



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



TESI DOCTORAL

Potenciació de l'aprenentatge i la memòria amb agonistes del glutamat en models animals de dèficits cognitius

Joan Visa Bombardo

Tesi doctoral co-dirigida per:

Dra. Gemma Guillazo Blanch

Dra. Anna Vale Martinez

Departament de Psicobiologia i metodologia de les Ciències de la salut

Institut de Neurociències

Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra, 2019



TESI DOCTORAL

**Potenciació de l'aprenentatge i la memòria amb
agonistes del glutamat en models animals de dèficits
cognitius**

Joan Visa Bombardo

**Departament de Psicobiologia i metodologia de les Ciències de la salut
Institut de Neurociències
Universitat Autònoma de Barcelona**

Bellaterra, 2019

La realització d'aquest treball ha sigut possible gràcies a:

- Un projecte I+D (PSI2014-52660-R) del Ministerio de Economía y Competividad
- Un projecte I+D (PSI2017-84290-R) del Ministerio de Economía, industria y competitividad

Índex

ABREVIATURES	9
I. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS.....	13
Plantejament.....	14
Hipòtesi i Objectius	19
II. MARC TEÒRIC I ANTECEDENTS EXPERIMENTALS.....	21
2 CÒRTEX PREFRONTAL I FUNCIONS COGNITIVES	28
2.1 CITOARQUITECTURA	30
2.2 CONNECTIVITAT	32
2.3 FUNCIONS	34
3 SISTEMA GLUTAMATÈRGIC I FUNCIONS COGNITIVES.....	36
3.1 EL GLUTAMAT	36
3.2 ELS RECEPTORS DEL GLUTAMAT	38
3.3 MODULACIÓ DELS RECEPTORS NMDA: LA D-CICLOSERINA.....	41
3.4 MODULACIÓ DELS RECEPTORS AMPA: el compost S-18986.....	50
4 GLUTAMAT I NUCLI PARAFASCICULAR	53
4.1 CITOARQUITECTURA	55
4.2 CONNECTIVITAT	56
4.3 FUNCIONS	58
5 MODELS CONDUCTUALS DE MEMÒRIA OLFACTÒRIA, MEMÒRIA DE TREBALL I FLEXIBILITAT COGNITIVA	60
5.1 DISCRIMINACIÓ SIMPLE D'OLORS.....	60
5.2 TRANSMISSIÓ SOCIAL DE PREFERÈNCIA ALIMENTÀRIA.....	62
5.3 DELAYED MATCHING TO POSITION	65
5.4 LABERINT Y-MAZE	69
5.5 TASCA DE RESPOSTES ALTERNES.....	70
6 MODELS ANIMALS FARMACOLÒGICS DE DÈFICIT COGNITIU.....	71
6.1 BLOQUEIG DE LA TRANSMISSIÓ COLINÈRGICA	71
6.2 POTENCIACIÓ DE L'ACTIVITAT GABAÈRGICA	75
III. TREBALL EXPERIMENTAL	80
III.I Ètica i benestar animal	81
III.II Subjectes	81
Experiment 1: Efectes de l'administració d'S18986 i escopolamina al CPL en les tasques DSO i TSPA.....	82
1.1 MATERIALS I MÈTODES	83
1.1.3.1 Habitució i privació:.....	87
1.1.3.2 Adquisició i test de la tasca DSO	88
1.1.4.1 Habitució i privació	90
1.1.4.2 Adquisició de la Transmissió social de preferència alimentària (TSPA)....	91

