alerta, exploración y conducta social. También evaluamos cambios en la conectividad funcional cerebral utilizando Imagen por Resonancia Magnética funcional (fMRI) entre regiones involucradas con aspectos de control, recompensa y toma de decisiones. Esta evidencia puede favorecer la propuesta del uso de la D-serina como suplemento para prevenir y/o revertir los cambios cognitivos y del comportamiento que ocurren en el envejecimiento, que lleve a mejorar la calidad de vida de las personas mayores.

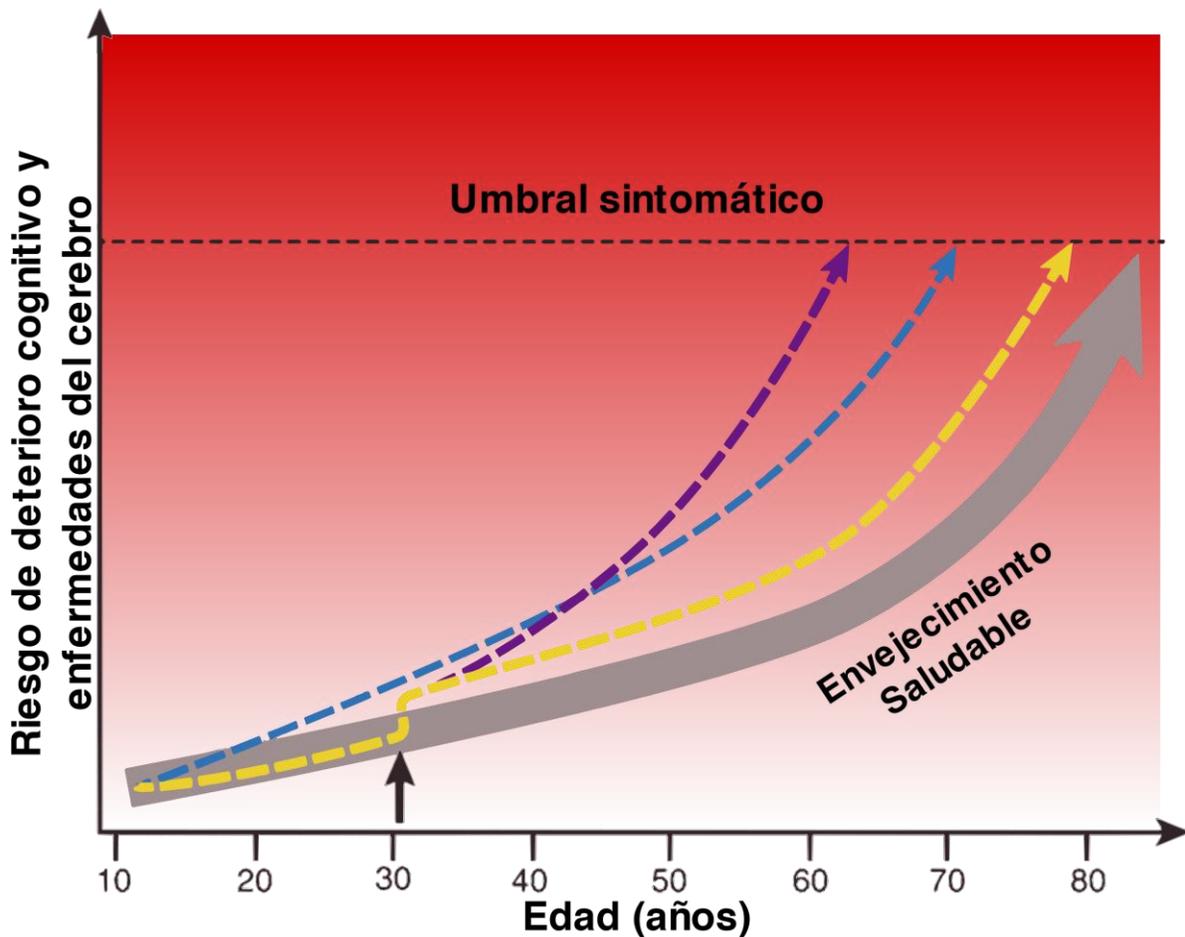
## **2. Antecedentes**

### ***2.1 El envejecimiento***

#### ***2.1.1 Panorama general***

El envejecimiento es a menudo definido como un proceso biológico normal asociado al avance de la edad, caracterizado por la acumulación gradual de cambios deletéreos acompañados de una progresiva pérdida de función y mayor riesgo de enfermedad y muerte (Harman, 2006). Sin embargo, no todos los seres humanos experimentan el envejecimiento de la misma manera. Existe una gran variabilidad en el tiempo de aparición de sus manifestaciones externas, así como de las enfermedades asociadas y la expectativa de vida (Cole et al., 2019). También existen diferencias en la magnitud y tiempo de aparición del deterioro entre las funciones afectadas, en las que algunas incluso mejoran con la edad (Maldonado et al., 2020; Salthouse, 2019; Veríssimo et al., 2022). Por lo tanto, el envejecimiento es en realidad un proceso complejo, y entender mejor sus particularidades puede ser valioso para garantizar un envejecimiento saludable. Un concepto propuesto para entender estas particularidades es el de las trayectorias del envejecimiento (Fig. 1), que plantea que existen diferentes formas en las que las personas presentan deterioro con el

envejecimiento y en qué momento o si llegarán a presentar síntomas de enfermedad, determinado por factores genéticos o ambientales y no solo por la edad cronológica. Por ejemplo, una persona puede tener un factor genético o ambiental que lo predisponga a una mayor tasa de envejecimiento a lo largo de la vida (línea azul). Alternativamente, alguien puede experimentar una lesión traumática o infección en la adultez (flecha negra), que resulte en que siga una trayectoria de envejecimiento acelerada (línea morada), o con un cambio súbito, pero estable (línea amarilla).



**Figura 1. Representación de trayectorias de envejecimiento cerebral.** A mayor edad cronológica, los individuos tienen mayor riesgo de deterioro cognitivo y enfermedades cerebrales, hasta eventualmente alcanzar un umbral donde aparecen síntomas negativos. Línea azul, trayectoria por factor de predisposición genética o ambiental; flecha negra, evento traumático; línea amarilla, trayectoria con cambio súbito; línea morada, trayectoria acelerada. (Adaptado de Cole et al., 2019).

Existe una tendencia a nivel mundial hacia un aumento en la proporción de adultos mayores en la población. Según el último reporte de las Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2022), el porcentaje de personas mayores de 65 años pasará del 10% en 2022 al 16% en 2050. Este incremento se debe en parte a un aumento en la esperanza de vida, así como a una disminución en las tasas de fertilidad, y que afecta en mayor medida a países desarrollados. Estos cambios demográficos representarán un reto para las naciones que tendrán que asegurar la seguridad y salud social de una población cada vez más envejecida.

México presenta un panorama similar, en el que se estima que la población mayor de 65 años pasara del 8% en 2022 al 19% en 2050. Esto es relevante cuando se considera que, según el último censo de población y vivienda, el 20% de las personas adultas mayores no están afiliadas a una institución de servicios de salud (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2020). Así, para asegurar el bienestar en el envejecimiento y evitar la saturación de los sistemas de salud pública, será importante invertir a futuro en el desarrollo científico y tecnológico que permita esclarecer los mecanismos asociados al envejecimiento y encontrar tratamientos eficaces para retrasar, prevenir o revertir el deterioro asociado al envejecimiento y sus manifestaciones clínicas.

### *2.1.2 Deterioro cognitivo asociado al envejecimiento*

Entre las alteraciones que tienen un mayor impacto en la calidad de vida de los individuos mayores se encuentra el deterioro cognitivo relacionado al envejecimiento, en particular el de aquellas funciones que afectan su sentido de control e independencia (Toh et al., 2020). El envejecimiento está relacionado con un mayor riesgo de enfermedades neurodegenerativas como la demencia y de esta cerca del 50% deriva en el Alzheimer. El problema es relevante debido a que los individuos que no estén diagnosticados en tiempo con estos padecimientos pueden presentar afectaciones en sus funciones cognitivas relacionadas al envejecimiento, por lo que es importante distinguir entre el deterioro cognitivo en el envejecimiento normal

del asociado a un proceso patológico (Deary et al., 2009; Harada et al., 2013). Entre las funciones afectadas por el envejecimiento se encuentran las llamadas habilidades mentales fluidas, que son aquellas involucradas con la resolución de problemas, el procesamiento de información y en la manipulación del entorno, debido a que son importantes para la realización de actividades cotidianas para llevar una vida plena. Éstas incluyen aspectos de memoria, funciones ejecutivas, velocidad de procesamiento y razonamiento. Por otro lado, las habilidades mentales cristalizadas se refieren a aquellas habilidades y conocimientos que son sobreaprendidos y familiares, que son adquiridos a través de la experiencia y la práctica en el transcurso de la vida, como es el conocimiento general y el vocabulario, habilidades que mejoran con la edad (Deary et al., 2009; Harada et al., 2013; Salthouse, 2010, 2019).

### *2.1.3 Alteraciones del estado de ánimo y motivación en el envejecimiento*

También asociados al envejecimiento hay cambios afectivos y emocionales, como son una disminución del bienestar, del estado de ánimo y de la motivación (Ferrari et al., 2013; Lampe et al., 2001; Lukaschek et al., 2017; Steptoe et al., 2015). Existen diferentes teorías de la motivación a lo largo de la vida que sirven para entender estos cambios que ocurren en el envejecimiento (Swirsky & Spaniol, 2019). En general, estas teorías postulan que la disminución de recursos disponibles en el envejecimiento lleva a cambios en las prioridades motivacionales, influenciando la participación en tareas y procesamiento de información. Por su parte, el coste de esfuerzo se refiere a la evaluación del gasto potencial de recursos asociados a realizar una acción, como pueden ser energía y tiempo, así como a la capacidad de ejercer autocontrol para realizar dicha acción (Croxson et al., 2009; Kurzban, 2016).

Con el envejecimiento, las personas mayores reportan menores niveles de experiencias emocionales negativas conservando sus niveles de experiencias positivas (Carstensen et al., 2011). Esto se ha relacionado con cambios en la atención y memoria para favorecer estímulos con contenido positivo (Mather &

Carstensen, 2005). Las personas mayores son capaces de discriminar el valor recompensante entre diferentes estímulos, y muestran mayor preferencia por estímulos de “alto valor” sobre estímulos de “bajo valor” (Mather & Carstensen, 2005; Spaniol et al., 2014). Se ha propuesto que este efecto de positividad podría reflejar cambios en las prioridades motivacionales de los individuos, favoreciendo seguir metas que los lleven a mantener su regulación emocional sobre aquellas que podrían representar oportunidades de crecimiento y desarrollo. También se ha planteado que la expectativa de tiempo de vida restante es el principal predictor de este cambio en las prioridades motivacionales, incluso por encima de la edad cronológica (Carstensen et al., 1999). Más aun, se ha mostrado que estas percepciones pueden ser maleables. Al imponer restricciones temporales, se pueden cambiar las prioridades motivacionales de individuos jóvenes y viejos. Así, una expectativa de tiempo de vida restante limitada lleva a priorizar objetivos en el corto plazo y una regulación emocional positiva, mientras que una expectativa de tiempo de vida restante más abierta puede favorecer el seguir objetivos a largo plazo que lleven al desarrollo personal, los cuales usualmente implican invertir recursos adicionales y conllevan realizar algún tipo de esfuerzo.

En el ámbito social, se ha encontrado que con la edad disminuye el número de interacciones sociales. Esta disminución va acompañada de una mayor selectividad en el número de relaciones que los individuos mantienen con la edad, favoreciendo relaciones emocionalmente cercanas y significativas (Carstensen, 1992; Lang & Carstensen, 1994). Esto es consistente con la idea que la limitación de recursos en el envejecimiento favorece el desarrollar relaciones ya existentes para optimizar la satisfacción personal. Sin embargo, hay evidencias que sugieren el mantener encuentros con amigos que no son considerados cercanos por lo que está asociado con un mejor estado de ánimo, al mantener una red social más amplia en realidad puede mejorar el bienestar en el envejecimiento (Ng et al., 2021). Por otro lado, algunos resultados sugieren que las personas mayores son más empáticas y prosociales (Sze et al., 2012). Sin embargo, esto puede estar condicionado por el costo de esfuerzo asociado a la interacción. Cuando el costo de esfuerzo está ajustado a las capacidades del individuo, las personas mayores son más prosociales y menos egocéntricas,

estando dispuestas a realizar el mismo esfuerzo para obtener una recompensa para si mismos que para alguien más (Lockwood et al., 2021), pero en condiciones similares de alto esfuerzo las personan mayores son menos prosociales que las personas jóvenes (Byrne et al., 2022).

Asociado al envejecimiento hay una disminución en la actividad física, tanto en el tiempo dedicado a actividad física como la intensidad de esta (Chodzko-Zajko et al., 2009). Se han encontrado diversos predictores de un bajo nivel de actividad física en el envejecimiento, que incluyen factores como un pobre estado de salud, baja motivación, poca disponibilidad de espacios, y tener una actitud negativa sobre el envejecimiento (Rai et al., 2020). Aunque se ha propuesto una visión de coste de esfuerzo en la realización de actividad física (Cheval & Boisgontier, 2021), esta no ha sido evaluada en el envejecimiento. Sin embargo, los resultados previos son consistentes con esta visión y con las teorías de la motivación a lo largo de la vida, en la que las limitaciones físicas y estructurales representan mayores costes para realizar actividad física, disminuyendo la motivación para mantenerse activo.

Finalmente, hay evidencias que sugieren que en el envejecimiento disminuye el número de actividades cognitivamente demandantes que realizan los adultos mayores en su vida cotidiana (Hertzog et al., 2008). Esta disminución se ha correlacionado con mayores costes de esfuerzo cognitivo en el envejecimiento (Aschenbrenner et al., 2023; Crawford et al., 2023; Hess & Ennis, 2012). Así, mayores costes de esfuerzo cognitivo en el envejecimiento condicionan la participación de los adultos mayores en actividades cognitivamente demandantes. También se ha encontrado que mantener la participación en este tipo de actividades puede ayudar a preservar las funciones cognitivas en el envejecimiento (Hultsch et al., 1999) lo que puede dar lugar a un ciclo autosustentable en el que mantenerse activo cognitivamente mejora las funciones cognitivas y facilita el seguir manteniéndose activo.

Factores que pueden influenciar el impacto del coste de esfuerzo para involucrarse en tareas demandantes físicas o cognitivas son la disponibilidad de recursos y la motivación intrínseca. La importancia de los recursos disponibles se ve reflejado en el trabajo de Queen y Hess (2018), en el que los adultos mayores con mejores recursos físicos y cognitivos están intrínsecamente motivados para involucrarse en tareas en comparación con adultos mayores con recursos reducidos. En otro estudio, Hess y colaboradores (2018), encontraron que la motivación intrínseca puede contrarrestar el costo del esfuerzo asociado a involucrarse en tareas demandantes. Así, se utilizó la presión sistólica como medida del nivel del esfuerzo, y estimó la motivación intrínseca a través de una autoevaluación de los sujetos. Las personas mayores que reportaron mayor motivación intrínseca se desempeñaron mejor en una tarea cognitiva, aun en condiciones de alto esfuerzo.

Los factores que pueden influenciar la motivación intrínseca en personas mayores difieren de las personas jóvenes. El sentido de responsabilidad juega un papel importante para las personas mayores, al aumentar el sentido de relevancia y proveer satisfacción por el cumplimiento de tareas. Las personas mayores son más susceptibles a involucrarse en una tarea y realizar esfuerzo en condiciones de alto sentido de responsabilidad, efecto ausente en personas jóvenes (Hess et al., 2009). Otro factor importante es la percepción subjetiva de las habilidades propias y una actitud positiva del envejecimiento. Se ha reportado que las personas mayores con mejores actitudes sobre el envejecimiento tienen mejor salud y mayor esperanza de vida. Este efecto está parcialmente mediado por el nivel de actividad física y de participación en actividades placenteras que mantienen las personas mayores (Beyer et al., 2015; Breda & Watts, 2017; Hicks & Siedlecki, 2017; Sarkisian et al., 2005). Esto es consistente con lo encontrado por Hess y colaboradores (2018), donde reportaron que una actitud positiva sobre el envejecimiento puede aumentar la motivación intrínseca, disminuyendo así el coste de esfuerzo para involucrarse en tareas demandantes. Este efecto podría explicarse también si las personas que reportan mejores actitudes sobre el envejecimiento simplemente tienen mejor salud o mayor preservación de sus capacidades físicas y cognitivas. Sin embargo,

existe evidencia de que una mayor motivación puede permitir superar mayores costes de esfuerzo, independientemente de los recursos disponibles (Hess et al., 2018). Incluso se han planteado estrategias de intervención orientadas a influir sobre estas percepciones subjetivas. En el caso de West y colaboradores (2008), encuentran que este tipo de intervenciones son efectivas para mejorar la memoria en adultos mayores. Así, tener una actitud positiva sobre el envejecimiento y un juicio favorable sobre las habilidades propias, aumenta la motivación de las personas mayores para mantenerse activos, y este mayor nivel de actividad favorece el mantenerse saludable y evitar el deterioro de diversas funciones en el envejecimiento.

Estos cambios son relevantes ya que mantener emociones positivas en el envejecimiento se ha asociado con mejores capacidades funcionales y de mayor esperanza de vida (Brummett et al., 2011; Carstensen et al., 2011). Por su parte, mantenerse activo social y físicamente son determinantes de un envejecimiento saludable (Eckstrom et al., 2020; McKee & Schüz, 2015). Mantenerse activo cognitivamente ayuda a preservar las funciones cognitivas, que a su vez ayudan a mantener un sentido de control que influye en su bienestar (Toh et al., 2020). Estos diferentes factores podrían estar interrelacionados. Las personas que se mantienen activas física y socialmente también preservan mejor sus funciones cognitivas. Se han propuesto diferentes mecanismos para esta relación entre los que incluye relaciones indirectas como comorbilidad, cambios en la condición cardiovascular que mejora la oxigenación del cerebro propiciados por una mejor condición física. Sin embargo, esto también podría ser indicador de mecanismos neuronales compartidos entre procesos cognitivos, afectivos y motivacionales. Por lo que influir en estos mecanismos subyacentes podría tener efectos ampliamente distribuidos. Así mismo, estudiar los cambios de estos mecanismos en el envejecimiento podría ayudar a entender la funcionalidad de estos sistemas.

Bajo esta perspectiva, estrategias para mejorar la calidad de vida de en el envejecimiento pueden ir dirigidas a conservar o aumentar los recursos disponibles en el envejecimiento, como son las funciones cognitivas,

capacidades motoras y estado de salud en general, reduciendo así el costo de esfuerzo asociado a actividades cotidianas. Aunque también podría ser efectivo el mejorar el estado de ánimo y motivación en el envejecimiento, que permita alocar más recursos y superar los mayores costes de esfuerzo. Ambas estrategias facilitarían en adultos mayores el involucrarse en actividades cognitivamente demandantes que les permitan superar retos en su vida cotidiana, realizar actividad física y permanecer socialmente activos, permitiendo así una vida más plena y enriquecedora.

Para entender los cambios tanto en las capacidades físicas y cognitivas como de la motivación intrínseca de los individuos es necesario conocer los cambios estructurales y funcionales que ocurren en el envejecimiento en diferentes sistemas. En este trabajo, nos enfocamos en los cambios que ocurren en el sistema nervioso central (SNC).

#### *2.1.4 Cambios anatómicos y funcionales en el sistema nervioso central en el envejecimiento*

En el envejecimiento existen alteraciones como la disminución del tamaño de la sustancia gris, especialmente en la corteza prefrontal (Harada et al., 2013). Esta disminución puede ser causada por la pérdida de neuronas, aunque también puede explicarse por el tamaño y número de conexiones entre ellas. Las neuronas sufren alteraciones asociadas al envejecimiento que incluyen una disminución en la complejidad de la arborización dendrítica, menor longitud y menor número de dendritas (Dickstein et al., 2007). En paralelo, existe una disminución en el volumen de la sustancia blanca, que es incluso aún mayor que en la sustancia gris (Salat et al., 1999). Esta disminución está asociada a una pérdida de mielina axonal relacionada con la edad (Fjell & Walhovd, 2010).

La disminución en la sustancia blanca podría generar deficiencias en la comunicación entre estructuras cerebrales, alterando la funcionalidad. En este contexto, Rogalski y colaboradores (2012), describen una disminución en la sustancia blanca parahipocámpal, lo que lleva a una menor comunicación entre las estructuras del hipocampo, que podría explicar el déficit de memoria asociado a la edad. De igual manera, O'Sullivan y colaboradores (2001), encontraron una disminución en la sustancia blanca prefrontal relacionada con el envejecimiento, que se asocia con la pérdida de funciones ejecutivas. Finalmente, Madden y colaboradores (2008), encontraron que la pérdida de integridad de la porción central del cuerpo calloso está involucrada en el deterioro cognitivo relacionado a la edad.

Además de los cambios estructurales se han reportado alteraciones relacionadas con la comunicación neuronal, siendo particularmente importante en el envejecimiento el funcionamiento de los receptores NMDA que podrían estar asociados a las alteraciones cognitivas.

## ***2.2 Receptor NMDA, D-serina y plasticidad***

### ***2.2.1 Fisiología del receptor NMDA***

Los receptores N-metil-D-Aspartato (NMDAR), son un tipo de receptor ionotrópico de glutamato cuya actividad se ha relacionado con procesos de neurodesarrollo, plasticidad sináptica y excitotoxicidad (Hansen et al., 2021). Estructuralmente, los NMDAR son hetero-tetrámeros que forman un canal iónico permeable a cationes (Fig. 2). Existen tres familias de subunidades del receptor NMDA: GLUN1, GLUN2 y GLUN3. Adicionalmente, la familia GluN2 incluye cuatro posibles subunidades (GLUN2A-D) y la familia GluN3 incluye dos (GLUN3A-B). Los receptores NMDA están formados por dos subunidades GluN1, y una combinación de dos de las subunidades GLUN2 y GLUN3. La subunidad GluN1 contiene el sitio de unión al coagonista, mientras las subunidades GluN2 unen al agonista Glutamato. De manera

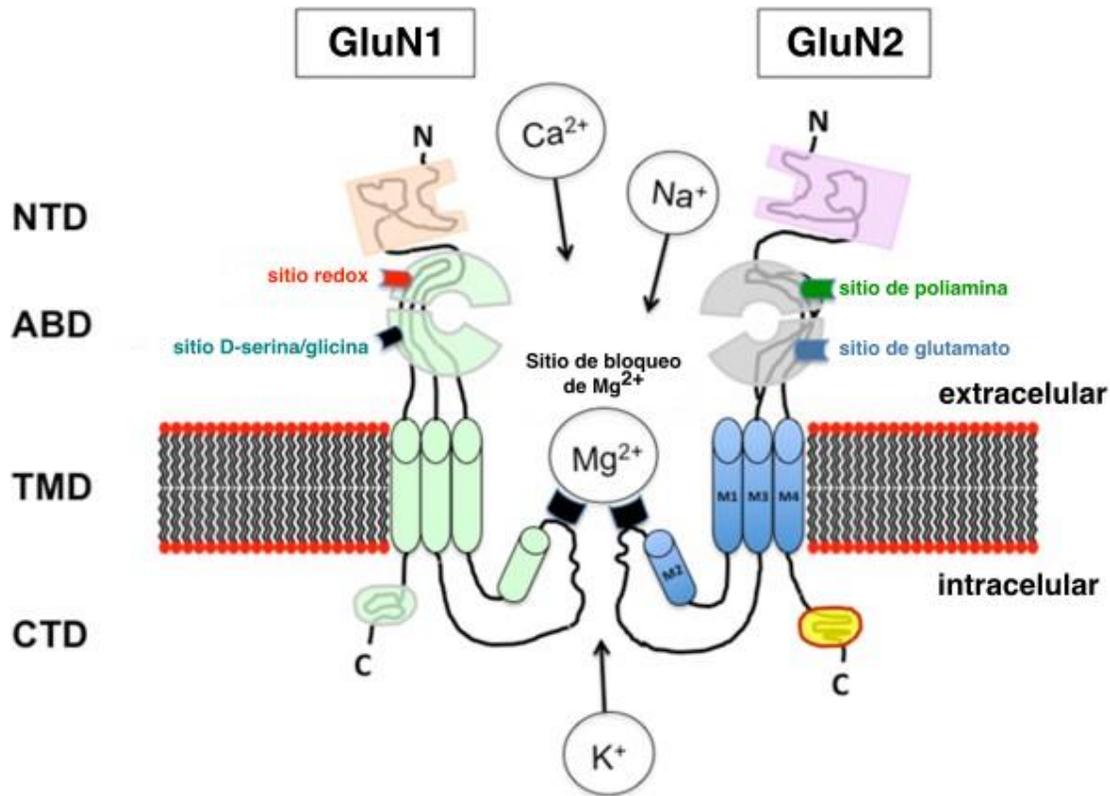
sobresaliente, existen receptores NMDA formados por subunidades GluN1/3 que no se unen al glutamato, y que pueden ser activados con solo la glicina (o D-Serina).

Las subunidades de NMDAR comparten una estructura común. En el extremo extracelular, se encuentra un dominio N-terminal (NTD), que regula el ensamble y tráfico del receptor; y un dominio de unión al agonista (ABD), que también tiene sitios de interacción para antagonistas competitivos y reguladores alostéricos. El dominio transmembrana (TMD), está formado por 3 hélices (M1, M3 y M4) y un bucle (M2), que forman el poro del canal y determinan su selectividad. Finalmente, el Dominio Carboxilo Terminal (CTD), se encuentra en el extremo intracelular y es importante para la integración de diferentes cascadas de señalización y es susceptible a modificaciones postraduccionales.

De manera particular, la activación de los NMDAR requiere de la unión de un coagonista (D-serina o glicina) en su sitio específico, y de la unión del agonista principal. Además, en voltajes cercanos al potencial de membrana en reposo, los NMDAR presentan un bloqueo extracelular por iones  $Mg^{2+}$  que es dependiente de voltaje y se remueve durante un proceso de despolarización. Este mecanismo les permite actuar como un detector de coincidencia, en donde se requiere la despolarización de membrana de manera simultánea a la activación del receptor para que el canal se abra. La apertura del canal produce un aumento en los niveles de  $Ca^{+2}$  intracelular, lo que desencadena mecanismos de señalización intracelular, que pueden terminar en procesos de neurodesarrollo y plasticidad neuronal, pero también se ha relacionado con excitotoxicidad.

Los NMDAR son funcionalmente diversos con una amplia distribución en el SNC, con variaciones regionales y temporales en la composición de sus subunidades, lo que le confiere diferentes propiedades biofísicas y farmacológicas. Esta diversidad también afecta los mecanismos de regulación alostérica de los

receptores, lo que últimamente ha llamado la atención, ya que la desregulación de los NMDAR se ha asociado a diferentes condiciones patológicas y al deterioro asociado al envejecimiento.



**Figura 2. Representación esquemática de la organización modular del receptor NMDA.** El segmento extracelular incluye el dominio N-terminal (NTD) y el dominio de unión al agonista (ABD), donde la D-serina o glicina se unen a la subunidad GluN1 y Glutamato a la subunidad GluN2. El ABD también contiene sitios reguladores redox y poliamina. El canal iónico está localizado en el dominio transmembrana (TMD) que contiene el sitio para bloqueo por magnesio ( $Mg^{2+}$ ) mientras que el dominio C-terminal (CTD) se encuentra en el segmento intracelular. Adaptado de Billard (2018).

Durante el desarrollo temprano en el cerebro se expresa de manera predominante la subunidad GluN2B. Ésta alcanza sus niveles más altos en la primera semana de edad postnatal, luego, disminuye y queda restringida a regiones frontales. Por su parte, la subunidad GluN2A inicia su expresión poco después del nacimiento y aumenta de manera progresiva conforme se alcanza la madurez hasta estar ampliamente distribuida en el cerebro (Monyer et al., 1994). Por lo tanto, se ha propuesto que existe un cambio

programado en la predominancia de GluN2B por GluN2A que es importante para mediar los cambios funcionales y de plasticidad determinantes en esta etapa del desarrollo (Liu et al., 2004).

También se han descrito diferentes papeles de la señalización de NMDAR en procesos de plasticidad sináptica e incluso de muerte neuronal. La diferente composición y localización espacial de los receptores puede producir diferentes propiedades de las corrientes de catiónicas, que desencadena diferentes vías de señalización celular. Por ejemplo, los receptores sinápticos aumentan la activación de la proteína de unión a CREB, que aumenta la expresión del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés); mientras que los receptores extrasinápticos disminuyen la activación de CREB (Hardingham et al., 2002; Vanhoutte & Bading, 2003).

Otro factor que podría influenciar la actividad diferencial de receptores sinápticos y extra sinápticos es una afinidad diferencial por sus agonistas. La glicina es el coagonista preferencial de los receptores NMDA extrasinápticos, mientras que la D-serina lo es en los receptores sinápticos (Papouin et al., 2012). En concordancia, se ha encontrado que los receptores GluN2A tienen mayor afinidad por el coagonista D-serina, mientras que los receptores formados por la subunidad GluN2B la tienen por la glicina (Matsui et al., 1995). Adicionalmente, se ha encontrado que durante el desarrollo ocurre un cambio en la identidad del coagonista, de glicina a D-serina, que coincide con el cambio en expresión de la subunidad GluN2B a GluN2A (Le Bail et al., 2015).

Los NMDAR también pueden cumplir diferentes papeles según el tipo celular que los exprese. Aunque son bien conocidos por su actividad excitatoria, se encuentran NMDAR en interneuronas inhibitorias GABAérgicas, en donde modulan la actividad a nivel de circuitos regulando el tono inhibitorio (Booker & Wyllie, 2021). Además, la transmisión glutamatérgica mediada por NMDAR presenta interacciones con

otros sistemas de neurotransmisión. De particular intereses es la interacción Dopamina-Glutamato-GABA que existe entre regiones como la corteza prefrontal (PFC), el hipocampo y los ganglios basales que se ha propuesto como un sustrato para funciones como la actividad locomotora, el estado de ánimo y la cognición. La actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisores glutamato, dopamina, GABA y acetilcolina se modula de manera recíproca. Por ejemplo, la administración local de agonistas de NMDAR aumentan las concentraciones locales de dopamina, GABA y acetilcolina en los ganglios basales y en la corteza prefrontal (Del Arco & Mora, 2008; Hernández et al., 2003; Segovia & Mora, 2001, 2005). De igual forma, la dopamina en el estriado y en el núcleo accumbens regula la actividad glutamatérgica y GABAérgica (Kalivas & Duffy, 1997). Además, en el estriado, se encontró que con el uso de agonistas a receptores de dopamina aumenta la concentración de Glutamato (Exposito et al., 1994). De manera particular, la dopamina tiene efectos duales sobre la plasticidad sináptica mediada por receptores NMDA, en donde éste involucra tanto la potenciación como la depresión de larga duración (Gurden et al., 2000; Huang et al., 2004; Kotecha et al., 2002; Otani et al., 1998). Todo esto es evidencia de una actividad interrelacionada y modulada recíprocamente. Como podemos ver el receptor NMDA es altamente plástico y está involucrado en diferentes funciones cerebrales. Esta descripción general de su función nos sirve para entender sus cambios con el envejecimiento.

### *2.2.3 Receptor NMDA en el envejecimiento*

En el envejecimiento existe una disminución en la afinidad del NMDAR por el glutamato, que es significativa en comparación con otros receptores a glutamato, como lo son los receptores del ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y kainato (Magnusson et al., 2010). Sin embargo, estos cambios no son uniformes en el cerebro. El sitio de unión de glicina parece ser más afectado que el sitio de unión a glutamato, aunque estos cambios son muy variables (Magnusson et al., 2010). La disminución en la afinidad del receptor por glutamato y glicina es mayor en la corteza cerebral que en

hipocampo, y los cambios en la composición de receptores también son más pronunciados, por lo que la corteza cerebral es más vulnerable a cambios asociados al envejecimiento que el hipocampo (Magnusson et al., 2010).

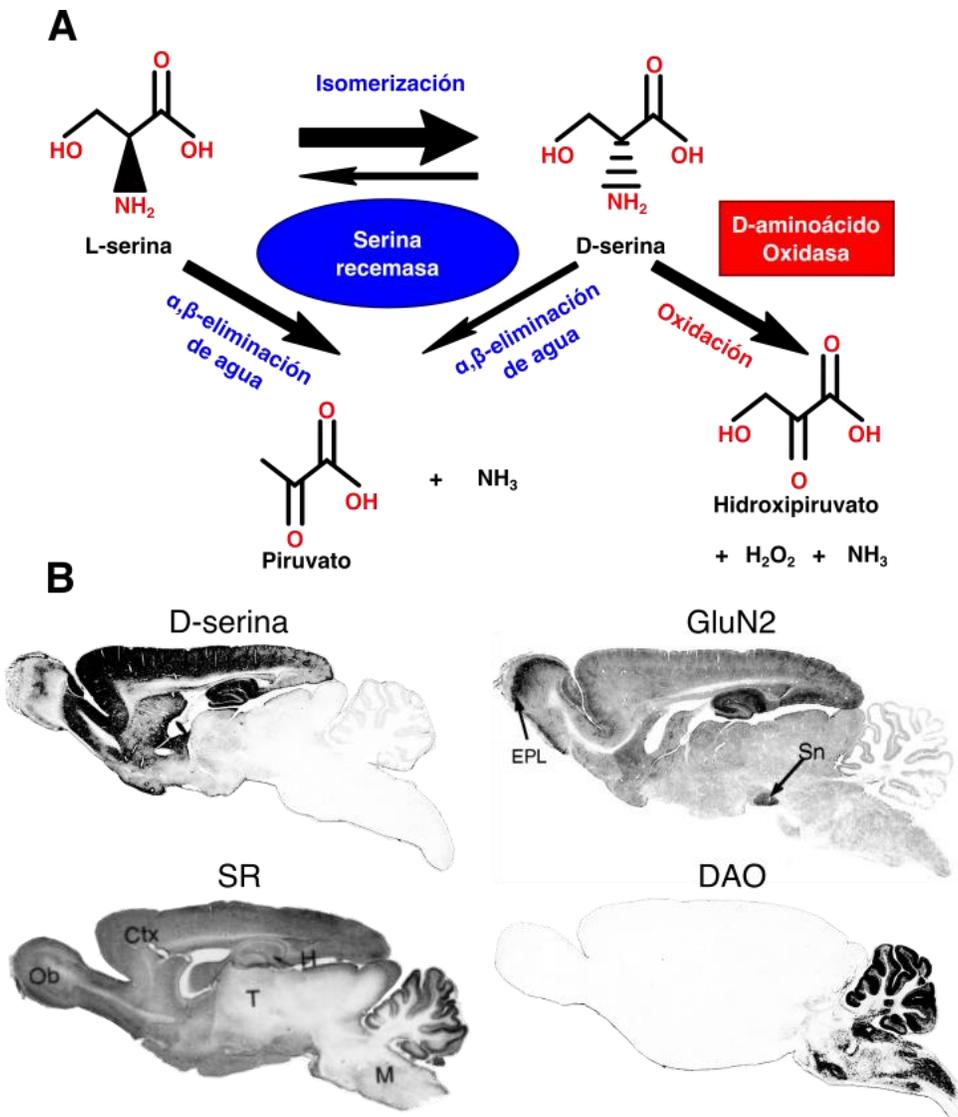
Existen también diferencias en la región en la expresión del receptor y las subunidades que lo conforman. Así, no parece haber cambios importantes en la subunidad GluN2A, mientras que existe una disminución en los niveles de mRNA y de proteína tanto de las subunidades GluN1 y GluN2B (siendo esta última la más afectada) del NMDAR, que son predominantes en la corteza frontal e hipocampo (Magnusson et al., 2010). Los cambios en la afinidad del NMDAR en su sitio de unión a glicina puede deberse a los cambios de la subunidad GluN1. Por otro lado, la disminución de la subunidad GluN2B provoca receptores con menor afinidad a su agonista y una disminución en la capacidad de inducir LTP (Monyer et al., 1992).

La disminución en la subunidad GluN2B con la edad han llevado a proponer que tratamientos dirigidos a esta subunidad podrían ser más efectivos en tratar el deterioro asociado al envejecimiento. Sin embargo, la ausencia de cambios en la composición de subunidades GluN1, y el que sea una subunidad obligada en la mayoría de los receptores NMDA canónicos, ha llevado a pensar que podría ser más sencillo modular la actividad de los receptores NMDA en el envejecimiento desarrollando tratamientos que dirigidos a ésta. Además de ser esta una subunidad con diversos sitios de regulación alostérica y contener el sitio de unión al coagonista. Particularmente, en los últimos años ha cobrado relevancia el uso de la D-serina como potenciador cognitivo en el envejecimiento.

#### 2.2.4 Fisiología de la D-serina

La D-serina es un D-aminoácido presente en el cerebro y sintetizada por la racemización de la L-serina por acción de la enzima Serina Racemasa (SR) (Hashimoto, Nishikawa, Oka, et al., 1993). Su degradación puede ocurrir por esta misma enzima, al catalizar la  $\alpha,\beta$  eliminación de agua para convertirla en piruvato y amoníaco (De Miranda et al., 2002; Foltyn et al., 2005), o preferentemente por acción de la enzima Oxidasa de D-Aminoácidos (DAO), obteniendo hidroxipiruvato, peróxido de hidrogeno y amoníaco (Sacchi, 2013) (Fig.3-A).

Se han reportado niveles importantes de D-serina en las regiones cerebrales con son la neocorteza, cuerpo estriado, amígdala e hipocampo; tanto en roedores (Nishikawa, 2011) como en humanos (Suzuki et al., 2017). La distribución en la expresión de D-serina, el NMDAR y las enzimas SR y DAP sugiere un arreglo para mantener niveles óptimos de D-serina en el cerebro (Fig. 3-B). Es así como, la localización de la D-serina en el cerebro tiene una distribución anterior, que coincide con la expresión del NMDAR (Hashimoto, Nishikawa, Oka, et al., 1993; Schell et al., 1997) y de la enzima SR (Wolosker et al., 1999); y que es opuesta a la distribución más posterior de la enzima DAO (Schell, 2004). Cambios en la expresión de DAO se asocian con niveles más altos de D-serina en el cerebro posterior (Hashimoto, Nishikawa, Konno, et al., 1993; Nagata, 1992), mientras que la eliminación de la SR provoca una disminución significativa en los niveles frontales de D-serina (Horio et al., 2011). Por otra parte, al reducir experimentalmente los niveles de D-serina se provocan alteraciones en diferentes funciones asociadas con la actividad del receptor NMDA, como son la inducción de LTP y LTD, excitotoxicidad, y diferentes tipos de memoria.



**Figura 3. Metabolismo y localización espacial de la D-serina.** A) La D-serina es sintetizada a partir de la L-serina por la enzima serina racemasa (SR) y degradada por la enzima D-aminoácido oxidasa (DAO) (adaptado de Beltrán-Castillo et al., 2018). B) LA D-serina se localiza en regiones de la corteza frontal (arriba-izquierda) e hipocampo (no mostrado), distribución que coincide cercanamente con la del receptor NMDA (arriba-derecha) y la enzima SR (abajo-izquierda); y contrasta con la localización de la enzima DAO en el cerebelo y tallo cerebral (abajo-derecha) (tomado de Schell, 2004; Schell et al., 1997; Wolosker et al., 1999).

La D-serina también podría tener un papel en la interacción del glutamato y sus diferentes receptores con otros sistemas de neurotransmisión. Recientemente se demostró que la D-serina es necesaria para las respuestas moduladoras, tanto facilitadoras como inhibitorias, de la dopamina sobre la corteza prefrontal (Dallérac et al., 2021). Además, la D-serina regula la actividad de interneuronas inhibitorias GABAérgicas

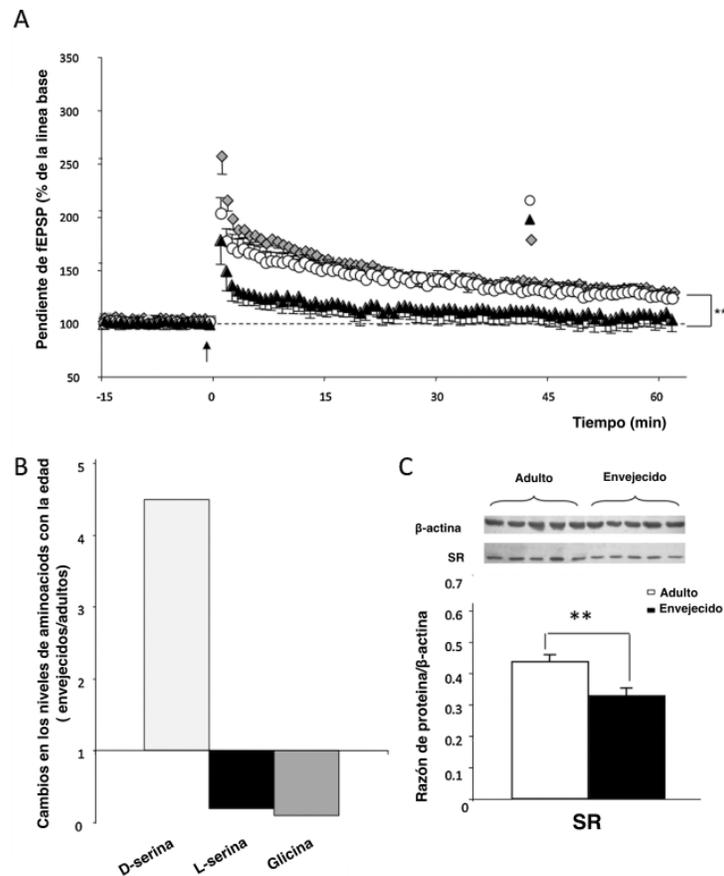
que expresan receptores NMDA (Lecouflet et al., 2022). Así, la eliminación de la expresión de D-serina altera el balance excitatorio/inhibitorio (E/I), aumentando la excitabilidad sináptica y provoca pérdida de interneuronas GABAérgicas (Jami et al., 2021; Ploux et al., 2020). Las alteraciones del balance E/I están involucradas en diferentes desordenes psiquiátricos como esquizofrenia y autismo. En conjunto, estas evidencias apoyan el papel de la D-serina en una amplia variedad de funciones frontales, cognitivas, de estado de ánimo y motivación.

### *2.2.5 D-serina en el envejecimiento*

Las alteraciones en el envejecimiento que involucran a la función del receptor NMDA llevaron a plantear un posible papel de la D-serina en la hipofunción de este receptor. En este contexto, la suplementación de D-serina es capaz de revertir el deterioro en la plasticidad sináptica en el hipocampo de ratas envejecidas (J. P. Mothet et al., 2006; Potier et al., 2010) (Fig. 4-A). Un efecto similar se ha encontrado en un modelo transgénico de senescencia acelerada en ratones SAMP8 (Yang et al., 2005). Estos resultados sugieren que la D-serina podría desempeñar un papel importante en los mecanismos subyacentes al deterioro de las funciones asociadas a la señalización del receptor NMDA en el envejecimiento.

Estos efectos beneficiosos podrían explicarse por una disminución en los niveles de D-serina en el envejecimiento, efecto que se ha reportado en el hipocampo de ratas (J. P. Mothet et al., 2006; Potier et al., 2010; Turpin et al., 2011) (Fig. 4-B). Estos resultados difieren de trabajos previos en los que no se encuentran diferencias cuando se analizan cerebros completos por lo que la disminución en los niveles de D-serina puede ser regional. Otra posible explicación podría ser que ocurran cambios en la saturación del receptor por disminución en la afinidad de este por la D-serina. Sin embargo, estudios radiográficos no encuentran diferencias en la afinidad del sitio de unión (J. P. Mothet et al., 2006; Potier et al., 2010). Por otra parte, los niveles del enantiómero L-serina aumentan durante el mismo tiempo, lo que puede ser

indicador de que la disminución en los niveles de D-serina se deba a cambios en su biosíntesis. En efecto, se ha reportado una disminución en la expresión de la enzima SR en el hipocampo asociados al envejecimiento (Turpin et al., 2011) (Fig. 4-C). Otra explicación para este efecto podrían ser los cambios en la degradación de la D-serina, sin embargo, no se encontraron cambios en la expresión de la enzima DAO en el envejecimiento. Por otro lado, la disponibilidad sináptica de la D-serina depende de la actividad del transportador asc-1, y también se demostró que la actividad de este transportador está preservada en el envejecimiento (Billard & Freret, 2018). Esto sugiere que la disminución en los niveles de D-serina se debe a una disminución en su síntesis, más que a un aumento en sus mecanismos de degradación o liberación.



**Figura 4. La D-serina está involucrada en el deterioro en la plasticidad sináptica dependiente del receptor NMDA con el envejecimiento.** A) Inducción de LTP por un tren de estimulación de alta frecuencia en la región CA1 del hipocampo de ratas en ratas adultas (círculos blancos) y viejas en condiciones control (triángulos negros) y suplementados con D-serina (100  $\mu$ m) (rombos grises) (\*\*\*) ( $p < 0.0001$ ). B) Graficas de barras que indican la razón de niveles de aminoácidos de adultos/viejos determinado en tejido hipocampal. Nótese que la D-serina, pero no L-serina o glicina, esta disminuida en ratas viejas. C) Abajo, Grafica de barras indica una disminución significativa de los niveles de proteína de la enzima SR en ratas viejas (barra negra) en comparación con jóvenes (barra blanca); arriba, inmunoblot representativo para  $\beta$ -actina (banda superior) y SR (banda inferior). Tomado de Billard, (2015).

### *2.2.6 Farmacocinética de la D-serina*

La existencia de bacterias en el intestino capaces de producir D-serina llevo a la pregunta de si podrían existir mecanismos de su transporte hacia el cerebro, por lo que diferentes estudios han mostrado que la suplementación de D-serina por vía oral, intraperitoneal o intravenosa pueden aumentar los niveles de D-serina en plasma, en el fluido cefalorraquídeo y en el cerebro, lo que haría posible que la D-serina exógena pudiera influenciar la señalización glutamatérgica mediada por el receptor NMDA (Bauer et al., 2005; Hasegawa et al., 2019; Pernot et al., 2012; Rais et al., 2012; Smith et al., 2009). La D-serina puede ser absorbida por las células de la mucosa intestinal por el transportador  $ATB^{0,+}$  en la membrana luminal de la porción del colon (Hatanaka et al., 2002). Posteriormente esta puede ser liberada al torrente sanguíneo a través de la membrana basolateral por los transportadores L1 y Asc-1. La difusión pasiva de la D-serina a través de la barrera hematoencefálica se considera pobre (Pernot et al., 2012). Sin embargo, la D-serina puede llegar de la sangre al cerebro y de la sangre al fluido cefalorraquídeo por sistemas de transportadores en la barrera hematoencefálica y hematorraquídea respectivamente (Kasai et al., 2011). El sistema  $ATB^{0,+}$  posiblemente sea el responsable del transporte de D-serina en la barrera hematoencefálica (Czeredys et al., 2008). En paralelo, la D-serina puede ser eliminada del cerebro por dos mecanismos. El primero implica la acumulación de D-serina en las células parénquimales del cerebro (Kasai et al., 2011) . El segundo involucra al sistema ASC-1 y ASCT2 en barrera cefalorraquídea que moviliza la D-serina del líquido cefalorraquídeo a la sangre, y de ahí es metabolizada en el hígado y eliminada por vía renal (Fig.5-A).

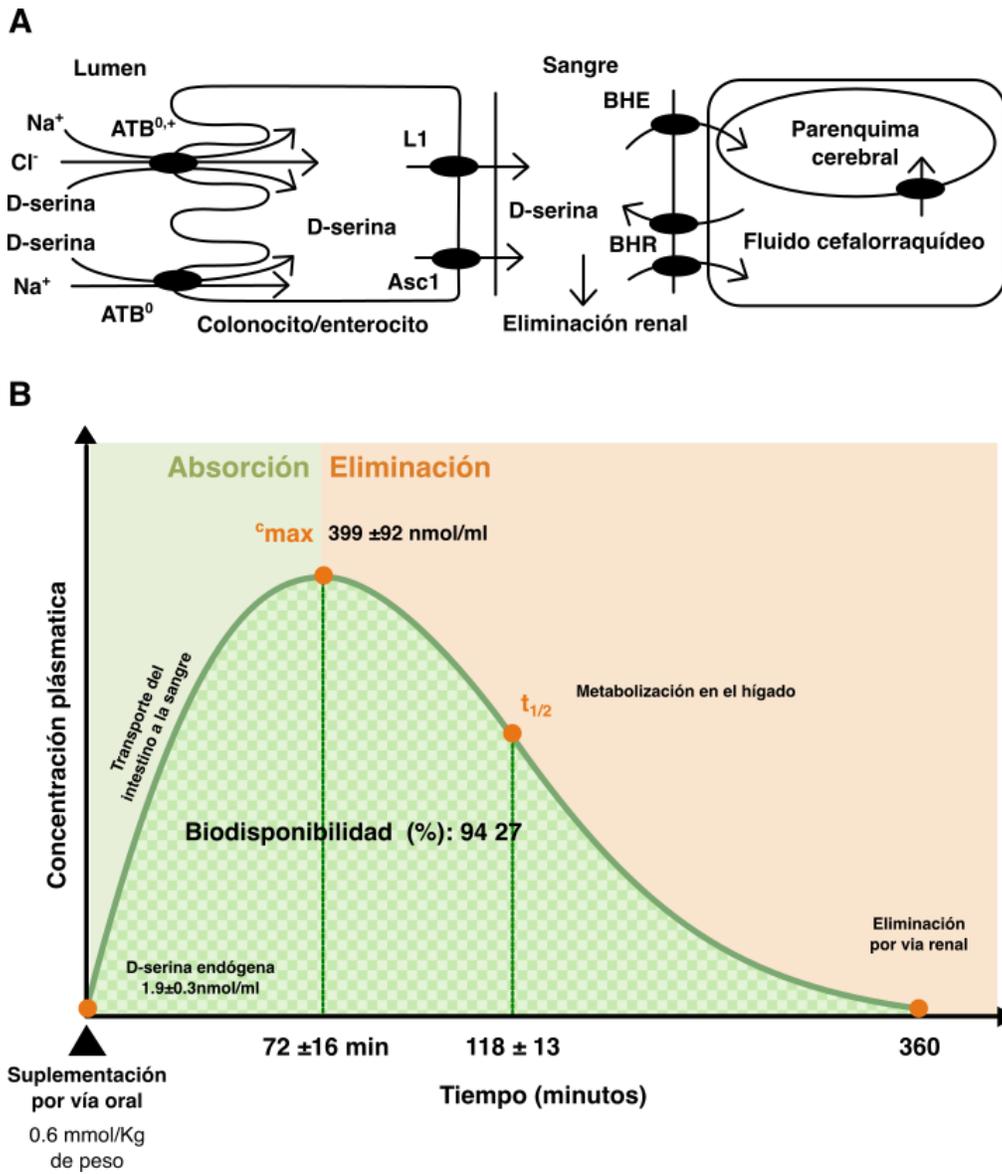
Varios estudios sugieren que la D-serina a dosis altas puede inducir nefrotoxicidad tanto en humanos como roedores provocando necrosis de los túbulos proximales renales, proteinuria y glucosuria (Carone & Ganote, 1975; Ganote et al., 1974; Williams et al., 2003). Por ejemplo, en un estudio en donde se suplemento D-serina para tratar los síntomas de la esquizofrenia en humanos, un sujeto presento síntomas

de daño renal (Kantrowitz et al., 2010). Estos resultados resaltan la importancia de la regulación de dosis en la suplementación de D-serina para modular la actividad del receptor NMDA en procesos patológicos.