1.1.4.2 Test a les 24h i 48h de la TSPA.....	92
1.2 RESULTATS.....	96
1.2.2.1 Discriminació Simple Olfactòria.....	102
1.2.2.2 Transmissió Social de Preferències Alimentàries.....	104
1.2.2.3 Test de percepció olfactiva.....	107
1.2.2.4 Prova de Camp obert.....	108
EXPERIMENT 2: Efectes de l'administració de muscimol al PFn i d'S18986 al CPL en les tasques DSO i TSPA	109
2.1 MATERIALS I MÈTODES.....	109
2.2 RESULTATS.....	111
EXPERIMENT 3: Efectes de l'administració de DCS a l'escorça prefrontal sobre la memòria de treball en animals envellits i joves.....	124
3.1 Prova Pilot	126
3.1.1.1 Subjectes.....	126
3.1.1.2 Gàbies de Condicionament.....	126
3.1.1.3 Habitució.....	127
3.1.1.4 Adquisició de la resposta condicionada	128
3.1.1.5 Protocol MTP(Matching to Position).....	128
3.1.1.6 Protocol DMTP (Delayed matching to position).....	130
3.1.1.7 Anàlisi estadística	131
3.1.2.1 Tasca MTP	132
3.1.2.2 Protocol Delayed Matching To Position.....	133
3.2 EXPERIMENT 3	134
3.2.1.1 Subjectes.....	135
3.2.1.2 Habitució i aprenentatge de la resposta condicionada (AP1, AP2).....	135
3.2.1.3 Cirurgia Estereotàxica.....	136
3.2.1.4 Tasca MTP	136
3.2.1.5 Microinfusió.....	136
3.2.1.6 Tasca DMTP.....	137
3.2.1.7 Reversió de la tasca: NMTP i DNMT.....	137
3.2.1.8. Prova de Camp Obert	138
3.2.1.9 Laberint Y-Maze.....	138
3.2.1.10 Prova de respostes alternes.....	140
3.2.1.11 Eutanàsia i Histologia.....	140
3.2.1.12 Anàlisi Estadística.....	141
3.2.2.1 Control del Pes	143
3.2.2.2 Tasca DMTP	145
3.2.2.3 Tasca NMTP	148
3.2.2.4 Tasca DNMT.....	149
3.2.2.5 Prova de camp obert.....	151

3.2.2.6 Y-Maze	152
3.2.2.7 Prova de Respostes alternes	154
IV. DISCUSSIÓ.....	158
V. CONCLUSIONS	179
REFERÈNCIES	180

ABREVIATURES

5-CSRTT	<i>Five-choice serial reaction time task</i>
Acc	Nucli Accumbens
ACh	Acetilcolina
AMPA	Àcid α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionic
AMPA_r	Receptor d'AMPA
AP1	Aprenentatge 1
AP2	Aprenentatge 2
ATV	Àrea tegmental ventral
BDBv	Banda diagonal de Broca, banda vertical
BDNF	Factor neurotròfic derivat del cervell
BLA	Amígdala basolateral
Ca²⁺	Ió de calci
CIL	Escorça infralímbica
CM-PF	Complex centremitjà-parafascicular
CO₂	Diòxid de carboni
CPF	Escorça prefrontal
CPF_m	Escorça prefrontal medial
CPL	Escorça prelímbic
CREB	Proteïna d'unió a l'element de resposta a l'AMPc
CS	Colicle superior
CS₂	disulfur de carboni
CX546	1-(1,4-benzodioxan-6-ylcarbonil)piperidina
DA	Dopamina
DARP	Departament d'agricultura, ramaderia i pesca
DCS	D-cicloserina
DMSO	Dimetil sulfòxid
DMTP	Delayed matching-to-position
DNMTP	Delayed non-matching-to-position
DSO	Discriminació simple d'olors

EAAT	Transportador d'aminoàcids excitadors
EC	Estímul condicional
ECP	Estimulació cerebral profunda
EN	Estímul neutre
EV2	Evitació activa de dos sentits
fr	fascicle retroflexus
GABA	Àcid gamma-aminobutíric
GABAr	Receptor GABA
Glu	glutamat
GP	Globus pàl·lid
HBL	Habènula
HPC	Hipocamp
HPCd	Regió dorsal de l'hipocamp
HPCv	Regió ventral de l'hipocamp
ILN	Nuclis intralaminars del tàlem
ING	<i>Interneuron network gamma</i>
K⁺	Ió de potassi
KAINATr	Receptor d'àcid kainic
LTD	Long-term depression
ME	Menjar entrenat
Mg²⁺	Ió magnesi
MK-801	(+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine maleat
MNE	Menjar no entrenat
MT	Memòria de treball
MTP	Matching-to-position
MWM	Morris water maze
Na⁺	Ió de sodi
NBM	Nucli basal magnocelular
NMDA	Àcid N-metil-D-aspartat
NMDAr	Receptor NMDA
NMTP	Non-matching-to-position
NRT	Nucli reticular talàmic
NST	Nucli subtalàmic