Hasegawa y colaboradores (2019), describen que una dosis de 0.6 mmol/Kg (63.4 mg/Kg) administrada por vía oral de la D-serina tiene una biodisponibilidad del 94%, alcanzando una concentración máxima (Cmax) en plasma de 399 nmol/ml a un tiempo (tmax) de 72 min (Fig.5-B). Por vía intraperitoneal encontraron una biodisponibilidad similar (94%), pero con una mayor Cmax (610 nmol/ml) y menor tmax (23 min). Esto es relevante ya que en el mismo estudio describen que al alcanzar los 2  $\mu$ mol/ml de D-serina en plasma empiezan a aumentar los niveles de creatina en plasma, lo que podría ser indicador de daño renal, que por vía intraperitoneal ocurre a partir de una dosis de 1.8 mmol/Kg. Estos resultados sugieren que la administración por vía oral puede ser más efectiva como método de suplementación exógena, al permitir utilizar mayores dosis de D-serina que sean efectivas para influenciar la función, sin llegar a inducir daño renal y con efectos más prolongados en el tiempo.

En nuestro grupo de trabajo hemos utilizado un protocolo de suplementación crónica de D-serina de 300 mg/Kg de peso corporal suplementado por vía oral con el que hemos reportado efectos significativos en la morfología dendrítica, conectividad funcional, y tareas conductuales cognitivas y motoras en ratas envejecidas. Además, para este protocolo de suplementación no encontramos signos de daño renal cuando evaluamos marcadores histológicos y de la integridad de los túbulos proximales (Nava-Gómez et al., 2022). Smith y colaboradores (2009), evalúan los cambios en las concentraciones de D-serina en plasma, líquido cefalorraquídeo (CSF) y corteza después de diferentes dosis de D-serina administrada por vía oral. Así, la dosis de 320 mg/Kg reportan elevaciones de aproximadamente 120 veces el nivel basal en plasma, 12 veces en CSF y 2.5 en corteza. En conjunto, estos resultados validan el uso de una dosis oral de 300 mg/Kg de D-serina en ratas como efectiva en elevar los niveles de D-serina en el cerebro, con efectos significativos en

diferentes medidas relacionadas a la función del receptor NMDA y segura al no mostrar signos de nefrotoxicidad.



**Figura 5. Farmacocinética de la suplementación de D-serina por vía oral.** A) Transporte de la D-serina desde el lumen del intestino hasta el cerebro y posterior eliminación. BHE, barrera hematoencefálica; BHR, barrera hematorraquídea. B) Curva de la farmacocinética de D-serina en plasma suplementada por vía oral a una dosis representativa de 0.6 nmol/kg. Adaptado de Hasegawa et al., 2019; Hatanaka et al., 2002; Kasai et al., 2011.

## ***2.3 Imagenología por resonancia magnética y redes neuronales***

### ***2.3.1 Conectividad funcional medida por imagenología por resonancia magnética***

Podemos entender el cerebro como una red formada por diferentes regiones con su propia función asociada y que continuamente comparten información entre sí. Como tal, estas forman una compleja red integrada en la que la información es procesada y transportada continuamente entre regiones conectadas de manera funcional y anatómica. La conectividad funcional se define como la dependencia de patrones de actividad neuronal de regiones anatómicamente separadas. Una manera de examinar la conectividad funcional de diferentes regiones es como el nivel de coactividad de series temporales usando Imagen por Resonancia Magnética (MRI), técnica basada en las fluctuaciones de la señal dependiente de nivel de oxígeno en la sangre (BOLD, por sus siglas en inglés), una medida indirecta de la actividad neuronal y que pueden estar asociadas a la realización de una tarea o medirse en estado de reposo (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010). Esta técnica permite medir la conectividad funcional de cerebros completos. Estudiar el cerebro como una red integrativa de regiones cerebrales asociadas funcionalmente puede proveer nuevas perspectivas sobre la comunicación neuronal a gran escala en el cerebro y provee una plataforma para examinar como la conectividad y la integración de información se asocia con la conducta y como esta organización puede estar alterada en trastornos neurodegenerativos (Greicius, 2008).

### ***2.3.2 Participación de redes neuronales en funciones cognitivas y conductuales***

Existen diferentes redes descritas asociadas a conductas relevantes a aspectos ejecutivos, emocionales y de motivación. De éstas el circuito mesolímbico de recompensa se encarga de evaluar la saliencia de los estímulos externos, y se ha demostrado su involucración en la regulación de comportamientos apetitivos (Deco & Rolls, 2005; Wickens et al., 2007). Esta red está formada por regiones telencefálicas y proyecciones dopaminérgicas que surgen del área tegmental ventral. Por otro lado, la red de comportamiento social está involucrada en diversos aspectos de conducta reproductiva, parental y de agresión, y por definición,

contiene receptores para hormonas sexuales esteroideas (Newman, 1999). Ambas redes se integran para formar el circuito social de toma de decisiones (Social decision-making, SDM, por sus siglas en inglés), que se encarga de regular respuestas a estímulos externos (con contenido social o no) y que está preservado evolutivamente (O'Connell & Hofmann, 2011).

Por otro lado, tenemos la red neuronal por defecto (Raichle & Mintun, 2006), una red compuesta de un conjunto de regiones que están más activas durante las tareas pasivas, y que participa en modos internos de cognición, idear sobre el futuro y el pensamiento disperso (Buckner et al., 2008). Esta red está formada por diferentes subsistemas, conectados entre sí por diferentes centros como son el cíngulo posterior. Uno de estos subsistemas es el sistema de memoria hipocampal-cortical, que se ha involucrado en la reconstrucción de memorias a largo plazo en tareas de recuperación y otras tareas que utilizan experiencias pasadas para hacer decisiones orientadas de manera prospectiva. Se han encontrado equivalentes a esta red también en roedores (Hsu et al., 2016; Lu et al., 2012). El otro subsistema que forma la red por defecto es el sistema dorsal de atención (Corbetta & Shulman, 2002), que se ha asociado con cognición dirigida externamente, incluyendo tareas de cambio de atención, movimientos oculares y coordinación de la mano con el ojo. De manera interesante, investigaciones recientes muestran que la actividad espontánea entre el sistema dorsal de atención y el sistema de memoria hipocampal-cortical se correlacionan de manera negativa (Fox et al., 2005), lo que sugiere una segregación de mecanismos mutuamente competitivos, que surge de su papel opuesto en procesamiento de la información externa e interna. Además, el sistema de control frontoparietal se encuentra anatómicamente posicionado de manera única para integrar la información del sistema de memoria hipocampal-cortical y el sistema dorsal de atención para mediar procesos que potencialmente compiten entre su orientación interna o externa (Vincent et al., 2008). Este sistema incluye el llamado bucle de control, que se encarga del monitoreo del conflicto. La teoría del monitoreo del conflicto postula que existen mecanismos de monitoreo para el conflicto generado por respuestas incompatibles que sirven para afinar el rendimiento en tareas (Botvinick et al., 2001). Adicionalmente, la hipótesis de la señalización

afectiva menciona que este conflicto genera una reacción afectiva negativa (la sensación de conflicto es aversiva), que puede servir como señal para impulsar mecanismos de control que lleven a una respuesta adaptativa para resolver el conflicto (Dreisbach & Fischer, 2015). Estos dos componentes (monitoreo de conflicto y adaptación de control), se complementan mutuamente y forman el bucle de control. El cíngulo anterior se ha asociado con la función de monitoreo del conflicto (Botvinick et al., 2004), mientras que la región dorsolateral se ha asociado con el control adaptativo, al participar en la afinación de representaciones de tareas (Kerns et al., 2004). De manera importante, también forma parte del sistema de control frontoparietal la corteza frontal de asociación, a la que se atribuye su participación en la coordinación del procesamiento de información y transferencia de información entre múltiples regiones durante la realización de tareas simultáneas (Koechlin et al., 1999). Se ha asociado con diversos tipos de tareas que incluyen resolución de problemas, recuperación de la memoria (prospectiva, de fuente y contexto), y a ramificación y realocación de la atención (Ramnani & Owen, 2004). En comparación con regiones frontales laterales que mantienen la representación de la tarea actual, se ha descrito que la región más anterior podría mantener diferentes representaciones en espera para ser recuperadas y ejecutadas posteriormente al finalizar la tarea en curso, por lo que se ha propuesto que la corteza prefrontal anterior se encuentra en la cima del control cognitivo jerárquico (Koechlin & Hyafil, 2007). Las señales cognitivas que surgen de la corteza frontal de asociación se envían a regiones premotoras para convertirlas en señales motoras, que finalmente son enviadas a la corteza motora primaria. Además, la corteza frontal de asociación forma bucles con regiones de los ganglios basales y el cerebelo a través del tálamo, lo que sostiene su importancia en la expresión y control de tareas motoras (Takada, 2016).

Al actuar en regiones tan extensas asociadas a la funcionalidad del receptor NMDA y en mecanismos tanto excitatorios como inhibitorios, es posible que la D-serina tenga efectos sobre el estado de ánimo y motivación actuando sobre la actividad de redes neuronales cerebrales. En este contexto, la rsfMRI es una herramienta poderosa para evaluar cambios en redes cerebrales funcionales en cerebros completos. Por lo

que, en este trabajo, evaluamos los cambios de los niveles de la D-serina asociados al envejecimiento a través de diversas conductas espontáneas asociadas al estado de alerta y exploración como medida del estado de ánimo y de motivación en el modelo murino. Además, los cambios en redes cerebrales funcionales entre regiones que forman parte de los sistemas involucrados en estas tareas y su desarrollo en diferentes edades.

### **3. Justificación**

A medida que la población mundial envejece se dificultará el poder garantizar los servicios de salud y el bienestar de las personas mayores. Mantener las capacidades funcionales en la edad avanzada permitirá que los individuos sigan siendo activos en la sociedad y reducirá la carga de los sistemas de salud. Las funciones que podrían tener un mayor impacto para este fin son aquellas involucradas con procesos cognitivos y de control. De ahí la importancia de desarrollar estrategias de tratamiento que ayuden a preservar las capacidades funcionales en el envejecimiento con énfasis a aquellas con incidencia en el sistema nervioso central.

En este trabajo se prueba el uso de la D-serina, una sustancia presente en el cerebro con efecto neuromodulador, como un potencial tratamiento para los cambios que ocurren en el envejecimiento en el sistema nervioso central; lo que al mismo tiempo aporta información sobre los mecanismos neuronales subyacentes a procesos cognitivos, motivacionales y de control a diferentes edades.

## 4. Hipótesis

La suplementación crónica de D-serina mejorará la expresión de conductas motivadas y provocará cambios en la conectividad funcional cerebral en ratas envejecidas.

## 5. Objetivos

### 5.1 *Objetivo general*

- Evaluar los efectos de la suplementación crónica de D-serina sobre las conductas motivadas y la conectividad funcional cerebral en ratas envejecidas.

### 5.2 *Objetivos específicos*

- Evaluar el efecto de la administración crónica de D-serina en ratas envejecidas sobre las conductas motivadas.
- Caracterizar los cambios en la conectividad funcional inducidos por la suplementación crónica de D-serina en ratas envejecidas.

## 6. Metodología

### 6.1 *Sujetos*

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, de 6 meses (jóvenes), 12 meses (adultas) y 18 meses (mediana edad) de edad, obtenidos del Laboratorio Universitario de Bioterio del Instituto de Neurobiología. Las ratas

fueron resguardadas en las instalaciones del bioterio en condiciones de ciclo normal de 12 h luz/oscuridad, con libre acceso a agua y con restricción de alimento para mantenerlas en un peso de 300-400 g.

## ***6.2 Suplementación crónica de D-serina***

Los sujetos de cada grupo de edad fueron repartidos aleatoriamente en los grupos control y experimentales. Las ratas que recibieron D-serina fueron suplementadas diariamente (por dos meses) a una dosis de 300 mg/ Kg de peso corporal, diluida en el agua de beber.

## ***6.3 Tareas conductuales***

### ***6.3.1 Campo abierto***

La arena de campo abierto estaba hecha de plexiglás transparente, con dimensiones de 42x42 cm y ubicada en una base de madera a 90 cm del suelo. Los animales fueron colocados en los bordes de la arena y se les dejó libremente durante 30 minutos en un cuarto iluminado. Entre cada evaluación la arena fue limpiada con etanol al 70%. Cada prueba fue videograbada a una resolución de 960x720 a 30 FPS con una videocámara posicionada por encima y por debajo de la arena para poder obtener información relevante de las extremidades (Luxem et al, 2022). Se analizaron parámetros de desplazamiento para medir la conducta similar a ansiedad y la habituación a un entorno novedoso, como son la distancia recorrida y el tiempo en las áreas de periferia y central de la arena, además de la conducta de acicalamiento, en sus parámetros temporales como de la microestructura de este (dirección del acicalamiento, transiciones entre secuencias).

### 6.3.2 Laberinto elevado en cruz

Las ratas fueron colocadas en el centro del laberinto, de manera que su rostro y patas delanteras estuvieran orientadas hacia uno de los brazos abiertos. Se permitió al animal recorrer el laberinto libremente durante 5 minutos. El laberinto fue limpiado entre evaluaciones con alcohol al 70%. Se evaluaron como variables en esta tarea el tiempo que pasó el animal en brazos abiertos, además de conductas exploratorias y de evaluación de riesgo como *rearings*, *nose dips* y *stretched attend posture* (SAP), como indicadores del balance entre ansiedad y exploración espacial.

### 6.3.3 Prueba de interacción social

Para esta prueba se colocaron dos animales en la arena de campo abierto de la misma edad y asignados al mismo grupo experimental (control o suplementados con D-serina). Los animales de cada grupo fueron pesados y emparejados de manera que se redujera al mínimo la diferencia de los pesos entre cada par de animales. Los animales fueron analizados hasta en tres ocasiones diferentes con una pareja distinta, si la diferencia de peso y la disponibilidad de un compañero lo permitía. Esta prueba se realizó el día siguiente de la evaluación de campo abierto para que la primera exposición sirviera de habituación al entorno de evaluación y los cambios en la conducta social observados se debieran solo a la exposición a un individuo novedoso. Entre cada evaluación, la arena fue lavada con alcohol al 70%. Entre evaluaciones sucesivas del mismo animal se dejó pasar un tiempo de descanso de al menos 15 minutos. Cada prueba fue videograbada desde una vista superior y lateral a una resolución de 960×720 para hacer el análisis de la conducta.

### 6.3.4 Modelos de Machine Learning y Deeplabcut

Se utilizó Deeplabcut (versión 2.2.0) para marcar y rastrear la posición corporal de los animales y de las diferentes arenas en las diferentes pruebas conductuales (Mathis et al, 2018, Nath et al, 2019). Para cada

tarea se obtuvo una muestra de videos exclusivamente con el fin de entrenar un modelo de Deeplabcut. Las condiciones de cada tarea se describen con mayor detalle a continuación.

Para el laberinto elevado en cruz se entrenó un modelo de Deeplabcut (Fig. 6-A, B) usando 20 fotogramas por video extraídos de 24 videos grabados con una resolución de 1280x920 a 30 FPS desde una vista superior y que en total suman una muestra de 2 horas de video de la prueba conductual. Los fotogramas fueron recortados para abarcar solo los límites del laberinto, con un margen para registrar el posible desplazamiento del animal (por ejemplo, cuando los animales se estiran más allá de los límites de los brazos abiertos del laberinto). Esto se hace para reducir los tiempos de análisis y de entrenamiento. Estos fotogramas se usaron para crear un Dataset de entrenamiento que sirvió para entrenar una modelo de DeepLabCut basado en ResNet-50 por 500,000 iteraciones. Posteriormente se analizaron los mismos videos utilizados para entrenar la red y se extrajeron hasta 10 fotogramas adicionales utilizando el algoritmo de detección de valores atípicos *jump*, que extrae cuadros atípicos si el cambio en la posición de un punto en número de píxeles de un cuadro de video al siguiente es mayor a un valor epsilon. Las anotaciones de estos cuadros adicionales fueron corregidas manualmente y agregadas al Dataset de entrenamiento, lo que sirve para refinar la precisión del modelo. Un segundo modelo fue entrenado con este Dataset, ahora hasta 1,030,000 iteraciones. Este modelo se utilizó posteriormente para analizar videos experimentales en condiciones similares.

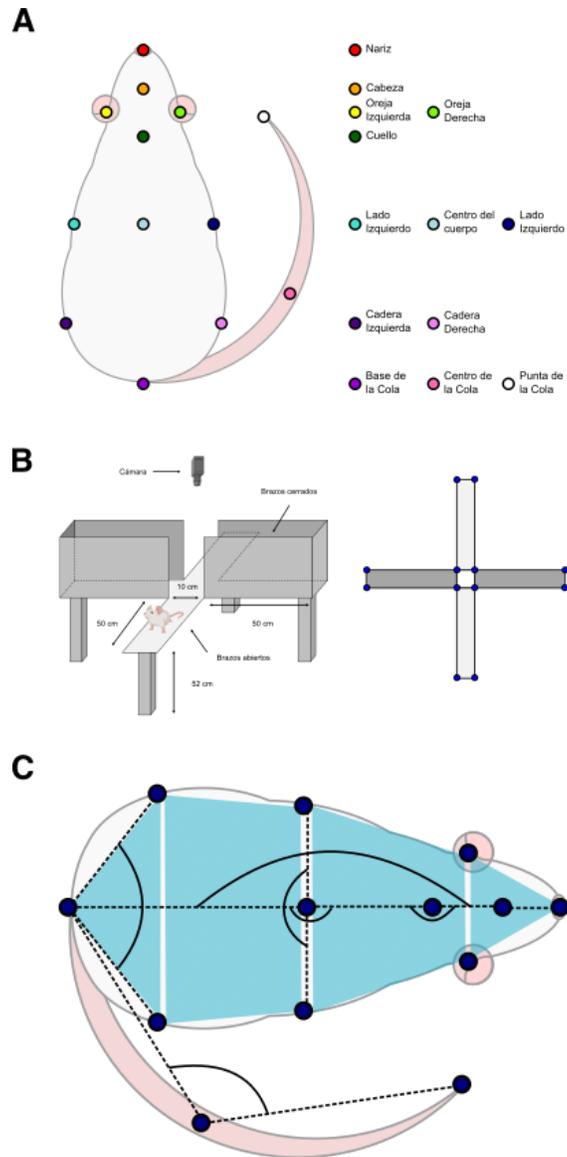
Para el análisis de campo abierto se entrenó un modelo de DeepLabCut (Fig. 7-A, B) usando 20 cuadros extraídos de 24 videos grabados con resoluciones de 1280x920 y 960x720. Debido a cambios en las condiciones de iluminación, los videos fueron obtenidos a una tasa de muestreo de 15 a 30 FPS. En total, se contó con una muestra de 18 horas de video de la tarea conductual. Los fotogramas obtenidos se recortaron para delimitar los límites de la arena. Con estos se creó un Dataset de entrenamiento que se

utilizó para entrenar un modelo basado en ResNet-50, que fue entrenado por 500,000 iteraciones. Los mismos videos de entrenamiento fueron analizados con este modelo y se extrajeron hasta 10 fotogramas atípicos utilizando el algoritmo *jump* y hasta 5 fotogramas extraídos manualmente para obtener específicamente instancias donde se observe la conducta de acicalamiento. Las anotaciones de estos cuadros adicionales fueron corregidas y agregados al Dataset de entrenamiento para refinar la red, que fue entrenada ahora por 1,030,000 iteraciones. Esta red se utilizó posteriormente para analizar los videos experimentales en condiciones similares.

Finalmente, para el análisis de la interacción social, se creó un modelo multi-animal de DeepLabCut (Lauer et al., 2022) (Fig. 8-A). Este modelo permite estimar la posición de diferentes animales en un mismo campo sin necesidad de marcadores, con la capacidad de mantener la identidad de cada uno. Para esto se extrajeron 20 fotogramas de 20 videos, obtenidos de una vista superior, para un total de más de 3 horas de muestra de la tarea conductual. Además, también se adquirió una vista lateral de manera simultánea, que sirvió para poder discriminar mejor la posición de cada animal en los momentos en que pudieran sobrelaparse. Los fotogramas extraídos fueron recortados para delimitar la arena y anotados manualmente. Se anotaron 16 puntos de interés de posiciones anatómicas clave para cada animal, y 4 puntos que corresponden a las cuatro esquinas de la arena. Con esto se creó un *Dataset* de entrenamiento para entrenar un modelo basado en Resnet-50 entrenado por 200,000 iteraciones.

Los videos de entrenamiento para cada tarea conductual fueron analizados con sus respectivos modelos de DeepLabCut para posteriormente hacer la anotación manual de archivos multimedia con el software VIA (Dutta & Zisserman, 2019). Este se utilizó para anotar fotograma a fotograma las instancias de comportamientos etológicos relevantes en cada tarea conductual indicando el inicio y el final de las secuencias de comportamientos de interés. Estos datos fueron exportados a tensorflow para R, para crear

modelos secuenciales de *machine learning* capaces de categorizar las conductas de interés para cada tarea. Para ello se prepararon los datos de DeepLabCut de los videos de entrenamiento usando el paquete de Software DLCAnalyzer (Sturman et al., 2020) y scripts personalizados para R.



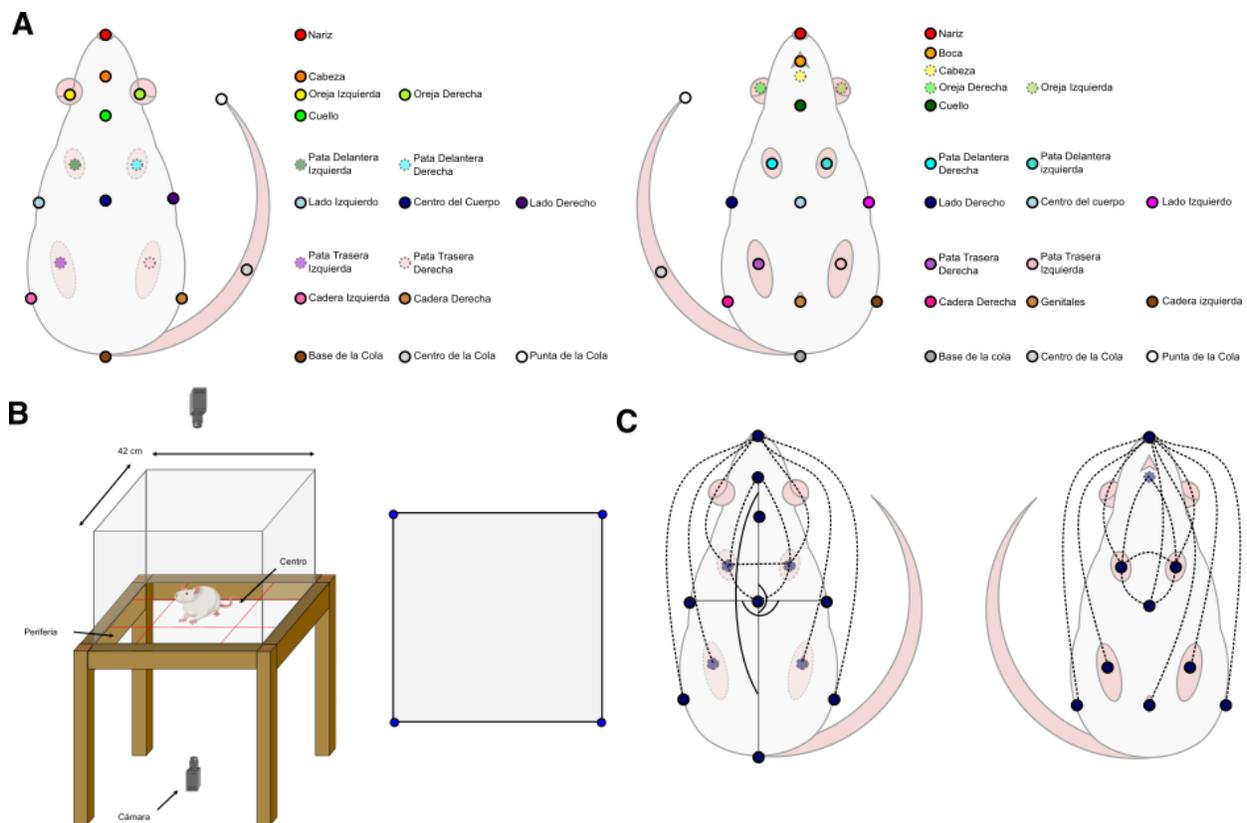
**Figura 6. Modelos de DLC y ML para el análisis de la tarea de Laberinto elevado.** A) Puntos anatómicos anotados para entrenar un modelo de DeepLabCut para estimar la posición del animal en la tarea de laberinto elevado. B) Representación de dimensiones del laberinto y disposición de la cámara (izquierda) y puntos anotados del laberinto para entrenar el modelo de DeepLabCut (derecha). C) Representación esquelética del animal compuesta de áreas (polígonos), distancias (líneas punteadas) y ángulos (líneas sólidas curvadas). Estas conformaron los atributos utilizados para entrenar un modelo de machine learning de clasificación de comportamientos.

Para los videos de entrenamiento de la prueba de laberinto elevado en cruz se anotaron los eventos de *rearings*, definidos como el momento en el que el animal levanta ambas patas delanteras, apoyado o no sobre las paredes del laberinto y termina cuando ambas patas tocan de vuelta el piso. Para cada video se creó una representación esquelética invariante de posición y de orientación utilizando las coordenadas del análisis de DeepLabCut para cada fotograma (Fig. 6-C). Esta representación consistió en 23 variables que incluyen distancias, ángulos, áreas de polígonos y velocidades de puntos, que se utilizaron como atributos para entrenar un modelo de *machine learning*. Además, se midieron otros comportamientos con métodos de programación tradicional. Los *nosedips* se clasificaron usando la función preestablecida de DLCAnalyzer, que se basa en la inclusión o exclusión de puntos clave con las zonas del laberinto. Para la conducta de SAP utilizamos umbrales de velocidad y excentricidad (valor obtenido al estimar una elipse definida por las distancias entre los puntos de nariz y cola como eje mayor y entre los puntos laterales como eje menor) basándonos en el trabajo de Holly y colaboradores (2016).

Para la prueba de campo abierto se sincronizaron los datos de coordenadas de DeepLabCut obtenidos de videos de la vista superior e inferior de cada sujeto para que coincidieran fotograma a fotograma. Para esto, primero se ajustó la frecuencia de muestreo y se realizó un submuestreo uniforme para reducir el número de fotogramas para que coincidieran con el de menor frecuencia de muestreo. Para sincronizar el tiempo de inicio se anotó manualmente para cada par de videos el fotograma en el que iniciaba la prueba, siendo este momento cuando se coloca la tapa del campo abierto y ambas manos del investigador dejan de tocarla. Utilizando este dato se obtuvo un valor de ajuste para eliminar valores al inicio y al final de cada par de videos para que estos tuvieran la misma duración y coincidieran fotograma a fotograma.

Para los videos de entrenamiento de campo abierto se anotaron las diferentes secuencias de la microestructura del acicalamiento que incluyen “acicalamiento de patas y nariz”, definido como braceos alternados o movimientos elípticos simétricos cercanos al hocico; “lavado de rostro y cabeza”, caracterizado por movimientos semicirculares que pueden ser alternados o simétricos que llegan al menos hasta las vibrisas y típicamente parten desde el rostro, pero también pueden hacerlo desde detrás de las orejas; “lavado corporal”, cuando el animal se dobla sobre sí mismo o hacia los lados para lamerse y limpiarse el cuerpo, opcionalmente también puede frotarse con sus patas delanteras; “acicalamiento genital”, cuando el animal se dobla sobre sí mismo hasta alcanzar los genitales con las patas delanteras y el hocico; y “rascado con patas traseras”, cuando el animal se rasca enérgicamente la cabeza o el cuerpo con las patas traseras o se limpia las uñas y los dígitos de estas utilizando el hocico (Smolinsky et al., 2009).

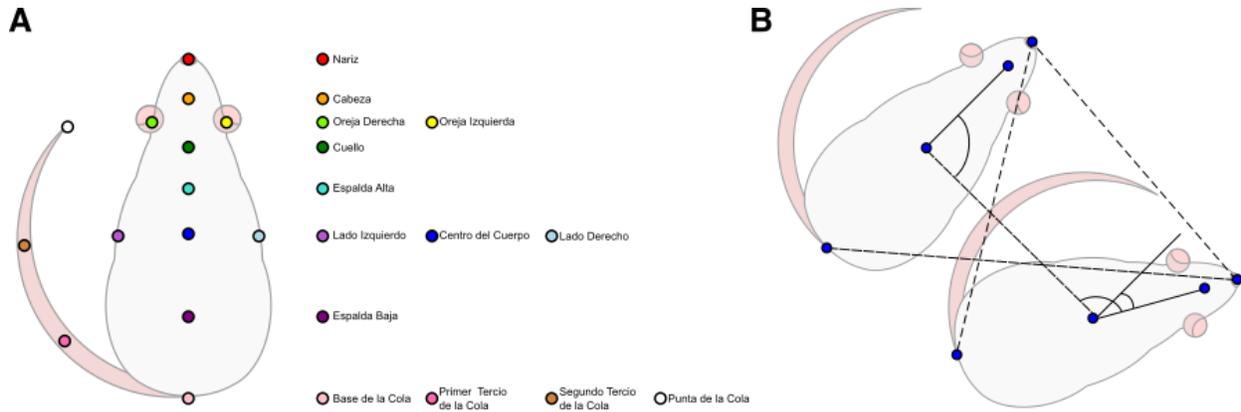
Para los atributos del modelo de *machine learning* encontramos que una representación esquelética era insuficiente para obtener clasificaciones precisas, por lo que probamos con diferentes representaciones y elegimos la que nos diera la mayor precisión. Para detectar la microestructura del acicalamiento funciona mejor una representación interconectada de distancias entre los puntos de nariz, extremidades, orejas, cuerpo y genitales. Así, nuestra representación consiste en 30 variables que incluyen distancias, ángulos y velocidades que sirvieron como atributos para entrenar el modelo de *machine learning* (Fig. 7-C).



**Figura 7. Modelo de DLC y ML para el análisis de prueba de laberinto elevado y clasificación de conducta de acicalamiento.** A) Representación de los puntos anatómicos anotados para entrenar el modelo de DLC para estimar la posición en la prueba de campo abierto. Fueron entrenados modelos para estimar la posición desde una vista superior (izquierda) e inferior (derecha). Estructuras con contorno punteado y transparencia representan puntos en el plano opuesto a cada punto de vista, normalmente ocluidos por el cuerpo del animal, pero que son visibles esporádicamente en condiciones relevantes para el análisis de la conducta. B) Representación de la arena con disposición de las cámaras (izquierda) y de los puntos anotados para entrenar el modelo de DeepLabCut (derecha). C) Atributos utilizados para entrenar el modelo de clasificación de la conducta de acicalamiento con ML. Las líneas solidas curvadas representan ángulos. Las líneas solidas rectas representan vectores de distancia que sirven para definir los ángulos, pero no fueron utilizados como medidas de distancia en el modelo. La mayoría del modelo lo conforma una representación interconectada de distancias entre estructuras relevantes para la conducta de acicalamiento (líneas punteadas), particularmente nariz y boca, y que son variables y características según la dirección del acicalamiento. El modelo incluye información de la vista superior (izquierda) e inferior (derecha).

Para la prueba de interacción social, anotamos los eventos de exploración social como aquellos eventos en donde cualquiera de las ratas acerca su nariz al rostro, cuerpo o cola de la otra rata ya fuera esta interacción unilateral o reciproca. Para las variables para entrenar el modelo nos basamos en el trabajo de Lorbach y colaboradores (2018). Este consiste en 7 variables que incluyen distancias entre puntos clave de los 2 animales, velocidades y ángulos que aportan información de la orientación y posición relativa entre los

animales (Fig. 8-B). Los valores de coordenadas resultantes del análisis de DLC de los videos experimentales de cada prueba fueron exportadas a Rstudio (v 4.2.0) y analizados utilizando el paquete de software DLCAnalyzer (Sturman et al., 2020) para medir variables de patrones de locomoción y se usaron los modelos de ML para clasificar los comportamientos etológicos de interés.



**Figura 8. Modelo de DeepLabCut y machine learning para el análisis de la conducta de interacción social.** A) Puntos anatómicos anotados para entrenar el modelo de maDLC para conducta de interacción social. Este conjunto de puntos fue anotado para cada animal en la evaluación. B) Representación de los atributos utilizados para entrenar un modelo de ML para clasificar la conducta de interacción social. Líneas rectas punteadas representan distancias entre puntos. Líneas curvadas representan los ángulos entre vectores de distancia (líneas solidas representan el vector de la distancia entre los dos puntos que conectan, pero no fueron utilizadas como atributos en el modelo, representadas en la figura para indicar los ángulos que definen). Aunque el modelo de DLC puede predecir más puntos que los necesarios para entrenar y crear clasificaciones con el modelo de ML, anotar más puntos ayuda al rendimiento general del modelo, lo que es de especial importancia en modelos de maDLC.

## 6.4 Resonancia Magnética

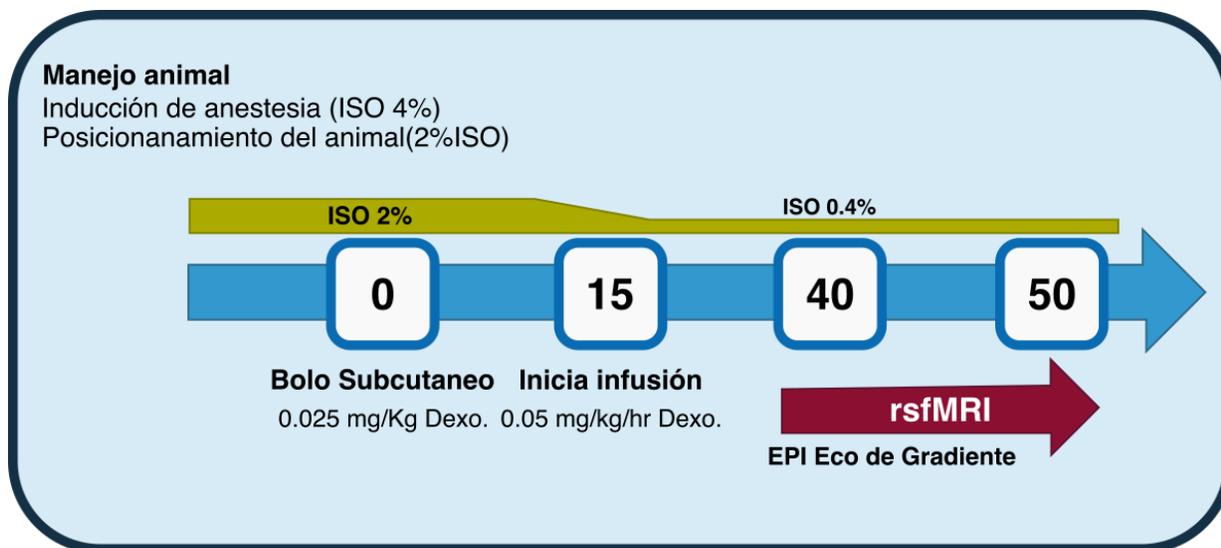
### 6.4.1 Adquisición de imágenes anatómicas y funcionales

El protocolo de adquisición de imágenes de resonancia magnética se realizó como se describe en Grandjean et al. (2022). En resumen, los animales fueron inducidos con isoflurano al 4% (Sofloran; PiSA, México), y una vez colocados en el resonador se administró un bolo subcutáneo de 0.025 mg/Kg de dexmedetomidina (T0). A los 15 minutos (T15), se inició la infusión constante de dexmedetomidina (Dexdomitor; Zoetis, México) por canulación subdérmica a un flujo constante de 0.05 mg/Kg/h. Durante este tiempo se redujo

progresivamente la concentración de isoflurano hasta alcanzar el 0.4% al menos 10 minutos antes del inicio de la adquisición de imágenes funcionales para permitir la estabilización de la anestesia. Las imágenes funcionales fueron adquiridas pasados 40 minutos de la administración del bolo subcutáneo de dexmedetomidina (T40) (Fig.9). Todas las secuencias fueron adquiridas con un escáner de resonancia magnética de 7 Teslas (Bruker BioSpin Pharmascan® 70/16US). Las imágenes anatómicas se obtuvieron con una secuencia turboRARE, con tiempo de repetición = 2500 ms, tamaño de matriz [128 x 128], FOV (25.6 x 25.6) mm<sup>2</sup>, 18 rebanadas axiales intercaladas de 1mm de grosor con separación de 0.1 mm. Las imágenes funcionales se obtuvieron con una técnica de eco de gradiente eco planar 40 minutos después de la inducción de anestesia, con tiempo de repetición = 1000 ms, repeticiones = 1000, tamaño de matriz [64 x 64], FOV (25.6 x 25.6) mm<sup>2</sup>, 18 rebanadas axiales intercaladas de 1mm de grosor con separación de 0.1 mm. Durante toda la sesión de escaneo el ritmo cardiaco, ritmo respiratorio, saturación de oxígeno y temperatura fueron monitoreados para evaluar la profundidad de la anestesia y condición fisiológica general de los animales. La temperatura corporal fue mantenida con agua caliente circulante.

#### 6.4.2 Preprocesamiento

Para el preprocesamiento de las imágenes funcionales se utilizó la biblioteca de FSL v5.0.9. Los primeros 5 volúmenes de cada serie temporal fueron descartados. Posteriormente se realizó una corrección de movimiento y *slice timing correction* utilizando como referencia el primer volumen que no se descartó. Este volumen también se utilizó para determinar las transformaciones de cuerpo rígido para su imagen anatómica correspondiente. A los conjuntos de datos resultantes se les aplicó un filtro de pasa bandas de altas frecuencias para conservar las frecuencias en el rango de 0.01 a 0.1 Hz. Finalmente, se realizó un suavizado utilizando un kernel Gaussiano de FWHM de 1mm.



**Figura 9. Protocolo de adquisición de imágenes de resonancia magnética funcional.** Flecha verde, reducción progresiva de isoflurano desde el posicionamiento en el resonador. Flecha azul, línea de tiempo con eventos importantes a cada tiempo. Flecha roja, adquisición de imágenes funcionales.

Para la selección de las regiones de interés para el análisis funcional, utilizamos una combinación del Atlas de Rata Wistar de la Universidad de Tohoku (Valdés-Hernández et al., 2011) y el Waxholm Space Atlas (WHS, Papp et al., 2014). Las regiones fueron seleccionadas con base en su relevancia en funciones motoras, y de procesamiento emocional, social, cognitivo y motivacional por lo que se utilizaron doce regiones para los análisis posteriores: Corteza Motora primaria (M1), Corteza Motora Secundaria (M2), Corteza del Cíngulo (Cing), Corteza Frontal de Asociación (FrA), Tálamo (Th), Núcleo Accumbens (Na), Globo Pálido (Gp), Núcleo Estriado (Str), Hipocampo (Hp), Corteza Retroesplenial (RSCx), Corteza Orbitofrontal Dorsolateral (OFDL), e ínsula anterior (Ia).

#### 6.4.3 Análisis de conectividad funcional con Network Based Statistics (NBS)

Con las imágenes preprocesadas, realizamos un análisis para encontrar posibles redes neuronales con cambios en las diferentes condiciones experimentales (edad, suplementación con D-serina). Para esto, utilizamos la herramienta para Matlab, NBS (Network Based Statistics, Zalesky et al., 2010). Este método

estima la significación estadística de conjuntos de conexiones comparando su fuerza (la suma de su peso estadístico), con la de una distribución nula estimada con permutaciones de los datos originales. Los conjuntos de conexiones a probar se definen como conexiones que muestran una significancia estadística a nivel de conexión ( $p < 0.05$ , no corregido para comparaciones múltiples), y comparten al menos un nodo entre ellas. NBS controla el problema de las comparaciones múltiples definiendo la significación estadística a nivel de grupo (conjuntos de conexiones) en función de la probabilidad de obtener tal fuerza estadística en la distribución nula, estimada con 5000 permutaciones aleatorias de los datos originales (Zalesky et al., 2010). Para cada condición experimental se probaron las hipótesis de existencia de redes con aumento ( $[-1, 1]$ ) y disminución ( $[1, -1]$ ) en su conectividad funcional. El valor de umbral primario ( $Z$ ) para cada prueba fue estimado por ensayo y error.

## 7. Resultados

### ***7.1 Caracterización de los cambios en la conducta espontánea y actividad de redes de conectividad funcional cerebral con el envejecimiento***

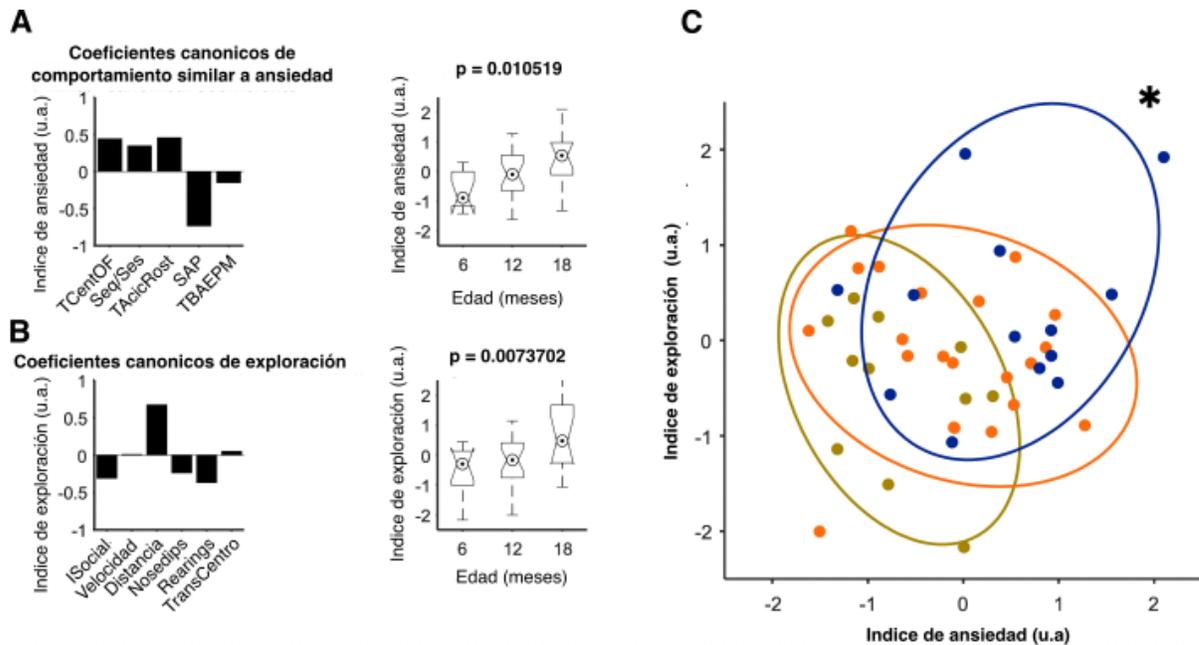
#### *7.1.1 Cambios en la conducta similar a ansiedad y de exploración con la edad*

Con la finalidad de comprender los efectos de la D-serina sobre la motivación en animales viejos, analizamos conductas espontáneas que reflejaran una motivación intrínseca de los animales de jóvenes, adultos y de mediana edad. Para esto combinamos el análisis de video con DeepLabCut y *machine learning* para cuantificar conductas etológicamente relevantes como la exploración de su ambiente, la interacción con otros animales entre muchos otros. Además, utilizamos herramientas matemáticas como las correlaciones canónicas que nos permiten utilizar grupos de variables medidas en el laberinto elevado en cruz y el campo abierto y que nos permitieran caracterizar los diferentes grupos de edad.

Para un primer análisis, utilizamos variables reportadas en la literatura como asociadas a la conducta similar a ansiedad (Fig. 10-A) para definir un índice que llamamos “índice de conducta similar a ansiedad”. Este índice incluye variables evaluadas en el campo abierto (tiempo en área central, TCentOF), de acicalamiento (número de secuencias de acicalamiento por sesión, Seq/Ses; Tiempo de acicalamiento rostral, TAcicRost) y con el laberinto elevado en cruz (Tiempo en brazos abiertos, TBAEPM, *Stretched attend Posture*, SAP) (Fig. 10-A, izquierda). Encontramos que a medida que los sujetos envejecen se observa un incremento del tiempo que pasan en el área central y del acicalamiento tanto en el número de secuencias por sesión como en el acicalamiento del área rostral. De igual manera, asociado al envejecimiento, se observa una disminución de la conducta de estiramiento y con poca aportación al índice una disminución del tiempo que pasan en brazos abiertos. Por la manera en que se define este índice, representa una medida inversa de la conducta similar a ansiedad. El análisis ponderado de la aportación de estas variables analizado con las correlaciones canónicas muestra que este índice aumenta significativamente con la edad (ANOVA, Fig. 10-A, derecha,  $p = 0.0105$ ), lo que sugiere que la conducta similar a ansiedad disminuye con el envejecimiento. En adelante, los resultados serán representados y discutidos como la medida inversa de este índice para facilitar su interpretación.

Para un segundo análisis utilizamos variables asociadas con la exploración, tanto social como del entorno (Fig. 10-B). Para este análisis incluimos variables de distancia y velocidad medidas en campo abierto al igual que las transiciones al centro. Además, incluimos la exploración del animal cuando se asoma con la nariz hacia fuera y abajo del laberinto elevado (*Nosedips*) y cuando se eleva colocado sobre sus dos patas para explorar (*Rearings*). Como parte de la exploración social evaluamos el tiempo que pasaron los animales tocando, al menos con la nariz, alguna parte de otros animales (tiempo de exploración social, ver métodos para más detalle). El análisis en conjunto de estas variables con las correlaciones canónicas mostró un incremento significativo de este índice también con la edad (ANOVA,  $p = 0.00737$ ). Estos resultados muestran que los animales tienen menos conductas similares a la ansiedad con la edad y que son más

propensos a interactuar con su entorno lo que se evidencia en la correlación de los índices que se muestra en la Fig. 10-C.

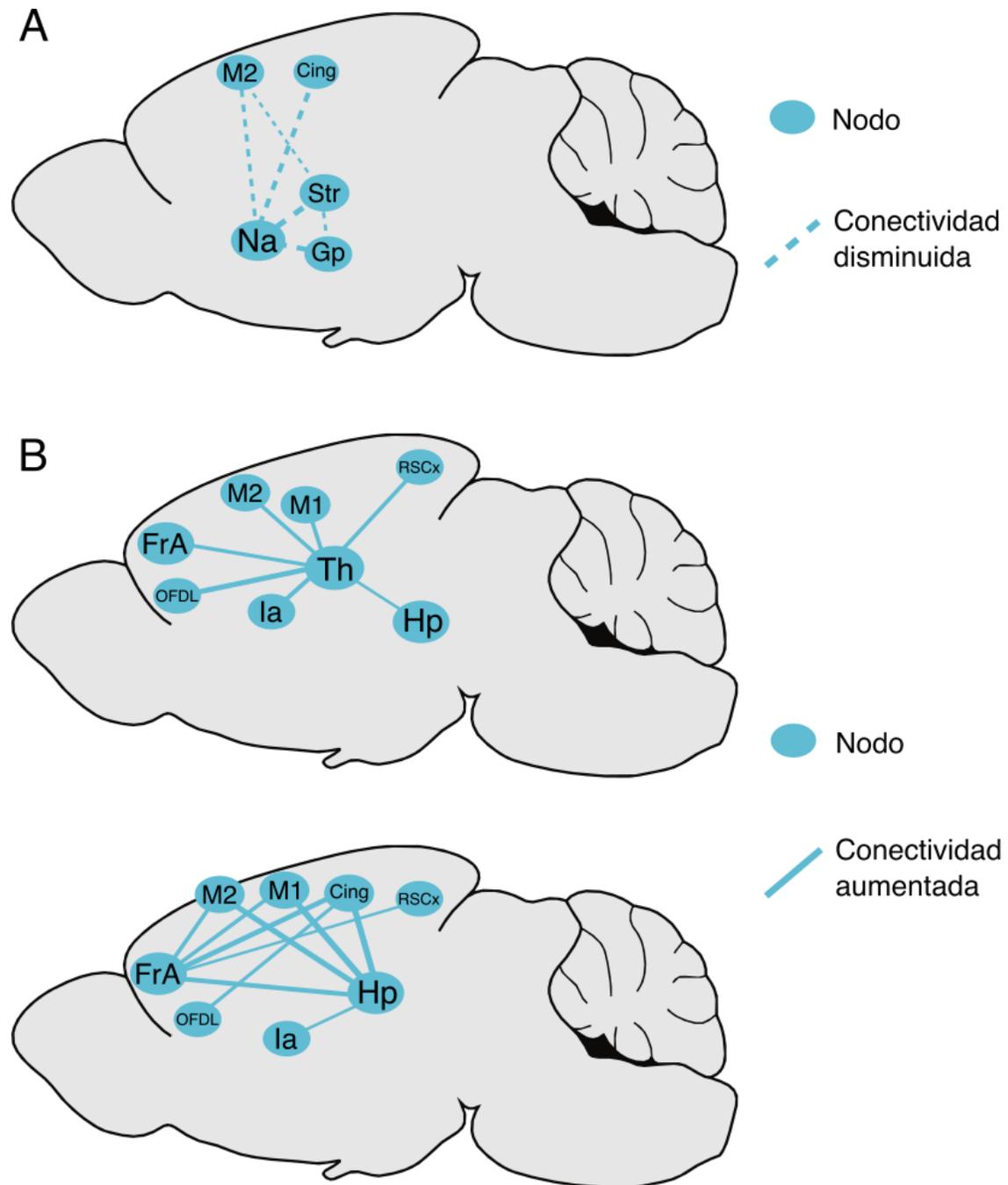


**Figura 10. Cambios en conducta similar a ansiedad y de exploración con el envejecimiento.** A) Izquierda, variables utilizadas para definir un índice de correlaciones canónicas para evaluar el comportamiento de ansiedad. TCentOF, Tiempo en área central en campo abierto; Seq/Ses, Razón de número de secuencias por número de sesiones de acicalamiento; TAcicRost, Tasa de tiempo de acicalamiento rostral; SAP, *Stretched Attend Posture*; TBAEPM, Tiempo brazos abiertos en laberinto elevado en cruz. Derecha, cambios en el índice de ansiedad con el envejecimiento. B) Izquierda, variables utilizadas para definir un índice de correlaciones canónicas para evaluar el comportamiento de exploración. ISocial, Tiempo de interacción social; Velocidad, Velocidad de movimiento promedio, Distancia, Distancia recorrida total; Nosedips, número de nosedips; Rearing, número de rearings; TransCentro, Número de transiciones a la zona central en el laberinto elevado en cruz. C). Cambios en el índice de comportamiento similar a ansiedad e índice de exploración con el envejecimiento. Dorado, jóvenes (6 meses); naranja, Adultos (12 meses); azul, 18 meses (mediana edad). u.a., unidades arbitrarias.