PB	Prosencèfal basal
PBS	Tampó fosfat salí
PEP	Potencial excitador postsinàptic
PF	Parafascicular
PFI	Parafascicular lateral
PFm	Parafascicular medial
PFn	Nucli parafascicular
PING	<i>Pyramidal interneuron network gamma</i>
PLT	Potenciació a llarg termini
PV	Parbalvumina
PVBC	<i>PV-basket cell</i>
RMf	Ressonància magnètica funcional
RNA	Àcid ribonucleic
S18986	(S)-2,3-dihidro-[3,4]-ciclopenta-1,2,4-benzotiadiazina- 1,1-dioxid
SCOP	Escopolamina
SI	Substància <i>innominata</i>
SM	Septum medial
SNC	Sistema nerviós central
TDAH	Transtorn per dèficit d'atenció i hiperactivitat
TOC	Transtorn obsessiu compulsiu
TSPA	Transmissió social de preferència alimentària
Vglut	Transportador vesicular de glutamat

I. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS

Plantejament

En els darrers anys, diversos factors han contribuït a allargar l'esperança de vida de les persones, fet que pot implicar una major incidència de malalties neurodegeneratives com són l'Alzheimer o d'altres patologies que també cursen amb demència, les quals afecten habilitats cognitives bàsiques per a una òptima qualitat de vida i constitueixen, per tant, un dels principals problemes socials i de salut pública actualment. En el procés d'envelliment no patològic aquestes capacitats cognitives, com ara la memòria o l'atenció, també es poden veure afectades, si bé trobem una gran variabilitat entre diferents persones. En aquest context, l'envelliment no patològic es tracta d'un procés biològic irreversible durant el que es produeix un seguit de canvis físics i psíquics i, tot i que no constitueix una malaltia per se, alguns d'aquests canvis poden augmentar la incidència de diverses malalties mentals i/o orgàniques (Izaks & Westendorp, 2003).

El còrtex prefrontal (CPF) i l'hipocamp (HPC) són estructures cerebrals especialment sensibles a aquest procés d'envelliment i la seva degeneració comporta afectacions en l'atenció, la flexibilitat cognitiva i la memòria, espacial i de treball (MT) principalment (Esiri, 2007). D'altra banda, s'ha constatat que durant l'envelliment es produeix una reducció dels nivells de receptors glutamatèrgics àcid N-metil-D-aspartat (NMDAr) i α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionic (AMPAr), els quals són essencials per a l'expressió de la plasticitat sinàptica hipocampal implicada en l'aprenentatge i la memòria ; (Barnes, 1979; Wenk & Barnes, 2000). Aquests i altres canvis neurofisiològics que es produeixen durant el procés d'envelliment deriven en dèficits en la MT i la memòria episòdica (ME) (Tulving, 1983; Yonelinas, 2002), així com en una pèrdua de les capacitats atencionals, executives i visuoespacials (Buckner, 2004; Kléncklen et al., 2012; Lithfous et al., 2013).

Aquest treball pretén potenciar l'aprenentatge i la memòria a través de l'administració d'agonistes del glutamat en regions cerebrals claus per a les funcions cognitives. Així doncs, hem utilitzat diferents models animals a fi de simular algunes de les afectacions que apareixen durant l'envelliment. En

concret, en la present tesi s'han utilitzat dos models de caire farmacològic, l'administració d'escopolamina (SCOP), que provoca alteracions colinèrgiques, i de muscimol, que inactiva les neurones transitòriament. A més, també hem treballat amb un model no farmacològic, d'envelliment natural, rates Wistar de 24 mesos d'edat.

Per tal d'avaluar els dèficits induïts en els models animals mencionats vam utilitzar diferents paradigmes conductuals de memòria, els quals ens van permetre avaluar diferents capacitats i processos que es poden veure afectats durant l'envelliment natural o en malalties neurodegeneratives. Un d'ells és la discriminació simple d'olors (DSO), una tasca associativa de tipus olfactiu basada en la tendència innata dels animals a explorar els estímuls nous diferenciant-los d'aquells coneguts. També vam fer servir la tasca transmissió social de preferència alimentària (TSPA), la qual ens permet avaluar la memòria relacional basada en estímuls olfactoris. A fi de valorar la MT vam utilitzar la tasca de resposta demorada en gàbia de condicionament, *delayed matching to position* (DMTP), i per avaluar la flexibilitat cognitiva vam emprar la seva reversió, *delayed non-matching to position* (DNMTP). Aquesta tasca i les seves variants han estat utilitzades en clínica per avaluar malalties neurològiques (Irle et al., 1987), així com també per explorar els efectes de lesions cerebrals i els efectes de diferents fàrmacs sobre la memòria en rosegadors (Dunnett, 1985; Dunnett, et al., 1989).