### 7.1.2 Efecto del envejecimiento sobre la conectividad funcional cerebral de diferentes redes

Para el análisis de la conectividad funcional cerebral evaluamos los cambios a nivel de redes cerebrales en ratas de mediana edad en relación con las ratas jóvenes, probando la hipótesis de que con el envejecimiento ocurrían redes cuya conectividad funcional se encontrara disminuida o aumentada. Es así como de acuerdo con los resultados del Network Based Statistics encontramos una red cuya conectividad funcional

disminuye significativamente con el envejecimiento (Fig. 11-A, matriz de diseño = [1,-1], [Jóvenes, Mediana edad];  $Z = 1$ ; Tamaño de componente = intensidad;  $p = 0.030$ , aristas = 6; nodos = 5). Esta red involucra regiones basales, motoras y límbicas como son el globo pálido, la corteza motora secundaria, la corteza del cíngulo, el núcleo accumbens y el estriado, siendo estos dos últimos los nodos más conectados de esta red. De igual forma, encontramos una red cerebral con conectividad funcional incrementada en el envejecimiento (Fig. 11-B, matriz de diseño = [-1, 1], [Jóvenes, Mediana edad];  $z = 1$ ; Tamaño de componente = intensidad;  $p = 0.041$ , aristas = 17, nodos = 9). Esta red involucra nodos con funciones cognitivas, de integración, memoria, motoras y límbicas como son las cortezas retrosplenial, motora primaria y secundaria, orbitofrontal dorsolateral, la corteza de la ínsula, la corteza frontal de asociación, el tálamo y el hipocampo, siendo estas tres últimas las regiones más conectadas de la red. Estos resultados sugieren que en el envejecimiento se afecta el procesamiento de información a diferentes niveles como son la valencia, la memoria episódica y espacial, y la regulación ejecutiva de las cortezas frontales.

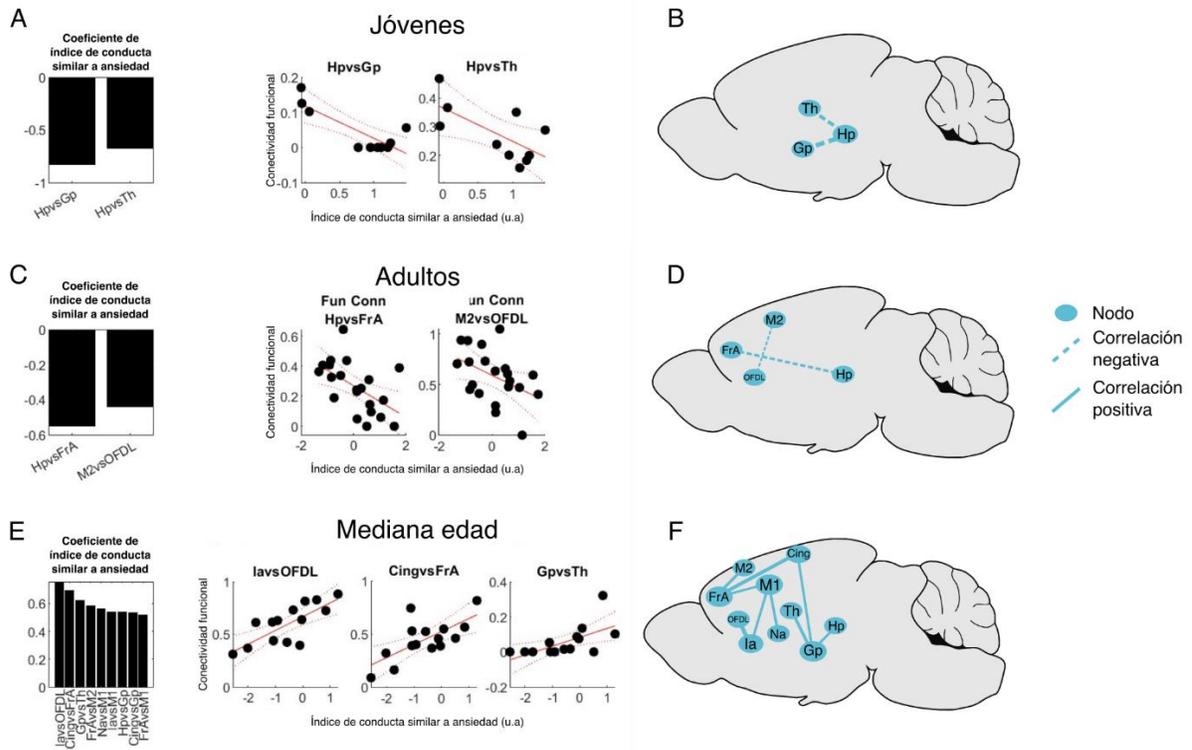


**Figura 11. Cambios en la conectividad funcional en estado reposo con el envejecimiento.** A) Red funcional encontrada para la hipótesis de disminución de conectividad con el envejecimiento. B) Red de conectividad funcional que aumenta con el envejecimiento. Esta red se muestra en dos partes para facilitar su visualización. El tamaño del nodo se corresponde al número de aristas que conectan a ese nodo, el grosor de la arista se corresponde con el estadístico de prueba de NBS. Cing, corteza del cíngulo; FrA, corteza frontal de asociación; Gp, globo pálido; Hp, hipocampo; Ia, ínsula anterior; M1, corteza motora primaria; M2, corteza motora secundaria; Na, núcleo accumbens; OFDL, corteza orbitofrontal dorsolateral; RSCx, corteza retrosplenial; Str, estriado; Th, tálamo.

### *7.1.3 Correlaciones entre la conducta espontánea y la actividad funcional neuronal en estado de reposo*

En nuestro análisis, observamos que durante el envejecimiento se presentan cambios significativos en la conducta y en la conectividad funcional de redes cerebrales. Entonces nos preguntamos si podría existir una relación entre ambas, y si esta se afectaba con el envejecimiento. Para esto, realizamos una correlación de Pearson entre la conectividad funcional de cada par de estructuras cerebrales y el índice de ansiedad y de exploración para cada sujeto. El coeficiente de correlación es una medida que indica el grado de dependencia lineal entre dos variables, en este caso una variable es conductual y la otra conectividad funcional cerebral. En la Figura 12, se muestran las conexiones cuya correlación es significativa para cada índice ( $p < 0.05$ ).

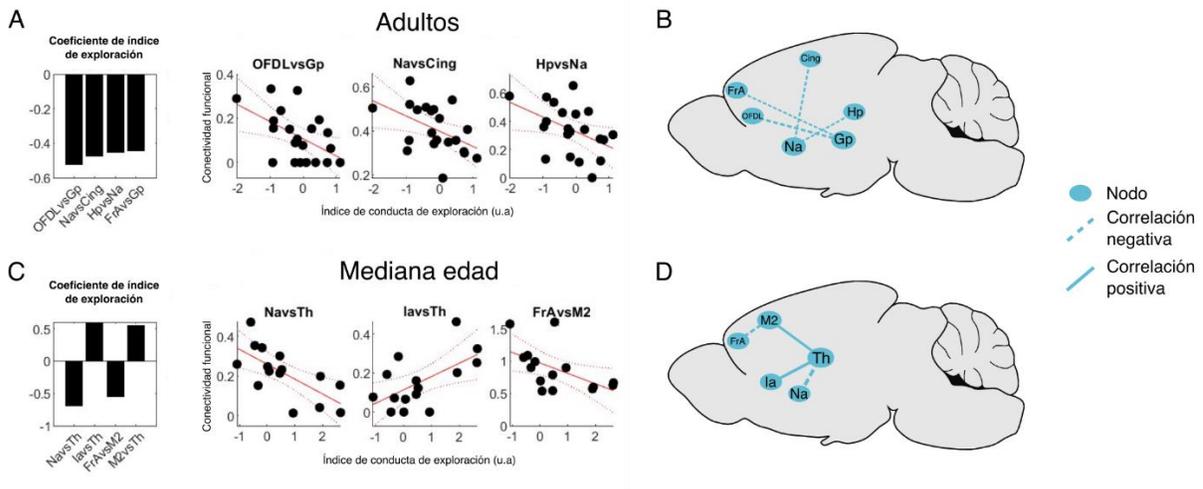
En los animales jóvenes, el índice de la conducta similar a la ansiedad se relaciona de manera positiva con la conectividad funcional del hipocampo con el globo pálido y el tálamo (Fig. 12-A, B). En sujetos adultos, este índice se correlaciona de manera significativa con la conectividad de estructuras más frontales como la corteza frontal de asociación y la orbitofrontal dorsolateral y su conectividad con el hipocampo y la corteza motora secundaria respectivamente (Fig. 12-C, D). Esta tendencia hacia la relación entre la conectividad funcional de estructuras frontales con la conducta similar a la ansiedad de los animales se observa de igual manera en animales de la mediana edad. Aquí, la conectividad funcional entre la corteza frontal de asociación con el cíngulo, las cortezas motoras primarias y secundarias, así como la conectividad de la corteza orbitofrontal dorsolateral con la ínsula anterior resultan muy relevantes para esta conducta, solo que, a diferencia de los animales más jóvenes, esta relación es positiva. De igual manera, la conectividad de la corteza motora primaria con la ínsula anterior y el núcleo accumbens resultan relevantes al igual que la conectividad del globo pálido con el hipocampo, el tálamo y el cíngulo (Fig. 12-E, F).



**Figura 12. Correlación entre la conectividad funcional cerebral en estado de reposo y la conducta similar a ansiedad a diferentes edades.** Coeficiente de correlación entre la conectividad funcional de pares de regiones cerebrales y los índices de conducta similar a la ansiedad con esquema correspondiente de redes cerebrales que forman esas conexiones para animales jóvenes (A-B), adultos (C-D) y de mediana edad (E-F). Para los coeficientes de correlación se muestran a la derecha graficas de dispersión representativas con los valores de correlación más altos (máximo tres por cada condición de edad). Cing, corteza del cíngulo; FrA, corteza frontal de asociación; Gp, globo pálido; Hp, hipocampo; Ia, ínsula anterior; M1, corteza motora primaria; M2, corteza motora secundaria; Na, núcleo accumbens; OFDL, corteza orbitofrontal dorsolateral; Str, estriado; Th, tálamo.

En relación con el índice de exploración que incrementa de manera significativa con el envejecimiento, observamos que este no parece estar asociado con la conectividad funcional de ninguna de nuestras estructuras cerebrales en animales jóvenes. Sin embargo, si se correlaciona con la conectividad funcional en animales adultos (Fig. 13-A, B) y viejos (Fig. 13-C, D). Así, en animales adultos, la conectividad del globo pálido con cortezas frontales (orbitofrontal dorsolateral y frontal de asociación), se asocia de manera negativa con la exploración del animal. De igual forma, la conectividad funcional entre el núcleo accumbens con el cíngulo e hipocampo se asocian de manera inversa con la exploración. En animales de mediana edad, la conectividad funcional del tálamo con el núcleo accumbens, la ínsula y la corteza motora, explica la

conducta exploratoria, solo que estas dos últimas presentan una correlación positiva con esta conducta. En esta edad la conectividad de estructuras frontales es también relevante como lo es la que se establece entre la corteza frontal de asociación con la corteza motora secundaria.



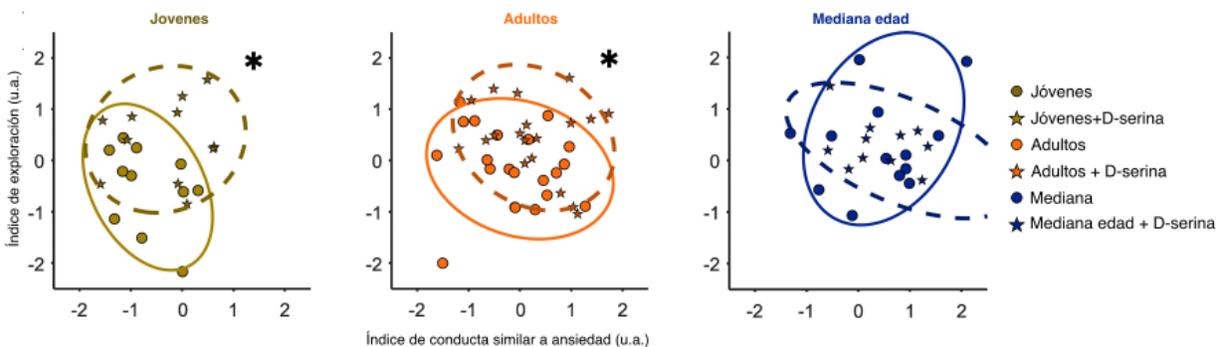
**Figura 13. Correlación entre la conectividad funcional cerebral en estado de reposo y la conducta de exploración a diferentes edades.** Coeficiente de correlación entre la conectividad funcional de pares de regiones cerebrales y los índices de conducta similar de exploración con esquema correspondiente de redes cerebrales que forman esas conexiones para animales adultos (A-B), y de mediana edad (C-D). Para los coeficientes de correlación se muestran a la derecha graficas de dispersión representativas con los valores de correlación más altos (máximo tres por cada condición de edad). Gp, globo pálido; Hp, hipocampo; Ia, ínsula anterior; M1, corteza motora primaria; M2, corteza motora secundaria; Na, núcleo accumbens; OFDL, corteza orbitofrontal dorsolateral; Str, estriado; Th, tálamo.

De manera interesante, con el envejecimiento aparecen más conexiones que participan en predecir la conducta similar a ansiedad. Esto podría interpretarse como un desbalance del sistema, o también como parte de mecanismos compensatorios en los que el procesamiento de información está más distribuido y requiera de la participación y el reclutamiento de más regiones y recursos neuronales para mantener la función (Cabeza et al., 2018). Algo que es también de resaltar es que la conectividad funcional cerebral en estado de reposo puede explicar en gran medida la conducta espontánea de los sujetos de diferentes edades y que la participación de diferentes regiones en la conducta de ansiedad y motivación cambia con la edad.

## 7.2 Caracterización del efecto de la D-serina sobre la actividad espontánea y la conectividad funcional cerebral en ratas de diferentes edades

### 7.2.1 La suplementación con D-serina aumenta la conducta de exploración en animales jóvenes y adultos

Una vez descritos los cambios conductuales que ocurren con la edad, nos propusimos evaluar el efecto de la suplementación crónica de D-serina sobre estos. Encontramos que la suplementación de D-serina aumentó la conducta exploratoria en animales jóvenes y adultos (Fig. 14; ANOVA,  $p < 0.05$ ), sin modificar a los sujetos de mediana edad. No encontramos cambios significativos en el índice de conducta similar a ansiedad a ninguna edad.



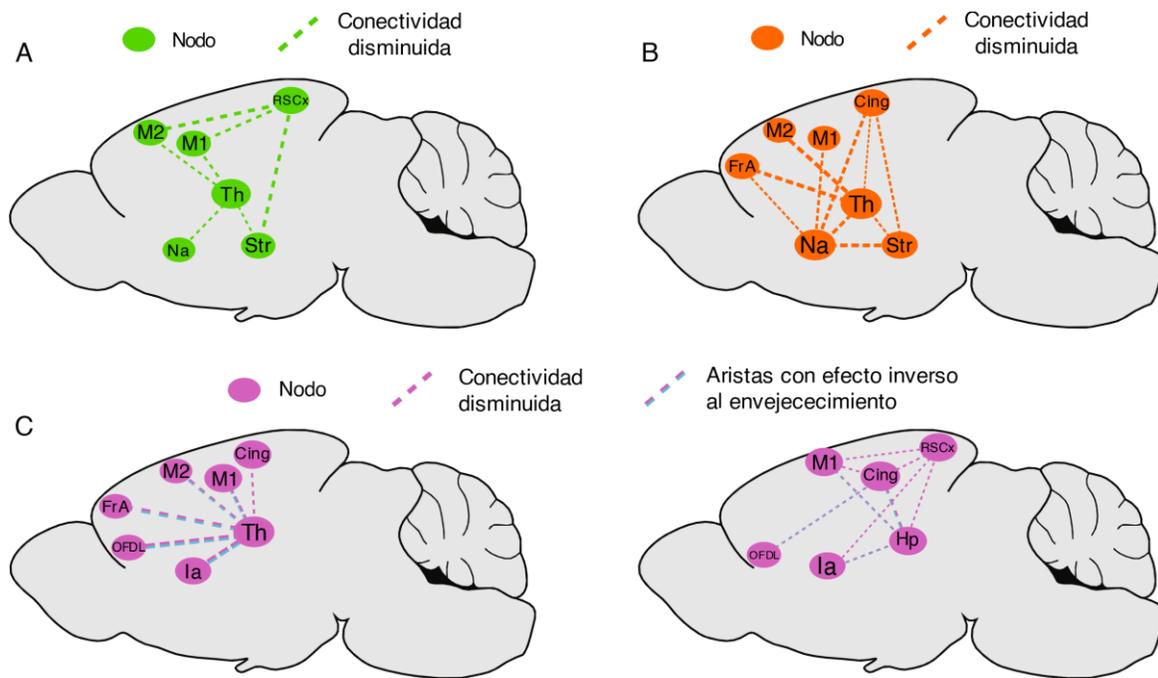
**Figura 14. Efecto de la D-serina sobre la conducta exploratoria y la conducta similar a ansiedad en animales de diferentes edades.** Gráficas de dispersión del índice de conducta similar a ansiedad y del índice de exploración de animales jóvenes (izquierda), adultos (centro) y de mediana edad (derecha) tras la suplementación crónica de D-serina. Los círculos en cada gráfica indican los animales control y las estrellas los animales tratados con D-serina. \*  $p < 0.05$ , ANOVA.

### 7.2.2 El efecto de la D-serina en la conectividad funcional es dependiente de la edad, y en animales envejecidos revierte los cambios que ocurren con la edad

Una vez observados los cambios en la conducta espontánea por efecto de la suplementación con D-serina, nos preguntamos si estos cambios podrían ser explicados con cambios en la actividad cerebral. Para eso

evaluamos la conectividad funcional también en los animales tratados con D-serina en los diferentes grupos de edades. En animales jóvenes encontramos una red cuya conectividad funcional disminuye tras el tratamiento de D-serina (Fig. 15-A; matriz de diseño = [1, -1], [Jóvenes, Jóvenes + D-serina],  $Z = 1.2$ ; tamaño de componente = extensión;  $p = 0.043$ ; aristas = 7; nodos = 6). Esta red está formada por regiones basales y motoras que interceden en el tálamo. Para los animales de mediana edad, encontramos una red con actividad disminuida en el envejecimiento (Fig. 15-C; matriz de diseño = [1,-1], [mediana edad, mediana edad + D-serina]; tamaño de componente = intensidad;  $p = 0.049$ , aristas= 15; nodos = 9). De manera interesante, la D-serina incrementa la conectividad funcional entre seis de las conexiones que se ven disminuidas con el envejecimiento, lo que representa el 52.94% del total de las conexiones que conforman la red que disminuye con el envejecimiento. De manera similar a la red que aumenta en el envejecimiento, las regiones de tálamo e hipocampo también son predominantes en esta red que disminuye tras el tratamiento con D-serina, participando en seis y cuatro conexiones respectivamente, lo que puede ser indicador de la relevancia de estas regiones en el proceso de envejecimiento. Además de esto, la corteza retrosplenial adquiere relevancia al participar en cuatro conexiones de la red tras el tratamiento de D-serina. Las estructuras cerebrales y los cambios en la conectividad funcional que componen esta red difieren de la encontrada en animales jóvenes tratados con D-serina. Sin embargo, la conectividad de las cortezas motoras primaria y secundaria con tálamo y la corteza retrosplenial se ve disminuida tanto en animales jóvenes como adultos y de mediana edad, lo que sugiere estos como blancos preferentes de la D-serina. En las redes de conectividad cerebral funcional que disminuyen por la suplementación con D-serina, la conectividad funcional que incide del tálamo difiere entre ambas redes, lo que podría darle un significado funcional completamente diferente. En animales de mediana edad tratados con D-serina la conectividad funcional del tálamo con regiones frontales (Orbitofrontal dorsolateral, frontal de asociación) motoras (corteza motora primaria y secundaria) y límbicas (ínsula anterior y cíngulo) se disminuye. En animales jóvenes la conectividad funcional del tálamo con cortezas frontales no se ve disminuida por el tratamiento con D-serina, aunque si las motoras. Además, se observa en animales jóvenes una disminución de la conectividad entre el tálamo y el estriado y el núcleo accumbens. Finalmente, en animales adultos también encontramos

una red con conectividad funcional disminuida tras el tratamiento con D-serina (Fig. 15-B; matriz de diseño = [1, -1], [Adultos, Adultos + D-serina]; Z = 1; tamaño de componente = intensidad; p = 0.0256, aristas = 10; nodos = 7). Esta red incluye regiones basales y motoras de manera similar a la encontrada en animales jóvenes, sin embargo, también aparecen regiones frontales y de integración de información, como son corteza frontal de asociación y cíngulo; por lo que esta red podría representar una transición entre los efectos encontrados en animales jóvenes y de mediana edad. De manera relevante, el tratamiento con D-serina provocó disminuciones en la conectividad funcional de redes en todas las edades evaluadas, y a ninguna edad encontramos aumentos en la conectividad funcional por efecto de la D-serina. Esta información puede ser sugerente de los mecanismos celulares y moleculares subyacentes al efecto de la suplementación de D-serina, y de la disminución fisiológica de la D-serina con el envejecimiento.

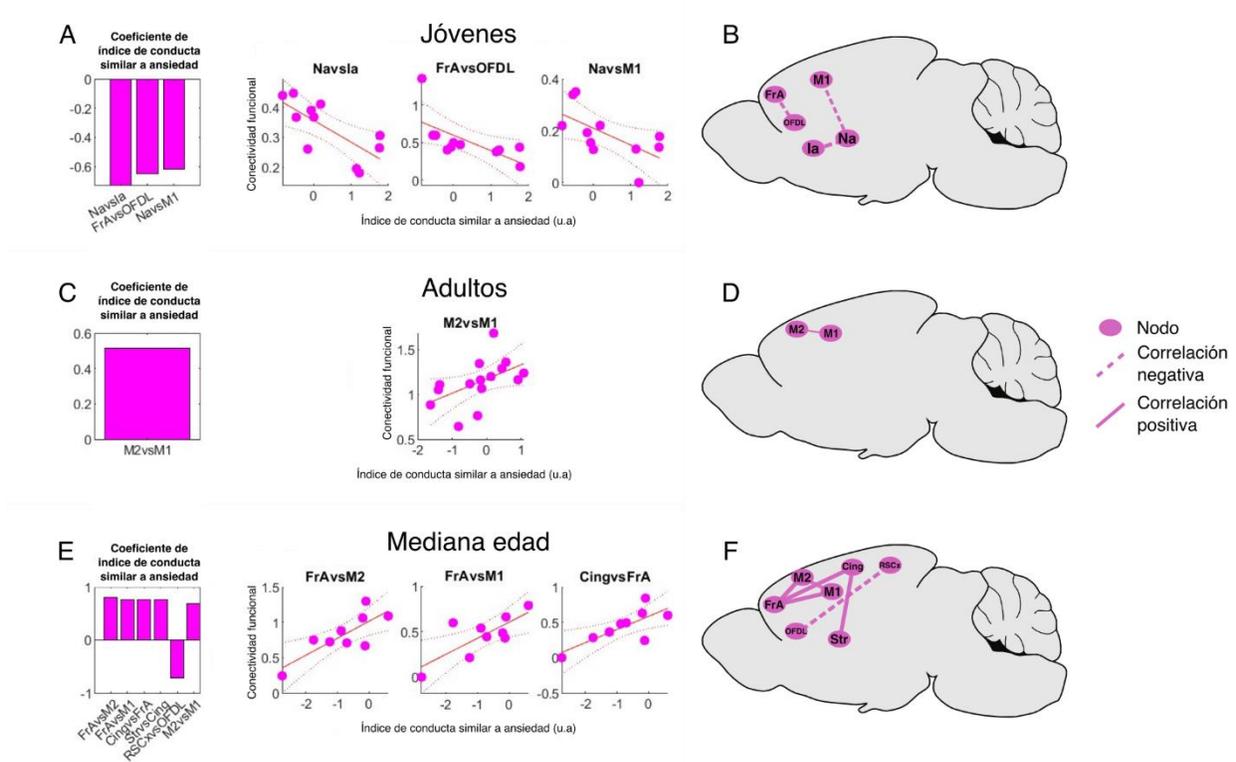


**Figura 15. Efecto de la D-serina sobre la conectividad funcional de redes de animales a diferentes edades.** Red funcional cerebral con conectividad disminuida en animales jóvenes (A), adultos (B) y de mediana edad (C) tratados con D-serina. Panel C mostrado en dos partes para facilitar visualización. Las líneas punteadas doble color (azul y rosa) representan conectividades con el efecto inverso al que ocurre en el envejecimiento. El tamaño del nodo que indica cada estructura corresponde al número de conexiones en las que participa, el grosor de la arista corresponde con el estadístico de prueba de NBS.

### *7.2.3 La suplementación con D-serina tiene efectos en la correlación entre la actividad cerebral y la conducta espontánea.*

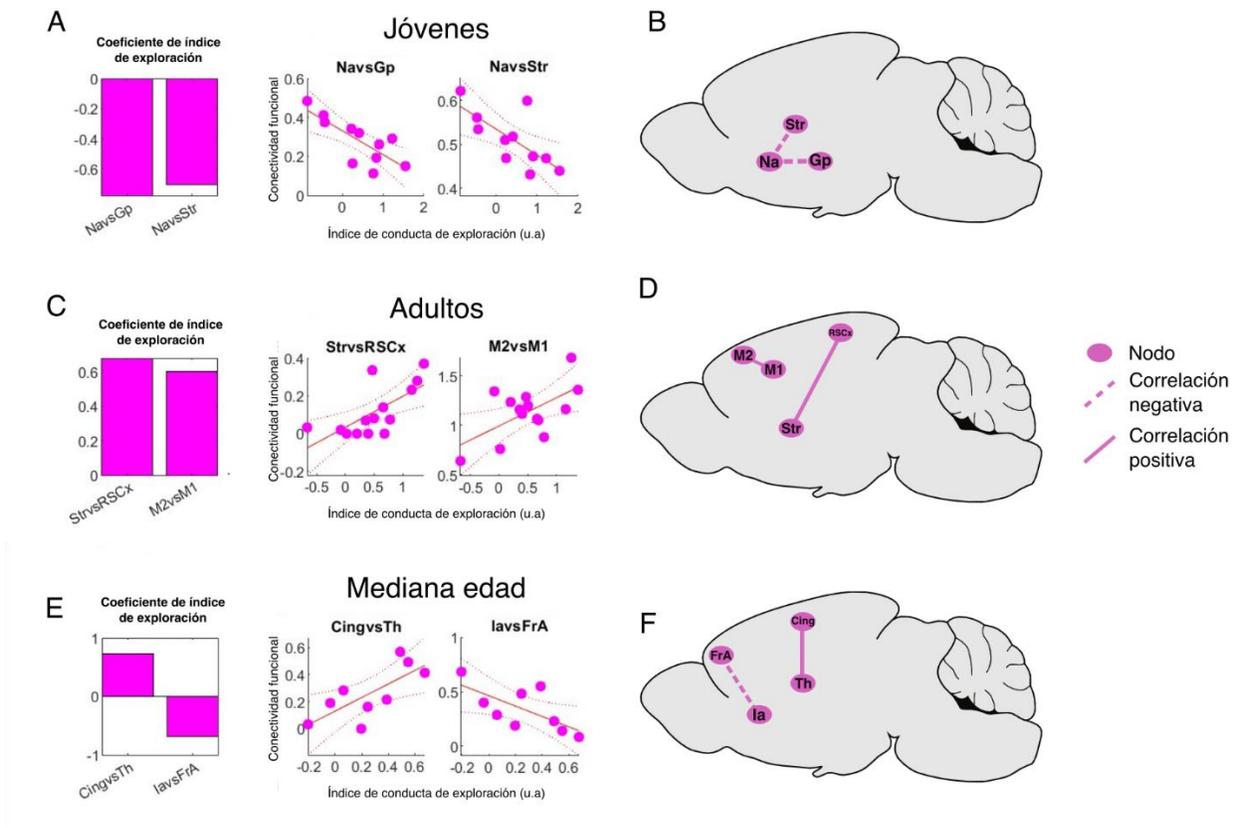
De manera similar a lo descrito para los cambios en el envejecimiento, evaluamos la correlación entre la conectividad funcional tras la suplementación crónica de D-serina con los cambios en la conducta espontánea. De igual manera encontramos correlaciones significativas entre la conectividad de diferentes estructuras asociadas con la conducta similar a ansiedad y de exploración. Sin embargo, las conectividades funcionales relevantes para la conducta en animales suplementados con D-serina son, en su mayoría, diferentes a las conectividades con correlación con la conducta en animales control.

Por ejemplo, en animales jóvenes, la conectividad del núcleo accumbens con la ínsula anterior y la corteza motora, se hace asocian de manera inversa con el índice de la conducta similar a la ansiedad, al igual que la conectividad entre estructuras frontales como la corteza orbitofrontal y la frontal de asociación (Fig. 16-A, B). Esto es interesante ya que nuestros resultados conductuales no muestran diferencias entre animales controles y suplementados con D-serina, lo que indica que, aunque los animales presenten el mismo desempeño conductual, las regiones cerebrales involucradas cambian por efecto de la D-serina. Al igual que observamos en animales controles, en animales adultos (Fig. 16-C, D) y de mediana edad (Fig. 17-E, F), las correlaciones entre las conectividades funciones de regiones cerebrales y el índice similar de ansiedad tiene una valencia positiva. En animales adultos este índice se correlaciona significativamente con la conectividad funcional entre las cortezas motoras primarias y secundarias, mientras que, para los animales de mediana edad, se asocia positivamente con la conectividad de la corteza del cíngulo con la frontal de asociación y la corteza motora secundaria.



**Figura 16. La conectividad funcional de animales tratados con D-serina predice su comportamiento similar a ansiedad a diferentes edades.** Coeficiente de correlación entre la conectividad funcional de pares de regiones cerebrales y los índices de conducta similar de exploración con esquema correspondiente de redes cerebrales que forman esas conexiones para animales jóvenes (A-B), adultos (C-D) y de mediana edad (E-F). Para los coeficientes de correlación se muestran a la derecha graficas de dispersión representativas con los valores de correlación más altos (máximo tres por cada condición de edad). Cing, corteza del cíngulo; FrA, corteza frontal de asociación; Ia, ínsula anterior; M1, corteza motora primaria; M2, corteza motora secundaria; Na, núcleo accumbens; OFDL, corteza orbitofrontal dorsolateral; RSCx, corteza retrosplenial; Str, estriado.

En relación con el índice de exploración, la conectividad funcional entre el núcleo accumbens con el globo pálido y el estriado se asocian de manera inversa en animales jóvenes (Fig. 17-A, B), lo que significa que, entre menor conectividad entre estas regiones, mayor será la exploración del ambiente del animal. En animales adultos, las conexiones funcionales asociadas a esta conducta son las que ocurren entre cortezas motoras primaria y secundaria y entre estriado y corteza retrosplenial (Fig. 17-C-D). Finalmente, en animales de mediana edad la conectividad entre el cíngulo y el tálamo se relaciona positivamente con la conducta de exploración, mientras la conectividad entre la ínsula anterior y la corteza frontal de asociación lo hace de manera inversa (Fig. 17-E, F).



**Figura 17. La conectividad funcional de animales tratados con D-serina predice su comportamiento de exploración a diferentes edades.** Coeficiente de correlación entre la conectividad funcional de pares de regiones cerebrales y los índices de conducta similar de exploración con esquema correspondiente de redes cerebrales que forman esas conexiones para animales jóvenes (A-B), adultos(C-D) y de mediana edad (E-F). Para los coeficientes de correlación se muestran a la derecha las gráficas de dispersión correspondientes. Cing, corteza del cíngulo; FrA, corteza frontal de asociación; Gp, globo pálido; Ia, ínsula anterior; M1, corteza motora primaria; M2, corteza motora secundaria; Na, núcleo accumbens; Str, estriado; Th, tálamo.

También encontramos conexiones presentes tanto en animales de mediana edad como en animales de la misma edad tratados con D-serina, siendo éstas cíngulo con corteza frontal de asociación, corteza frontal de asociación con corteza motora primaria, y corteza frontal de asociación con corteza motora secundarias. Estas redes además no están presentes en los cambios con el tratamiento con D-serina, lo que sugiere que este efecto es robusto en el envejecimiento aun tras el tratamiento de D-serina, y que esta podría realizar su efecto a través de conexiones diferentes, posiblemente por actividad con el tálamo, consistente con lo planteado anteriormente.

## 8. Discusión

### *8.1 Conectividad funcional y conducta*

En el presente trabajo, evaluamos cambios con el envejecimiento a nivel conductual y de redes cerebrales funcionales, así como el efecto de la D-serina sobre estos. Asociado al envejecimiento, observamos una disminución de la conducta similar a la ansiedad y un incremento en la conducta de exploración. En relación con la conectividad funcional de redes cerebrales, se observó un efecto dual, redes que disminuyeron y otras que incrementaron su conectividad y cuya conectividad funcional se asoció con las conductas espontáneas de los animales, observándose en su mayoría correlaciones opuestas entre los animales jóvenes y los sujetos de mediana edad. La suplementación crónica con D-serina incremento la conducta exploratoria en animales jóvenes y adultos sin afectar en ningún caso la conducta similar a la ansiedad. Los animales que recibieron D-serina disminuyeron su conectividad funcional en todas las edades evaluadas, restaurando parcialmente los efectos del envejecimiento sobre estas redes cerebrales. De igual manera, modificó el aporte de las conectividades funcionales en la realización de conductas espontáneas, haciendo más relevantes estructuras más frontales como las de la corteza frontal de asociación y la corteza del cíngulo.

#### *8.1.2 Cambios en las conductas espontáneas y la conectividad funcional asociada con el envejecimiento*

Durante el envejecimiento, se observó una disminución en la expresión de conductas similares a ansiedad y un aumento en la de exploración tanto social como con su entorno en ambientes novedosos, lo que es consistente con lo reportado anteriormente (Torras-Garcia et al., 2005, pero ver también Meyza et al., 2011). Los cambios en la exploración no parecen ser determinados por cambios en la actividad locomotora per se

ya que los parámetros de la actividad motora espontánea evaluados en campo abierto y laberinto elevado en cruz no muestran diferencias asociados al envejecimiento. Estos hallazgos no coinciden con lo reportado por otros grupos (Mora et al., 2007; Torras-Garcia et al., 2005) y con resultados previos de nuestro grupo en donde, utilizando una rueda de actividad locomotora, la actividad motriz evaluada en 3 días consecutivos si disminuyó con el envejecimiento (datos no publicados). Esto podría ser explicado por diferencias fundamentales entre las evaluaciones de la actividad locomotora en condiciones de habituación y de alerta. Además, se ha sugerido que la rueda de actividad locomotora puede ser una actividad intrínsecamente recompensante (Novak et al., 2012). Con esta perspectiva, podría ser que la disminución en la actividad locomotora en la rueda asociado al envejecimiento edad pueda deberse a cambios en los mecanismos de control de movimiento y recompensa, más que a las capacidades motrices del animal, como indica que los animales de mediana edad puedan mantener velocidades y distancias recorridas similares a los animales jóvenes en pruebas como la de campo abierto. Esto sería consistente con lo descrito por Herrera-Pérez y colaboradores (2008), en donde en el envejecimiento aumenta la susceptibilidad a anhedonia en ratas macho.

Estos cambios conductuales en el envejecimiento se acompañaron de una disminución en la conectividad funcional entre regiones del sistema de recompensas y un aumento en la conectividad entre regiones del sistema de control frontoparietal. En particular, encontramos cambios en la conectividad de la corteza frontal de asociación y el hipocampo y la corteza retrosplenial que podría explicar el déficit en la recuperación de la memoria en el envejecimiento (Maguire, 2003; Trask & Fournier, 2022). Por su parte, el cambio en la conectividad con el cíngulo podría representar cambios en la integración de información afectiva que lleve a la ejecución de tareas (Pardo et al., 2020; Rolls, 2019). Finalmente, el cambio con las regiones motoras podría indicar deficiencias en la saliencia de las conductas motoras, de manera similar a la conectividad con el tálamo, a través del bucle que existe con los ganglios basales. En resumen, podemos decir que los cambios en la conectividad funcional con el envejecimiento son consistentes con cambios en

diferentes aspectos del procesamiento de información y ejecución de tareas, como son la valencia, la recuperación de memoria, monitoreo de conflicto, control, integración y saliencia motora (Beason-Held et al., 2021; Cera et al., 2019; Jobson et al., 2021; Martinelli et al., 2013; Michely et al., 2018; Pardo et al., 2007).

La conectividad funcional entre pares de regiones cerebrales se correlacionó con el desempeño conductual en todas las edades. Sin embargo, los animales más viejos mostraron un mayor número de regiones cerebrales asociadas con las conductas lo que podría ser reflejo de un procesamiento más distribuido de la información como un mecanismo de compensación del envejecimiento (Park & Reuter-Lorenz, 2009). De manera interesante la conectividad entre el globo pálido y el hipocampo cambio su papel en la conducta con el envejecimiento, mostrando una correlación negativa con la conducta similar a ansiedad en animales jóvenes, y una correlación positivamente en animales de mediana edad.

En el envejecimiento encontramos cambios asociados al sistema de control frontoparietal en regiones de corteza frontal de asociación, corteza orbitofrontal dorsolateral, ínsula anterior y corteza del cíngulo. De manera particular, estos cambios incluyen el bucle de control (Botvinick et al., 2001), formado por las regiones de corteza del cíngulo y la corteza orbitofrontal dorsolateral, involucradas en funciones de monitoreo de conflicto y mantenimiento de representaciones internas respectivamente (Botvinick et al., 2004; Kerns et al., 2004). Estos resultados sugieren que existen mecanismos fisiológicos subyacentes en el envejecimiento que podrían explicar un cambio en el monitoreo de conflicto o la capacidad de generar control, que podría facilitar la inactividad en adultos mayores.

### *8.1.3 Efecto de la D-serina sobre las conductas espontáneas y la conectividad funcional en animales de diferentes edades*

La suplementación con D-serina a animales jóvenes y adultos produjo un aumento en su conducta de exploración, es importante hacer notar que este incremento en la exploración no se debe a un incremento en la hiperactividad de los animales ya que en ningún grupo experimental se observaron cambios en la conducta similar a ansiedad por efecto de la D-serina. Es importante resaltar la dificultad de trabajar con conductas espontáneas ya que son altamente susceptibles a diferencias individuales y variaciones en la evaluación. Es posible que el efecto facilitador de la D-serina pudiera extenderse a otros ámbitos de conductas motivadas como lo son la conducta sexual o comportamientos de cuidado paternal. En estos casos la D-serina podría tener un efecto diferencial según el sexo, debido a la importancia de las hormonas sexuales en el circuito de comportamiento social, sobre la cual tiene efecto la D-serina a nivel del circuito de toma de decisiones; y a la interacción que existe entre dopamina y hormonas sexuales esteroideas (Di Paolo, 1994; Sánchez et al., 2010).

Estudios previos de nuestro grupo, mostraron que la suplementación de D-serina modifica la actividad locomotora a diferentes edades cuando se evalúan en la rueda por 3 días. En estos trabajos, encontramos que los animales jóvenes disminuyeron la actividad locomotora y en animales envejecidos (24 meses de edad) incrementaron su actividad locomotora, siendo similar a la de animales jóvenes. Esta evidencia refuerza el papel dual de la D-serina (y posiblemente del NMDAR), en procesos cognitivos y motores y es consistente con la idea de que los cambios locomotores en el envejecimiento podrían deberse a cambios en los mecanismos de control y recompensa; y que la D-serina actúa sobre estos sistemas, restaurando la función en animales envejecidos.

Con relación a la conectividad funcional de redes cerebrales, la suplementación de D-serina produce efectos que son dependientes de la edad. En animales jóvenes, la D-serina, disminuye la conectividad de regiones basales, el tálamo y las cortezas motoras. Esto podría tener efectos funcionales similares a lo que ocurre en la red con conectividad funcional disminuida en el envejecimiento, ya que, aunque no hay coincidencias exactas en las conexiones afectadas, en ambas redes se afectan regiones que forman parte del sistema de toma de decisiones, específicamente en el sistema de recompensas, en la que el tálamo parece tomar un papel más importante como mediador del flujo y la integración de información en los animales jóvenes suplementados con D-serina. Estos resultados son consistentes con datos previos del laboratorio (Vázquez-Prieto, 2023) en donde la administración de D-serina a animales jóvenes puede afectar su desempeño cognitivo y en ratas viejas facilitar su desempeño.

Tras la suplementación con D-serina en animales de mediana edad, encontramos un efecto que revierte los cambios que ocurren en el envejecimiento a nivel de redes funcionales en los sistemas de control frontoparietal y de memoria hipocampal-cortical. La D-serina no parece tener efecto sobre el sistema de toma de decisiones, que si presenta efectos en el envejecimiento. Sin embargo, podría influir en esta red a través del bucle de corteza frontal de asociación con tálamo y ganglios basales. En animales adultos, la D-serina tiene un efecto intermedio entre los observados en animales jóvenes y de mediana edad, en los que disminuye la conectividad entre regiones basales con el tálamo, y también entre la corteza frontal de asociación y el cíngulo con el tálamo. Esto podría representar un cambio transicional en el efecto de la D-serina entre animales jóvenes y de mediana edad que puede ser reflejo del proceso de deterioro con el envejecimiento, particularmente, de los cambios en los niveles de D-serina.

Aunque la D-serina tenga efectos diferenciales en animales a diferentes edades, podemos describir ciertas generalidades en su mecanismo de acción. En todas las condiciones de edad, el efecto encontrado fue de

disminución en la conectividad a nivel de redes, aunque las regiones afectadas fueran diferentes. Esto contrasta con lo que ocurre en el envejecimiento, en el que encontramos tanto aumentos como disminuciones en la conectividad funcional a nivel de redes. También podemos observar como el tálamo tiene un papel central como región en la que interceden muchos de los cambios entre las conexiones que ocurren en todas las edades evaluadas. Esto podría ser reflejo de la relevancia de la D-serina en la funcionalidad del tálamo y de la importancia de esta región como relevo de información a nivel de redes. También observamos efectos en conexiones que coinciden al estar presentes en redes a diferentes edades. Particularmente, los cambios en la conectividad entre el tálamo y las cortezas motoras son consistentes al aparecer en todas las edades evaluadas. Sin embargo, esto podría tener una interpretación funcional diferente en el contexto del estado inicial del sistema y de las redes de las que forman parte estas conexiones.

#### *8.1.4 Cambios en los mecanismos de control ejecutivo como mediador del efecto de la D-serina en funciones cognitivas*

En trabajos previos encontramos que con el envejecimiento disminuye la flexibilidad cognitiva en una tarea de aprendizaje reverso (Nava-Gómez et al., 2022). En animales envejecidos y de mediana edad suplementados con D-serina los animales mejoran su desempeño, asemejándose a animales jóvenes. Originalmente, atribuimos estos resultados a mejoras en las funciones cognitivas con la suplementación de D-serina en animales de mediana edad y envejecidos. Sin embargo, esto también es consistente con cambios en el nivel de involucración de los animales con la tarea y con la capacidad de reclutar mayores recursos cognitivos a través de mecanismos de control aumentados, lo que también coincide con los cambios en redes neuronales funcionales encontrados en animales de mediana edad en este trabajo. Así, la D-serina al actuar sobre mecanismos de control podría influenciar la involucración de los adultos mayores en tareas físicas y cognitivamente demandantes.

Sin embargo, una alternativa podría ser que la D-serina esté actuando sobre las capacidades motrices, a nivel de tejido óseo y músculo. Esto es plausible debido a que se ha demostrado la presencia de D-serina en tejidos periféricos (Montesinos Guevara & Mani, 2016). Particularmente, se ha demostrado un papel de la D-serina en la degeneración de motoneuronas en la esclerosis lateral amiotrófica (Sasabe et al., 2012); y en tejido óseo, participa en el balance de formación y reabsorción de hueso y se ha sugerido un papel de la D-serina en la osteoporosis asociada con el envejecimiento (Rivera-Villaseñor et al., 2021). Esto podría facilitar la tarea de palanqueo, afectando la evaluación de flexibilidad cognitiva, como también podría explicar los cambios en la rueda de actividad locomotora mencionados anteriormente.

### *8.1.5 Perspectivas de redes, conectividad y MRI*

Debido al papel de la D-serina en modular el balance E/I y la actividad de redes a través de interneuronas GABAérgicas, es relevante mencionar la posible involucración de la actividad inhibitoria en la interpretación de los resultados de fMRI. A menudo se asume que la señal BOLD de la fMRI es reflejo de la actividad excitatoria. Sin embargo, recientemente se describió un componente de las neuronas inhibitorias en condiciones experimentales (Moon et al., 2021), aunque normalmente no es posible distinguir entre la actividad excitatoria e inhibitoria en fMRI (Logothetis, 2008). En el envejecimiento encontramos cambios que incluyen tanto aumentos como disminuciones en la conectividad funcional. En el envejecimiento se ha reportado alteraciones de la actividad GABAérgica y el tono inhibitorio (Rozycka & Liguz-Leczna, 2017). No está claro cómo una disminución de la actividad inhibitoria afectaría la señal BOLD y las imágenes de conectividad funcional por fMRI. Por un lado, al aumentar la excitabilidad sináptica podría derivar en mayor congruencia entre la actividad neuronal que resultaría en mayor conectividad funcional, sin embargo, las interneuronas inhibitorias también son conocidas por regular la sincronización de la actividad de redes (Roux & Buzsáki, 2015). El tratamiento con D-serina consistentemente resultó en disminuciones en la conectividad funcional tanto en animales jóvenes como de

mediana edad, aunque esto involucraba regiones diferentes. Adicionalmente, el tálamo, que es conocida como una fuente importante de actividad excitatoria a las interneuronas inhibitorias de la corteza frontal (Swanson & Maffei, 2019) adquiere mayor importancia en estos cambios, lo que nos lleva a pensar que el efecto de la D-serina este mediado por interneuronas inhibitorias.

No está claro si los cambios observados en conectividad funcional en el envejecimiento y con el tratamiento de D-serina se correspondan con cambios en la integridad de los tractos que conectan las diferentes estructuras. Se ha reportado que en el envejecimiento ocurre una disminución de la sustancia blanca, lo que podría estar involucrado con los cambios en la conectividad funcional en el envejecimiento (Gunning-Dixon et al., 2009). En este trabajo planteamos que el efecto de la D-serina en animales jóvenes y de mediana edad en la conectividad funcional de redes neuronales surge de su papel en modular la actividad de las diferentes regiones, sin embargo, no descartamos un posible efecto sobre la comunicación entre las estructuras involucradas derivado de la integridad de los tractos. Una evidencia a favor de esta idea es el papel neuroprotector de oligodendrocitos y promotor de mielinización descrito para la L-serina (Wang et al., 2019). En este sentido, en un modelo genético *knockout* para la enzima SR en ratones, los animales presentan mayor volumen ventricular, lo que sugiere un rol de la D-serina en la integridad estructural cerebral, con cambios similares a los reportados en el envejecimiento (Puhl et al., 2015).

## **8.2 Mecanismos celulares, moleculares y electrofisiológicos**

Existen diferentes mecanismos que podrían explicar el efecto diferencial de la D-serina en animales jóvenes y viejos. Es tentador pensar que esto se deba a diferencias en la concentración alcanzada en el cerebro tras la suplementación. Así, animales jóvenes sin deterioro en sus niveles de D-serina podrían alcanzar niveles supra fisiológicos, con posibles efectos perjudiciales, mientras en animales envejecidos, la suplementación con D-serina en realidad restaura los niveles fisiológicos con un efecto terapéutico. Consistente con la idea

de que la D-serina puede tener efectos dependientes de concentración, se ha reportado que el efecto de la D-serina exógena para modular la función del receptor NMDA es dosis dependiente y con forma de “campana” (Zhang et al., 2008), en las que a altas concentraciones presenta un efecto inhibitorio, debido que la D-serina comienza a actuar como un inhibidor competitivo del sitio de unión a glutamato en la subunidad GluN1, en lugar de su sitio típico en la subunidad GluN2 (Yovanno et al., 2022). Por otro lado, la actividad de la D-serina endógena normalmente es regulada al nivel de la sinapsis y es liberada de una manera dependiente de actividad (Papouin et al., 2012; Wong et al., 2020). Es posible que la D-serina administrada de manera exógena actúe alterando este balance, con efectos diferentes a elevaciones fisiológicas del transmisor, por ejemplo, actuando de manera putativa sobre receptores extrasinápticos, afectando el balance entre mecanismos de supervivencia y muerte neuronal; o sobre diferentes sitios sinápticos o tipos celulares.

Aunque la señalización glutamatérgica normalmente se asocia con la actividad excitatoria, los receptores NMDA pueden influenciar el tono inhibitorio al inducir plasticidad en interneuronas GABAérgicas (Booker & Wyllie, 2021). Se ha demostrado la participación de la D-serina en la inducción de plasticidad mediada por receptor NMDA también en este tipo de neuronas (Lecouflet et al., 2022). En animales *knock out* para la enzima SR, se encontraron alteraciones en el balance E/I, y menor número de neuronas inhibitorias (Jami et al., 2021; Ploux et al., 2020). Sin embargo, esto no alteró la actividad a nivel de sinapsis y en evaluaciones conductuales y cognitivas, atribuido a mecanismos compensatorios que incluyen cambios en los niveles de glicina, y disminución de la actividad inhibitoria a nivel de circuitos. No se sabe si este panorama sea similar a una disminución fisiológica de D-serina como la que ocurre en el envejecimiento, pudiendo afectar selectivamente los componentes inhibitorios o excitatorios. Tampoco está claro si la suplementación exógena de D-serina actúe sobre estos mecanismos inhibitorios con efectos significativos en la conducta, o por otro lado pueda derivar en mecanismos compensatorios de manera similar a lo que ocurre en modelos *knock out* para la enzima SR.

Finalmente, la actividad glutamatérgica mediada por el receptor NMDA se ha asociado con excitotoxicidad (Hansen et al., 2021). Al facilitar la apertura del canal de manera dependiente de concentración, es posible que con la suplementación exógena se puedan alcanzar niveles de D-serina que generen una sobreactividad del receptor, llevando a la acumulación de calcio intracelular que deriven en procesos excitotóxicos. En acuerdo con esta posibilidad, se propuesto un papel de la D-serina en la muerte celular citotóxica mediada por receptor NMDA y en condiciones de isquemia (Katsuki et al., 2007; Mustafa et al., 2010), y se ha involucrado en la patología de la esclerosis lateral amiotrófica (Sasabe et al., 2007).

### ***8.3 Limitaciones y perspectivas futuras***

Debido a la naturaleza heterogénea del proceso del envejecimiento se ha resaltado la importancia de realizar estudios longitudinales en la investigación sobre el envejecimiento para poder seguir diferencias individuales. Estas diferencias individuales también podrían ser significativas en determinar la magnitud e incluso la dirección del efecto de intervenciones farmacológicas. Hemos observado este efecto en trabajos previos de nuestro propio grupo. Al evaluar el efecto de la D-serina en la flexibilidad cognitiva en un estudio transversal reportamos que esta revierte el deterioro asociado al envejecimiento. Sin embargo, al realizar un estudio longitudinal encontramos que este efecto es dependiente del desempeño previo en la tarea de flexibilidad cognitiva, en la que los animales con un buen desempeño en realidad empeoraban tras el tratamiento con D-serina, y los animales con mal desempeño mejoraban. Esto podría explicarse por diferencias individuales en los niveles de D-serina en el envejecimiento, lo que también podría explicar la discrepancia encontrada en este trabajo, en la que observamos efectos a nivel de redes funcionales en animales de mediana edad tratados con D-serina, pero no encontramos efectos en la conducta.

Es posible que debido a la naturaleza heterogénea del envejecimiento, los niveles de D-serina empiecen a disminuir a diferentes edades cronológicas para cada individuo, o incluso en algunos se mantengan sin

cambios a edades avanzadas. En trabajos previos hemos reportado efectos significativos en animales de mediana edad, sin embargo, la mayor magnitud del efecto la encontramos en animales envejecidos. Con base en nuestro planteamiento anterior, es posible que el deterioro asociado al envejecimiento y la disminución en los niveles de D-serina inicien alrededor de los 18 meses de edad, y al evaluar a esta edad la D-serina podría tener efectos diferenciales para cada individuo según su nivel de deterioro que no serían apreciables a nivel de grupo. Sin embargo, a edades más avanzadas los animales habrán alcanzado de manera más consistente cierto grado de deterioro, por lo que la D-serina tendrá un efecto en la misma dirección. Así, este trabajo podría estar limitado por su diseño transversal y por los grupos de edad evaluados. Sin embargo, esto revela la importancia de encontrar marcadores que sean predictores del efecto de la D-serina en el envejecimiento, además de la edad cronológica, de los cuales el más evidente serían los niveles iniciales de D-serina. También sugiere que la edad ideal para evaluar estos marcadores en ratas sería alrededor de los 18 meses de edad, donde la variabilidad en estos marcadores es mayor, derivado de variaciones en el tiempo de aparición de estos cambios y la magnitud del proceso de deterioro.

## 9. Conclusiones

- El envejecimiento disminuye la conducta similar a ansiedad y aumenta la conducta exploratoria
- El envejecimiento produce cambios a nivel de redes neuronales en regiones asociadas con recompensa, procesamiento de información, control cognitivo, y saliencia motora
- El tratamiento con D-serina tiene un efecto dependiente de la edad a nivel de redes funcionales. En animales jóvenes, se afectan redes que incluyen regiones basales, y en animales de mediana edad se afectan redes que incluyen regiones involucradas con mecanismos de control. Ambos cambios

podrían explicar los efectos observados en animales de diferentes edades conductas recompensantes

## 10. Referencias

- Aschenbrenner, A. J., Crawford, J. L., Peelle, J. E., Fagan, A. M., Benzinger, T. L. S., Morris, J. C., Hassenstab, J., & Braver, T. S. (2023). Increased cognitive effort costs in healthy aging and preclinical Alzheimer's disease. *Psychology and Aging*. <https://doi.org/10.1037/pag0000742>
- Bauer, D., Hamacher, K., Bröer, S., Pauleit, D., Palm, C., Zilles, K., Coenen, H. H., & Langen, K.-J. (2005). Preferred stereoselective brain uptake of d-serine — a modulator of glutamatergic neurotransmission. *Nuclear Medicine and Biology*, *32*(8), 793–797. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2005.07.004>
- Beason-Held, L. L., Shafer, A. T., Goh, J. O., Landman, B. A., Davatzikos, C., Viscomi, B., Ash, J., Kitner-Triolo, M., Ferrucci, L., & Resnick, S. M. (2021). Hippocampal activation and connectivity in the aging brain. *Brain Imaging and Behavior*, *15*(2), 711–726. <https://doi.org/10.1007/s11682-020-00279-6>
- Beltrán-Castillo, S., Eugenin, J., & Von Bernhardi, R. (2018). Impact of aging in microglia-mediated D-serine balance in the CNS. In *Mediators of Inflammation* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/7219732>
- Beyer, A. K., Wolff, J. K., Warner, L. M., Schüz, B., & Wurm, S. (2015). The role of physical activity in the relationship between self-perceptions of ageing and self-rated health in older adults. *Psychology and Health*, *30*(6), 671–685. <https://doi.org/10.1080/08870446.2015.1014370>
- Billard, J., & Freret, T. (2018). Asc-1 transporter activation: an alternative to rescue age-related alterations in functional plasticity at rat hippocampal <sc>CA</sc> 3/ <sc>CA</sc> 1 synapses. *Journal of Neurochemistry*, *147*(4), 514–525. <https://doi.org/10.1111/jnc.14586>
- Billard, J. M. (2015). D-Serine in the aging hippocampus. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (Vol. 116, pp. 18–24). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.013>
- Booker, S. A., & Wyllie, D. J. A. (2021). NMDA receptor function in inhibitory neurons. In *Neuropharmacology* (Vol. 196). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108609>
- Botvinick, M. M., Braver, T. S., Barch, D. M., Carter, C. S., & Cohen, J. D. (2001). Conflict monitoring and cognitive control. *Psychological Review*, *108*(3), 624–652. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.108.3.624>
- Botvinick, M. M., Cohen, J. D., & Carter, C. S. (2004). Conflict monitoring and anterior cingulate cortex: an update. *Trends in Cognitive Sciences*, *8*(12), 539–546. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2004.10.003>

- Breda, A. I., & Watts, A. S. (2017). Expectations Regarding Aging, Physical Activity, and Physical Function in Older Adults. *Gerontology and Geriatric Medicine*, 3, 233372141770235. <https://doi.org/10.1177/2333721417702350>
- Brummett, B. H., Babyak, M. A., Grønbaek, M., & Barefoot, J. C. (2011). Positive emotion is associated with 6-year change in functional status in individuals aged 60 and older. *The Journal of Positive Psychology*, 6(3), 216–223. <https://doi.org/10.1080/17439760.2011.570367>
- Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., & Schacter, D. L. (2008). *The Brain's Default Network*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124(1), 1–38. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.011>
- Byrne, K. A., Lockwood, P. L., Ghaiomy Anaraky, R., & Liu, Y. (2022). Age Differences in Prosocial Behavior Depend on Effort Costs. *The Journals of Gerontology: Series B*. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbac194>
- Cabeza, R., Albert, M., Belleville, S., Craik, F. I. M., Duarte, A., Grady, C. L., Lindenberger, U., Nyberg, L., Park, D. C., Reuter-Lorenz, P. A., Rugg, M. D., Steffener, J., & Rajah, M. N. (2018). Maintenance, reserve and compensation: the cognitive neuroscience of healthy ageing. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 19, Issue 11, pp. 701–710). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0068-2>
- Carone, F. A., & Ganote, C. E. (1975). D-serine nephrotoxicity. The nature of proteinuria, glucosuria, and aminoaciduria in acute tubular necrosis. *Archives of Pathology*, 99(12), 658–662.
- Carstensen, L. L. (1992). Social and emotional patterns in adulthood: Support for socioemotional selectivity theory. *Psychology and Aging*, 7(3), 331–338. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.7.3.331>
- Carstensen, L. L., Isaacowitz, D. M., & Charles, S. T. (1999). Taking time seriously: A theory of socioemotional selectivity. *American Psychologist*, 54(3), 165–181. <https://doi.org/10.1037/0003-066X.54.3.165>
- Carstensen, L. L., Turan, B., Scheibe, S., Ram, N., Ersner-Hershfield, H., Samanez-Larkin, G. R., Brooks, K. P., & Nesselroade, J. R. (2011). Emotional experience improves with age: Evidence based on over 10 years of experience sampling. *Psychology and Aging*, 26(1), 21–33. <https://doi.org/10.1037/a0021285>
- Cera, N., Esposito, R., Cieri, F., & Tartaro, A. (2019). Altered Cingulate Cortex Functional Connectivity in Normal Aging and Mild Cognitive Impairment. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00857>
- Cheval, B., & Boisgontier, M. P. (2021). The Theory of Effort Minimization in Physical Activity. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 49(3), 168–178. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000252>
- Chodzko-Zajko, W. J., Proctor, D. N., Fiatarone Singh, M. A., Minson, C. T., Nigg, C. R., Salem, G. J., & Skinner, J. S. (2009). Exercise and physical activity for older adults. In *Medicine and Science in Sports and Exercise* (Vol. 41, Issue 7, pp. 1510–1530). <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181a0c95c>

- Cole, J. H., Marioni, R. E., Harris, S. E., & Deary, I. J. (2019). Brain age and other bodily 'ages': implications for neuropsychiatry. In *Molecular Psychiatry* (Vol. 24, Issue 2, pp. 266–281). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0098-1>
- Corbetta, M., & Shulman, G. L. (2002). Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(3), 201–215. <https://doi.org/10.1038/nrn755>
- Crawford, J. L., English, T., & Braver, T. S. (2023). Cognitive Effort-Based Decision-Making Across Experimental and Daily Life Indices in Younger and Older Adults. *The Journals of Gerontology. Series B, Psychological Sciences and Social Sciences*, 78(1), 40–50. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbac167>
- Croxson, P. L., Walton, M. E., O'Reilly, J. X., Behrens, T. E. J., & Rushworth, M. F. S. (2009). Effort-based Cost-benefit valuation and the human brain. *Journal of Neuroscience*, 29(14), 4531–4541. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4515-08.2009>
- Czeredys, M., Mysiorek, C., Kulikova, N., Samluk, Ł., Berezowski, V., Cecchelli, R., & Nałęcz, K. A. (2008). A polarized localization of amino acid/carnitine transporter BO,+ (ATBO,+) in the blood–brain barrier. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 376(2), 267–270. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.08.122>
- Dallérac, G., Li, X., Lecouflet, P., Morisot, N., Sacchi, S., Asselot, R., Pham, T. H., Potier, B., Watson, D. J. G., Schmidt, S., Levasseur, G., Fossat, P., Besedin, A., Rivet, J.-M., Coyle, J. T., Collo, G., Pollegioni, L., Kehr, J., Galante, M., ... Mothet, J.-P. (2021). Dopaminergic neuromodulation of prefrontal cortex activity requires the NMDA receptor coagonist D-serine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(23), 2023750118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2023750118>
- De Miranda, J., Panizzutti, R., Foltyn, V. N., & Wolosker, H. (2002). Cofactors of serine racemase that physiologically stimulate the synthesis of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor coagonist D-serine. In *PNAS October* (Vol. 29, Issue 22). [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.222421299](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.222421299)
- Deary, I. J., Corley, J., Gow, A. J., Harris, S. E., Houlihan, L. M., Marioni, R. E., Penke, L., Rafnsson, S. B., & Starr, J. M. (2009). Age-associated cognitive decline. In *British Medical Bulletin* (Vol. 92, Issue 1, pp. 135–152). <https://doi.org/10.1093/bmb/ldp033>
- Deco, G., & Rolls, E. T. (2005). Attention, short-term memory, and action selection: A unifying theory. *Progress in Neurobiology*, 76(4), 236–256. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.08.004>
- Del Arco, A., & Mora, F. (2008). Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: In vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. In *Pharmacology Biochemistry and Behavior* (Vol. 90, Issue 2, pp. 226–235). <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.04.011>
- Di Paolo, T. (1994). Modulation of Brain Dopamine Transmission by Sex Steroids. *Reviews in the Neurosciences*, 5(1). <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.1994.5.1.27>
- Dickstein, D. L., Kabaso, D., Rocher, A. B., Luebke, J. I., Wearne, S. L., & Hof, P. R. (2007). Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging Cell*, 6(3), 275–284. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2007.00289.x>

- Dreisbach, G., & Fischer, R. (2015). Conflicts as Aversive Signals for Control Adaptation. *Current Directions in Psychological Science*, 24(4), 255–260. <https://doi.org/10.1177/0963721415569569>
- Dutta, A., & Zisserman, A. (2019). The VIA Annotation Software for Images, Audio and Video. *Proceedings of the 27th ACM International Conference on Multimedia*, 2276–2279. <https://doi.org/10.1145/3343031.3350535>
- Eckstrom, E., Neukam, S., Kalin, L., & Wright, J. (2020). Physical Activity and Healthy Aging. In *Clinics in Geriatric Medicine* (Vol. 36, Issue 4, pp. 671–683). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2020.06.009>
- Exposito, I., Sanz, B., Porras, A., & Mora, F. (1994). Effects of Apomorphine and L-Methionine Sulphoximine on the Release of Excitatory Amino Acid Neurotransmitters and Glutamine in the Striatum of the Conscious Rat. *European Journal of Neuroscience*, 6(2), 287–291. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1994.tb00271.x>
- Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J. L., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age, and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS Medicine*, 10(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001547>
- Fjell, A. M., & Walhovd, K. B. (2010). Structural Brain Changes in Aging: Courses, Causes and Cognitive Consequences. *Reviews in the Neurosciences*, 21(3). <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.2010.21.3.187>
- Foltyn, V. N., Bendikov, I., De Miranda, J., Panizzutti, R., Dumin, E., Shleper, M., Li, P., Toney, M. D., Kartvelishvily, E., & Wolosker, H. (2005). Serine Racemase Modulates Intracellular D-Serine Levels through an  $\alpha,\beta$ -Elimination Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(3), 1754–1763. <https://doi.org/10.1074/jbc.M405726200>
- Fox, M. D., Snyder, A. Z., Vincent, J. L., Corbetta, M., Van Essen, D. C., & Raichle, M. E. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(27), 9673–9678. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504136102>
- Ganote, C. E., Peterson, D. R., & Carone, F. A. (1974). The nature of D-serine--induced nephrotoxicity. *The American Journal of Pathology*, 77(2), 269–282.
- Greicius, M. (2008). Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Current Opinion in Neurology*, 21(4), 424–430. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328306f2c5>
- Gunning-Dixon, F. M., Brickman, A. M., Cheng, J. C., & Alexopoulos, G. S. (2009). Aging of cerebral white matter: a review of MRI findings. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 24(2), 109–117. <https://doi.org/10.1002/gps.2087>
- Gurden, H., Takita, M., R e Se, T., & Jay, M. (2000). *Essential Role of D1 But Not D2 Receptors in the NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation at Hippocampal-Prefrontal Cortex Synapses In Vivo*. <http://www.jneurosci.org/cgi/content/full/4692>
- Hansen, K. B., Wollmuth, L. P., Bowie, D., Furukawa, H., Menniti, F. S., Sobolevsky, A. I., Swanson, G. T., Swanger, S. A., Greger, I. H., Nakagawa, T., McBain, C. J., Jayaraman, V., Low, C. M., Dell'acqua, M. L.,

- Diamond, J. S., Camp, C. R., Perszyk, R. E., Yuan, H., & Traynelis, S. F. (2021). Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 73, Issue 4, pp. 1469–1658). American Society for Pharmacology and Experimental Therapy. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>
- Harada, C. N., Natelson Love, M. C., & Triebel, K. L. (2013). Normal cognitive aging. In *Clinics in Geriatric Medicine* (Vol. 29, Issue 4, pp. 737–752). <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>
- Hardingham, G. E., Fukunaga, Y., & Bading, H. (2002). Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nature Neuroscience*, 5(5), 405–414. <https://doi.org/10.1038/nn835>
- Harman, D. (2006). Aging: Overview. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb05631.x>
- Hasegawa, H., Masuda, N., Natori, H., Shinohara, Y., & Ichida, K. (2019). Pharmacokinetics and toxicokinetics of D-serine in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 162, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.026>
- Hashimoto, A., Nishikawa, T., Konno, R., Niwa, A., Yasumura, Y., Oka, T., & Takahashi, K. (1993). Free d-serine, d-aspartate and d-alanine in central nervous system and serum in mutant mice lacking d-amino acid oxidase. *Neuroscience Letters*, 152(1–2), 33–36. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90476-2](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90476-2)
- Hashimoto, A., Nishikawa, T., Oka, T., & Takahashi, K. (1993). *Endogenous D-Serine in Rat Brain: N-Methyl-D-Aspartate Receptor-Related Distribution and Aging*.
- Hatanaka, T., Huang, W., Nakanishi, T., Bridges, C. C., Ganapathy, V., Smith, S. B., Prasad, P. D., & Ganapathy, M. E. (2002). Transport of D-serine via the amino acid transporter ATB0,+ expressed in the colon. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291(2), 291–295. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6441>
- Hernández, L. F., Segovia, G., & Mora, F. (2003). *Effects of Activation of NMDA and AMPA Glutamate Receptors on the Extracellular Concentrations of Dopamine, Acetylcholine, and GABA in Striatum of the Awake Rat: A Microdialysis Study*.
- Herrera-Pérez, J. J., Martínez-Mota, L., & Fernández-Guasti, A. (2008). Aging increases the susceptibility to develop anhedonia in male rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(8), 1798–1803. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.07.020>
- Hertzog, C., Kramer, A. F., Wilson, R. S., & Lindenberger, U. (2008). Enrichment Effects on Adult Cognitive Development. *Psychological Science in the Public Interest*, 9(1), 1–65. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6053.2009.01034.x>
- Hess, T. M., & Ennis, G. E. (2012). Age Differences in the Effort and Costs Associated With Cognitive Activity. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 67(4), 447–455. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbr129>
- Hess, T. M., Germain, C. M., Swaim, E. L., & Osowski, N. L. (2009). Aging and selective engagement: The moderating impact of motivation on older adults' resource utilization. *Journals of Gerontology -*

*Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, 64(4), 447–456.  
<https://doi.org/10.1093/geronb/gbp020>

- Hess, T. M., Growney, C. M., O'Brien, E. L., Neupert, S. D., & Sherwood, A. (2018). The role of cognitive costs, attitudes about aging, and intrinsic motivation in predicting engagement in everyday activities. *Psychology and Aging*, 33(6), 953–964. <https://doi.org/10.1037/pag0000289>
- Hicks, S. A., & Siedlecki, K. L. (2017). Leisure activity engagement and positive affect partially mediate the relationship between positive views on aging and physical health. *Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, 72(2), 259–267.  
<https://doi.org/10.1093/geronb/gbw049>
- Holly, K. S., Orndorff, C. O., & Murray, T. A. (2016). MATSAP: An automated analysis of stretch-attend posture in rodent behavioral experiments. *Scientific Reports*, 6(1), 31286.  
<https://doi.org/10.1038/srep31286>
- Horio, M., Kohno, M., Fujita, Y., Ishima, T., Inoue, R., Mori, H., & Hashimoto, K. (2011). Levels of d-serine in the brain and peripheral organs of serine racemase (Srr) knock-out mice. *Neurochemistry International*, 59(6), 853–859. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.08.017>
- Hsu, L.-M., Liang, X., Gu, H., Brynildsen, J. K., Stark, J. A., Ash, J. A., Lin, C.-P., Lu, H., Rapp, P. R., Stein, E. A., & Yang, Y. (2016). Constituents and functional implications of the rat default mode network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(31).  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1601485113>
- Huang, Y.-Y., Simpson, E., Kellendonk, C., & Kandel, E. R. (2004). Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors. In *PNAS March* (Vol. 2, Issue 9). [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0308280101](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0308280101)
- Hultsch, D. F., Hertzog, C., Small, B. J., & Dixon, R. A. (1999). Use it or lose it: Engaged lifestyle as a buffer of cognitive decline in aging? *Psychology and Aging*, 14(2), 245–263. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.14.2.245>
- Jami, S. A., Cameron, S., Wong, J. M., Daly, E. R., McAllister, A. K., & Gray, J. A. (2021). Increased excitation-inhibition balance and loss of gabaergic synapses in the serine racemase knockout model of nmda receptor hypofunction. *Journal of Neurophysiology*, 126(1), 11–27.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00661.2020>
- Jobson, D. D., Hase, Y., Clarkson, A. N., & Kalaria, R. N. (2021). The role of the medial prefrontal cortex in cognition, ageing and dementia. *Brain Communications*, 3(3).  
<https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab125>
- Kalivas, P. W., & Duffy, P. (1997). Dopamine regulation of extracellular glutamate in the nucleus accumbens. In *Brain Research* (Vol. 761).
- Kantrowitz, J. T., Malhotra, A. K., Cornblatt, B., Silipo, G., Balla, A., Suckow, R. F., D'Souza, C., Saks, J., Woods, S. W., & Javitt, D. C. (2010). High dose D-serine in the treatment of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 121(1–3), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2010.05.012>

- Kasai, Y., Tachikawa, M., Hirose, S., Akanuma, S., & Hosoya, K. (2011). Transport systems of serine at the brain barriers and in brain parenchymal cells. *Journal of Neurochemistry*, *118*(2), 304–313. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07313.x>
- Katsuki, H., Watanabe, Y., Fujimoto, S., Kume, T., & Akaike, A. (2007). Contribution of endogenous glycine and d-serine to excitotoxic and ischemic cell death in rat cerebrocortical slice cultures. *Life Sciences*, *81*(9), 740–749. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.07.001>
- Kerns, J. G., Cohen, J. D., MacDonald, A. W., Cho, R. Y., Stenger, V. A., & Carter, C. S. (2004). Anterior Cingulate Conflict Monitoring and Adjustments in Control. *Science*, *303*(5660), 1023–1026. <https://doi.org/10.1126/science.1089910>
- Koechlin, E., Basso, G., Pietrini, P., Panzer, S., & Grafman, J. (1999). The role of the anterior prefrontal cortex in human cognition. *Nature*, *399*(6732), 148–151. <https://doi.org/10.1038/20178>
- Koechlin, E., & Hyafil, A. (2007). Anterior Prefrontal Function and the Limits of Human Decision-Making. *Science*, *318*(5850), 594–598. <https://doi.org/10.1126/science.1142995>
- Kotecha, S. A., Oak, J. N., Jackson, M. F., Perez, Y., Orser, B. A., Van Tol, H. H. M., & MacDonald, J. F. (2002). A D2 Class Dopamine Receptor Transactivates a Receptor Tyrosine Kinase to Inhibit NMDA Receptor Transmission. *Neuron*, *35*(6), 1111–1122. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00859-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00859-0)
- Kumar, A. (2015). NMDA receptor function during senescence: Implication on cognitive performance. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 9, Issue DEC). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00473>
- Kurzban, R. (2016). The sense of effort. In *Current Opinion in Psychology* (Vol. 7, pp. 67–70). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2015.08.003>
- Lampe, I. K., Kahn, R. S., & Heeren, T. J. (2001). Apathy, Anhedonia, and Psychomotor Retardation in Elderly Psychiatric Patients and Healthy Elderly Individuals. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, *14*(1), 11–16. <https://doi.org/10.1177/089198870101400104>
- Lang, F. R., & Carstensen, L. L. (1994). Close emotional relationships in late life: Further support for proactive aging in the social domain. *Psychology and Aging*, *9*(2), 315–324. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.9.2.315>
- Lauer, J., Zhou, M., Ye, S., Menegas, W., Schneider, S., Nath, T., Rahman, M. M., Di Santo, V., Soberanes, D., Feng, G., Murthy, V. N., Lauder, G., Dulac, C., Mathis, M. W., & Mathis, A. (2022). Multi-animal pose estimation, identification and tracking with DeepLabCut. *Nature Methods*, *19*(4), 496–504. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01443-0>
- Le Bail, M., Martineau, M., Sacchi, S., Yatsenko, N., Radzishevsky, I., Conrod, S., Ouares, K. A., Wolosker, H., Pollegioni, L., Billard, J. M., Mothet, J. P., & Snyder, S. H. (2015). Identity of the NMDA receptor coagonist is synapse specific and developmentally regulated in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(2), E204–E213. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416668112>

- Lecouflet, P., Maldera, S., Potier, B., Pollegioni, L., & Mothet, J.-P. (2022). *Excitatory drive of cortical fast-spiking GABAergic interneurons is set by D-serine acting on NMDA receptors*. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1323674/v1>
- Liu, X. B., Murray, K. D., & Jones, E. G. (2004). Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development. *Journal of Neuroscience*, *24*(40), 8885–8895. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2476-04.2004>
- Lockwood, P. L., Abdurahman, A., Gabay, A. S., Drew, D., Tamm, M., Husain, M., & Apps, M. A. J. (2021). Aging Increases Prosocial Motivation for Effort. *Psychological Science*, *32*(5), 668–681. <https://doi.org/10.1177/0956797620975781>
- Logothetis, N. K. (2008). What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, *453*(7197), 869–878. <https://doi.org/10.1038/nature06976>
- Lorbach, M., Kyriakou, E. I., Poppe, R., van Dam, E. A., Noldus, L. P. J. J., & Veltkamp, R. C. (2018). Learning to recognize rat social behavior: Novel dataset and cross-dataset application. *Journal of Neuroscience Methods*, *300*, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.05.006>
- Lu, H., Zou, Q., Gu, H., Raichle, M. E., Stein, E. A., & Yang, Y. (2012). Rat brains also have a default mode network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(10), 3979–3984. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200506109>
- Lukaschek, K., Vanajan, A., Johar, H., Weiland, N., & Ladwig, K. H. (2017). “In the mood for ageing”: Determinants of subjective well-being in older men and women of the population-based KORA-Age study. *BMC Geriatrics*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/s12877-017-0513-5>
- Madden, D. J., Spaniol, J., Costello, M. C., Bucur, B., White, L. E., Cabeza, R., Davis, S. W., Dennis, N. A., Provenzale, J. M., & Huettel, S. A. (2008). Cerebral White Matter Integrity Mediates Adult Age Differences in Cognitive Performance. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *21*(2), 289–302. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21047>
- Magnusson, K. R., Brim, B. L., & Das, S. R. (2010). Selective vulnerabilities of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors during brain aging. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 2, Issue MAR). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00011>
- Maguire, E. A. (2003). Aging affects the engagement of the hippocampus during autobiographical memory retrieval. *Brain*, *126*(7), 1511–1523. <https://doi.org/10.1093/brain/awg157>
- Maldonado, T., Orr, J. M., Goen, J. R. M., & Bernard, J. A. (2020). Age differences in the subcomponents of executive functioning. *Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, *75*(6), e31–e55. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbaa005>
- Martinelli, P., Sperduti, M., Devauchelle, A.-D., Kalenzaga, S., Gallarda, T., Lion, S., Delhommeau, M., Anssens, A., Amado, I., Meder, J. F., Krebs, M.-O., Oppenheim, C., & Piolino, P. (2013). Age-Related Changes in the Functional Network Underlying Specific and General Autobiographical Memory Retrieval: A Pivotal Role for the Anterior Cingulate Cortex. *PLoS ONE*, *8*(12), e82385. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082385>

- Mather, M., & Carstensen, L. L. (2005). Aging and motivated cognition: the positivity effect in attention and memory. *Trends in Cognitive Sciences*, *9*(10), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.08.005>
- Matsui, T. -a, Sekiguchi, M., Hashimoto, A., Tomita, U., Nishikawa, T., & Wada, K. (1995). Functional Comparison of d-Serine and Glycine in Rodents: The Effect on Cloned NMDA Receptors and the Extracellular Concentration. *Journal of Neurochemistry*, *65*(1), 454–458. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.65010454.x>
- McKee, K. J., & Schüz, B. (2015). Psychosocial factors in healthy ageing. *Psychology & Health*, *30*(6), 607–626. <https://doi.org/10.1080/08870446.2015.1026905>
- Meyza, K. Z., Boguszewski, P. M., Nikolaev, E., & Zagrodzka, J. (2011). Age increases anxiety and reactivity of the fear/anxiety circuit in Lewis rats. *Behavioural Brain Research*, *225*(1), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.011>
- Michely, J., Volz, L. J., Hoffstaedter, F., Tittgemeyer, M., Eickhoff, S. B., Fink, G. R., & Grefkes, C. (2018). Network connectivity of motor control in the ageing brain. *NeuroImage: Clinical*, *18*, 443–455. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.02.001>
- Montesinos Guevara, C., & Mani, A. R. (2016). The role of D-serine in peripheral tissues. *European Journal of Pharmacology*, *780*, 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.054>
- Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. (1994). Developmental and Regional Expression in the Rat Brain and Functional Properties of Four NMDA Receptors. In *Neuron* (Vol. 12).
- Monyer, H., Sprengel, R., Schoepfer, R., Herb, A., Higuchi, M., Lomeli, H., Burnashev, N., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. (1992). Heteromeric NMDA Receptors: Molecular and Functional Distinction of Subtypes. *Science*, *256*(5060), 1217–1221. <https://doi.org/10.1126/science.256.5060.1217>
- Moon, H. S., Jiang, H., Vo, T. T., Jung, W. B., Vazquez, A. L., & Kim, S.-G. (2021). Contribution of Excitatory and Inhibitory Neuronal Activity to BOLD fMRI. *Cerebral Cortex*, *31*(9), 4053–4067. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab068>
- Mora, F., Segovia, G., & del Arco, A. (2007). Aging, plasticity and environmental enrichment: Structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Research Reviews*, *55*(1), 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.03.011>
- Mothet, J. P., Rouaud, E., Sinet, P. M., Potier, B., Jouvenceau, A., Dutar, P., Videau, C., Epelbaum, J., & Billard, J. M. (2006). A critical role for the glial-derived neuromodulator D-serine in the age-related deficits of cellular mechanisms of learning and memory. *Ageing Cell*, *5*(3), 267–274. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00216.x>
- Mothet, J.-P., le Parent, A. T., Wolosker, H., Brady, R. O., Linden, D. J., Ferris, C. D., Rogawski, M. A., & Snyder, S. H. (2000). *D-Serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor*. [www.pnas.org](http://www.pnas.org)
- Mustafa, A. K., Ahmad, A. S., Zeynalov, E., Gazi, S. K., Sikka, G., Ehmsen, J. T., Barrow, R. K., Coyle, J. T., Snyder, S. H., & Doré, S. (2010). Serine Racemase Deletion Protects Against Cerebral Ischemia and

- Excitotoxicity. *The Journal of Neuroscience*, 30(4), 1413–1416.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4297-09.2010>
- Nagata, Y. (1992). Involvement of D-amino acid oxidase in elimination of D-serine in mouse brain. *Experientia*, 48(8), 753–755. <https://doi.org/10.1007/BF02124295>
- Nava-Gómez, L., Calero-Vargas, I., Higinio-Rodríguez, F., Vázquez-Prieto, B., Olivares-Moreno, R., Ortiz-Retana, J., Aranda, P., Hernández-Chan, N., Rojas-Piloni, G., Alcauter, S., & López-Hidalgo, M. (2022). Aging-Associated Cognitive Decline is Reversed by D-Serine Supplementation. *Eneuro*, 9(3), ENEURO.0176-22.2022. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0176-22.2022>
- NEWMAN, S. W. (1999). The Medial Extended Amygdala in Male Reproductive Behavior A Node in the Mammalian Social Behavior Network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877(1), 242–257. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09271.x>
- Ng, Y. T., Huo, M., Gleason, M. E., Neff, L. A., Charles, S. T., & Fingerma, K. L. (2021). Friendships in Old Age: Daily Encounters and Emotional Well-Being. *The Journals of Gerontology: Series B*, 76(3), 551–562. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbaa007>
- Nishikawa, T. (2011). Analysis of free d-serine in mammals and its biological relevance. *Journal of Chromatography B*, 879(29), 3169–3183. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.08.030>
- Novak, C. M., Burghardt, P. R., & Levine, J. A. (2012). The use of a running wheel to measure activity in rodents: Relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(3), 1001–1014. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.12.012>
- O'Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2011). The Vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: A comparative synthesis. *Journal of Comparative Neurology*, 519(18), 3599–3639. <https://doi.org/10.1002/cne.22735>
- O'Sullivan, M., Summers, P. E., Jones, D. K., Jarosz, J. M., Williams, S. C. R., & Markus, H. S. (2001). Normal-appearing white matter in ischemic leukoaraiosis: A diffusion tensor MRI study. *Neurology*, 57(12), 2307–2310. <https://doi.org/10.1212/WNL.57.12.2307>
- Otani, S., Blond, O., Desce, J.-M., & Cre, F. (1998). *DOPAMINE FACILITATES LONG-TERM DEPRESSION OF GLUTAMATERGIC TRANSMISSION IN RAT PREFRONTAL CORTEX.*
- Papouin, T., Ladépêche, L., Ruel, J., Sacchi, S., Labasque, M., Hanini, M., Groc, L., Pollegioni, L., Mothet, J. P., & Oliet, S. H. R. (2012). Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors are gated by different endogenous coagonists. *Cell*, 150(3), 633–646. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.029>
- Papp, E. A., Leergaard, T. B., Calabrese, E., Johnson, G. A., & Bjaalie, J. G. (2014). Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain. *NeuroImage*, 97, 374–386. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.04.001>
- Pardo, J. V., Lee, J. T., Sheikh, S. A., Surerus-Johnson, C., Shah, H., Munch, K. R., Carlis, J. V., Lewis, S. M., Kuskowski, M. A., & Dysken, M. W. (2007). Where the brain grows old: Decline in anterior cingulate and medial prefrontal function with normal aging. *NeuroImage*, 35(3), 1231–1237. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.044>

- Pardo, J. V, Nyabwari, S. M., & Lee, J. T. (2020). Aging-Related Hypometabolism in the Anterior Cingulate Cortex of Cognitively Intact, Amyloid-Negative Seniors at Rest Mediates the Relationship between Age and Executive Function but Not Memory. *Cerebral Cortex Communications*, 1(1). <https://doi.org/10.1093/texcom/tgaa020>
- Park, D. C., & Reuter-Lorenz, P. (2009). The Adaptive Brain: Aging and Neurocognitive Scaffolding. *Annual Review of Psychology*, 60(1), 173–196. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.59.103006.093656>
- Pernot, P., Maucler, C., Tholance, Y., Vasylieva, N., Debilly, G., Pollegioni, L., Cespuoglio, R., & Marinesco, S. (2012). d-Serine diffusion through the blood–brain barrier: Effect on d-serine compartmentalization and storage. *Neurochemistry International*, 60(8), 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.03.008>
- Ploux, E., Bouet, V., Radzishevsky, I., Wolosker, H., Freret, T., & Billard, J. M. (2020). Serine racemase deletion affects the excitatory/inhibitory balance of the hippocampal CA1 network. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms21249447>
- Potier, B., Turpin, F. R., Sinet, P. M., Rouaud, E., Mothet, J. P., Videau, C., Epelbaum, J., Dutar, P., & Billard, J. M. (2010). Contribution of the D-Serine-dependent pathway to the cellular mechanisms underlying cognitive aging. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 2, Issue FEB). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/neuro.24.001.2010>
- Puhl, M. D., Mintzopoulos, D., Jensen, J. E., Gillis, T. E., Konopaske, G. T., Kaufman, M. J., & Coyle, J. T. (2015). In vivo magnetic resonance studies reveal neuroanatomical and neurochemical abnormalities in the serine racemase knockout mouse model of schizophrenia. *Neurobiology of Disease*, 73, 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.10.009>
- Queen, T. L., & Hess, T. M. (2018). Linkages between resources, motivation, and engagement in everyday activities. *Motivation Science*, 4(1), 26–38. <https://doi.org/10.1037/mot0000061>
- Rai, R., Jongenelis, M. I., Jackson, B., Newton, R. U., & Pettigrew, S. (2020). Factors influencing physical activity participation among older people with low activity levels. *Ageing and Society*, 40(12), 2593–2613. <https://doi.org/10.1017/S0144686X1900076X>
- Raichle, M. E., & Mintun, M. A. (2006). BRAIN WORK AND BRAIN IMAGING. *Annual Review of Neuroscience*, 29(1), 449–476. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112819>
- Rais, R., Thomas, A. G., Wozniak, K., Wu, Y., Jaaro-Peled, H., Sawa, A., Strick, C. A., Engle, S. J., Brandon, N. J., Rojas, C., Slusher, B. S., & Tsukamoto, T. (2012). Pharmacokinetics of oral D-serine in D-amino acid oxidase knockout mice. *Drug Metabolism and Disposition*, 40(11), 2067–2073. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.046482>
- Ramnani, N., & Owen, A. M. (2004). Anterior prefrontal cortex: insights into function from anatomy and neuroimaging. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(3), 184–194. <https://doi.org/10.1038/nrn1343>
- Rivera-Villaseñor, A., Higinio-Rodríguez, F., Nava-Gómez, L., Vázquez-Prieto, B., Calero-Vargas, I., Olivares-Moreno, R., & López-Hidalgo, M. (2021). NMDA Receptor Hypofunction in the Aging-Associated Malfunction of Peripheral Tissue. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.687121>

- Rolls, E. T. (2019). The cingulate cortex and limbic systems for emotion, action, and memory. *Brain Structure and Function*, 224(9), 3001–3018. <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01945-2>
- Roux, L., & Buzsáki, G. (2015). Tasks for inhibitory interneurons in intact brain circuits. *Neuropharmacology*, 88, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.09.011>
- Rozycka, A., & Liguz-Leczmar, M. (2017). The space where aging acts: focus on the <sc>GABA</sc>ergic synapse. *Aging Cell*, 16(4), 634–643. <https://doi.org/10.1111/acer.12605>
- Sacchi, S. (2013). D-Serine metabolism: New insights into the modulation of d-amino acid oxidase activity. *Biochemical Society Transactions*, 41(6), 1551–1556. <https://doi.org/10.1042/BST20130184>
- Salat, D. H., Kaye, J. A., & Janowsky, J. S. (1999). Prefrontal Gray and White Matter Volumes in Healthy Aging and Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 56(3), 338. <https://doi.org/10.1001/archneur.56.3.338>
- Salthouse, T. A. (2010). Selective review of cognitive aging. In *Journal of the International Neuropsychological Society* (Vol. 16, Issue 5, pp. 754–760). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S1355617710000706>
- Salthouse, T. A. (2019). Trajectories of normal cognitive aging. *Psychology and Aging*, 34(1), 17–24. <https://doi.org/10.1037/pag0000288>
- Sánchez, M. G., Bourque, M., Morissette, M., & Di Paolo, T. (2010). Steroids-Dopamine Interactions in the Pathophysiology and Treatment of CNS Disorders. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(3), e43–e71. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00163.x>
- Sarkisian, C. A., Prohaska, T. R., Wong, M. D., Hirsch, S., & Mangione, C. M. (2005). The relationship between expectations for aging and physical activity among older adults. In *Journal of General Internal Medicine* (Vol. 20, Issue 10, pp. 911–915). <https://doi.org/10.1111/j.1525-1497.2005.0204.x>
- Sasabe, J., Chiba, T., Yamada, M., Okamoto, K., Nishimoto, I., Matsuoka, M., & Aiso, S. (2007). D-Serine is a key determinant of glutamate toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *The EMBO Journal*, 26(18), 4149–4159. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601840>
- Sasabe, J., Miyoshi, Y., Suzuki, M., Mita, M., Konno, R., Matsuoka, M., Hamase, K., & Aiso, S. (2012). <sc>d</sc>-Amino acid oxidase controls motoneuron degeneration through <sc>d</sc>-serine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(2), 627–632. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114639109>
- Schell, M. J. (2004). The N-methyl D-aspartate receptor glycine site and D-serine metabolism: an evolutionary perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1446), 943–964. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1399>
- Schell, M. J., Brady, R. O., Molliver, M. E., & Snyder, S. H. (1997). D-Serine as a Neuromodulator: Regional and Developmental Localizations in Rat Brain Glia Resemble NMDA Receptors.

- Segovia, G., & Mora, F. (2001). *Involvement of NMDA and AMPA/kainate receptors in the effects of endogenous glutamate on extracellular concentrations of dopamine and GABA in the nucleus accumbens of the awake rat.*
- Segovia, G., & Mora, F. (2005). Effects of the metabotropic glutamate receptor agonist, ACPD, on the extracellular concentrations of GABA and acetylcholine in the prefrontal cortex of the rat during the normal process of aging. *Brain Research Bulletin*, *65*(1), 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2004.10.010>
- Smith, S. M., Uslaner, J. M., Yao, L., Mullins, C. M., Surles, N. O., Huszar, S. L., McNaughton, C. H., Pascarella, D. M., Kandebo, M., Hinchliffe, R. M., Sparey, T., Brandon, N. J., Jones, B., Venkatraman, S., Young, M. B., Sachs, N., Jacobson, M. A., & Hutson, P. H. (2009). The Behavioral and Neurochemical Effects of a Novel d-Amino Acid Oxidase Inhibitor Compound 8 [4 H -Thieno [3,2- b ]pyrrole-5-carboxylic Acid] and d-Serine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *328*(3), 921–930. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.147884>
- Smolinsky, A. N., Bergner, C. L., LaPorte, J. L., & Kalueff, A. V. (2009). Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. In *Neuromethods* (Vol. 42, pp. 21–36). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_2)
- Spaniol, J., Schain, C., & Bowen, H. J. (2014). Reward-Enhanced Memory in Younger and Older Adults. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, *69*(5), 730–740. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbt044>
- Steptoe, A., Deaton, A., & Stone, A. A. (2015). Subjective wellbeing, health, and ageing. In *The Lancet* (Vol. 385, Issue 9968, pp. 640–648). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61489-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61489-0)
- Sturman, O., von Ziegler, L., Schläppi, C., Akyol, F., Privitera, M., Slominski, D., Grimm, C., Thieren, L., Zerbi, V., Grewe, B., & Bohacek, J. (2020). Deep learning-based behavioral analysis reaches human accuracy and is capable of outperforming commercial solutions. *Neuropsychopharmacology*, *45*(11), 1942–1952. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0776-y>
- Suzuki, M., Imanishi, N., Mita, M., Hamase, K., Aiso, S., & Sasabe, J. (2017). Heterogeneity of D-serine distribution in the human central nervous system. *ASN Neuro*, *9*(3). <https://doi.org/10.1177/1759091417713905>
- Swanson, O. K., & Maffei, A. (2019). From Hiring to Firing: Activation of Inhibitory Neurons and Their Recruitment in Behavior. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00168>
- Swirsky, L. T., & Spaniol, J. (2019). Cognitive and motivational selectivity in healthy aging. In *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science* (Vol. 10, Issue 6). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/wcs.1512>
- Sze, J. A., Gyurak, A., Goodkind, M. S., & Levenson, R. W. (2012). Greater emotional empathy and prosocial behavior in late life. *Emotion*, *12*(5), 1129–1140. <https://doi.org/10.1037/a0025011>

- Takada, M. (2016). [Neuroanatomy of Frontal Association Cortex]. *Brain and Nerve = Shinkei Kenkyu No Shinpo*, 68(11), 1253–1261. <https://doi.org/10.11477/mf.1416200588>
- Toh, W. X., Yang, H., & Hartanto, A. (2020). Executive function and subjective well-being in middle and late adulthood. *Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, 75(6), e69–e77. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbz006>
- Torras-Garcia, M., Costa-Miserachs, D., Coll-Andreu, M., & Portell-Cortés, I. (2005). Decreased anxiety levels related to aging. *Experimental Brain Research*, 164(2), 177–184. <https://doi.org/10.1007/s00221-005-2240-y>
- Trask, S., & Fournier, D. I. (2022). Examining a role for the retrosplenial cortex in age-related memory impairment. *Neurobiology of Learning and Memory*, 189, 107601. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2022.107601>
- Turpin, F. R., Potier, B., Dulong, J. R., Sinet, P. M., Alliot, J., Oliet, S. H. R., Dutar, P., Epelbaum, J., Mothet, J. P., & Billard, J. M. (2011). Reduced serine racemase expression contributes to age-related deficits in hippocampal cognitive function. *Neurobiology of Aging*, 32(8), 1495–1504. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.09.001>
- Valdés-Hernández, P. A., Sumiyoshi, A., Nonaka, H., Haga, R., Aubert-Vásquez, E., Ogawa, T., Iturria-Medina, Y., Riera, J. J., & Kawashima, R. (2011). An in vivo MRI Template Set for Morphometry, Tissue Segmentation, and fMRI Localization in Rats. *Frontiers in Neuroinformatics*, 5, 26. <https://doi.org/10.3389/fninf.2011.00026>
- van den Heuvel, M. P., & Hulshoff Pol, H. E. (2010). Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20(8), 519–534. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.03.008>
- Vanhoutte, P., & Bading, H. (2003). Opposing roles of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in neuronal calcium signalling and BDNF gene regulation. In *Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 13, Issue 3, pp. 366–371). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(03\)00073-4](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(03)00073-4)
- Veríssimo, J., Verhaeghen, P., Goldman, N., Weinstein, M., & Ullman, M. T. (2022). Evidence that ageing yields improvements as well as declines across attention and executive functions. *Nature Human Behaviour*, 6(1), 97–110. <https://doi.org/10.1038/s41562-021-01169-7>
- Vincent, J. L., Kahn, I., Snyder, A. Z., Raichle, M. E., & Buckner, R. L. (2008). Evidence for a Frontoparietal Control System Revealed by Intrinsic Functional Connectivity. *Journal of Neurophysiology*, 100(6), 3328–3342. <https://doi.org/10.1152/jn.90355.2008>
- Wang, G., Ding, L., Gao, C., Zhang, N., Gan, D., Sun, Y., Xu, L., Luo, Q., & Jiang, Z. (2019). Neuroprotective effect of l-serine against white matter demyelination by harnessing and modulating inflammation in mice. *Neuropharmacology*, 146, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.025>
- West, R. L., Bagwell, D. K., & Dark-Freudeman, A. (2008). Self-efficacy and memory aging: The impact of a memory intervention based on self-efficacy. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, 15(3), 302–329. <https://doi.org/10.1080/13825580701440510>

- WICKENS, J. R., BUDD, C. S., HYLAND, B. I., & ARBUTHNOTT, G. W. (2007). Striatal Contributions to Reward and Decision Making. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1104*(1), 192–212. <https://doi.org/10.1196/annals.1390.016>
- Williams, R. E., Jacobsen, M., & Lock, E. A. (2003). <sup>1</sup>H NMR Pattern Recognition and <sup>31</sup>P NMR Studies with D-Serine in Rat Urine and Kidney, Time- and Dose-Related Metabolic Effects. *Chemical Research in Toxicology*, *16*(10), 1207–1216. <https://doi.org/10.1021/tx030019q>
- Wolosker, H., Blackshaw, S., Snyder, S. H., Mothet, J. P., Parent, A. T., Brady, R. O., Linden, D. J., Ferris, C. D., & Rogawski, M. A. (1999). *Serine racemase: A glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission*. [www.pnas.org](http://www.pnas.org)
- Wong, J. M., Folorunso, O. O., Barragan, E. V., Berciu, C., Harvey, T. L., Coyle, J. T., Balu, D. T., & Gray, J. A. (2020). Postsynaptic Serine Racemase Regulates NMDA Receptor Function. *The Journal of Neuroscience*, *40*(50), 9564–9575. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1525-20.2020>
- Yang, S., Qiao, H., Wen, L., Zhou, W., & Zhang, Y. (2005). d-Serine enhances impaired long-term potentiation in CA1 subfield of hippocampal slices from aged senescence-accelerated mouse prone/8. *Neuroscience Letters*, *379*(1), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.12.033>
- Yovanno, R. A., Chou, T. H., Brantley, S. J., Furukawa, H., & Lau, A. Y. (2022). Excitatory and inhibitory D-serine binding to the NMDA receptor. *ELife*, *11*. <https://doi.org/10.7554/eLife.77645>
- Zalesky, A., Fornito, A., & Bullmore, E. T. (2010). Network-based statistic: Identifying differences in brain networks. *NeuroImage*, *53*(4), 1197–1207. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.041>
- Zhang, Z., Gong, N., Wang, W., Xu, L., & Xu, T. Le. (2008). Bell-shaped d-serine actions on hippocampal long-term depression and spatial memory retrieval. *Cerebral Cortex*, *18*(10), 2391–2401. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn008>