En la present tesi doctoral s'hi engloba una sèrie d'experiments, duts a terme amb les tasques anteriors, que pretén investigar diferents tractaments cerebrals de tipus glutamatèrgic que podrien potenciar fonamentalment processos atencional i mnemònic en els models animals de dèficit cognitiu esmentats anteriorment, derivats d'inactivacions cerebrals o del procés d'envelliment natural. El fet d'investigar en aquest sistema de neurotransmissió es deu a que el glutamat exerceix un rol protagonista en les funcions cognitives (Lynch, 2006), i actua tant sobre receptors metabotròpics com ionotròpics, entre els que destaquen els AMPAr i els NMDAr per la seva implicació en la plasticitat sinàptica i, especialment, en la inducció de la potenciació a llarg termini (PLT), la qual sembla un mecanisme clau per a la formació de la

memòria (Lynch et al., 2004). Donada la implicació dels NMDAr i AMPAr en processos cognitius, diversos estudis s'han basat en aquests receptors com a diana per a tractaments destinats a la millora cognitiva (Rebola et al., 2010). Els tractaments seleccionats en el present treball són el compost (S)-2,3-dihidro-[3,4]-ciclopenta-1,2,4-benzotiadiazina-1,1-dioxid (S18986), un agonista dels AMPAr, i la D-cicloserina, un agonista parcial dels NMDAr. Tant un fàrmac com l'altre van ser administrats intracerebrament a l'escorça prefrontal (CPL), una regió de l'escorça prefrontal, la qual està àmpliament relacionada amb els processos atencional, la MT i la flexibilitat cognitiva, entre d'altres.

Pel que fa a la substància S18986 és una *ampaquina* que podria resultar beneficiosa per al tractament de dèficits cognitius en malalties neurodegeneratives ja que sembla produir efectes potenciadors sobre les funcions cognitives, tant en animals joves (Bertaina-Anglade et al., 2007) com envellits (Bloss et al., 2008), en diverses tasques d'aprenentatge. Un estudi dut a terme en el nostre laboratori fou el primer en provar el seu efecte administrat via intracerebral. Es va injectar de manera aguda al CPL i es va avaluar el seu efecte en rates sobre la tasca DSO (Yefimenko et al., 2013). Aquest experiment va mostrar una millora en l'execució de la tasca de discriminació, en reduir tant el nombre d'errors com les latències de resposta dels animals. A més, tant la seva administració crònica com aguda ha mostrat efectes neuroprotectors en ratolins amb lesions intracerebrals induïdes per l'administració d'NMDA (Dicou et al., 2003).

D'altra banda, s'ha suggerit que l'S18986 podria modular les funcions cognitives actuant sobre d'altres sistemes de neurotransmissió, doncs s'ha observat que promou l'alliberació d'acetilcolina (ACh) a l'HPC i de noradrenalina a l'HPC i al còrtex (Rosi et al., 2004). Així doncs, els diferents antecedents experimentals suggereixen que aquesta molècula podria facilitar l'aprenentatge i la memòria i millorar els problemes cognitius associats al'edat o a malalties neurodegeneratives.

Pel que fa als agonistes dels receptors NMDA, en la literatura trobem diversos estudis que han valorat els efectes de la seva administració i han observat que

facilita l'aprenentatge i la memòria en diferents paradigmes conductuals (Pussinen & Sirvio, 1999; Zlomuzica et al., 2007). A més a més, treballs del nostre laboratori han demostrat que la injecció directa al CPL de d-cicloserina (DCS) facilita l'aprenentatge d'una tasca de discriminació olfactiva, com la DSO (Villarejo-Rodríguez et al., 2010) i reverteix el deteriorament mnemònic produït per la injecció al CPL d'SCOP, un antagonista dels receptors colinèrgics muscarínics, en tasques olfactives, com la DSO o la TSPA (Portero-Tresserra et al., 2013). No obstant, es necessita més recerca sobre els efectes de l'administració de DCS sobre la MT, tot i que es poden destacar els estudis duts a terme per Forsyth i els seus col·laboradors. Aquests experiments en humans van demostrar com l'administració sistèmica de DCS en un grup d'adults sans no causava millores en la MT (Forsyth et al., 2015), mentre que potenciava l'execució de tasques de MT en pacients esquizofrènics (Forsyth et al., 2017). D'altra banda, tenint en consideració el mecanisme d'acció de la DCS, altres funcions dependents del CPF podrien beneficiar-se dels seus efectes. Una d'aquestes funcions és la flexibilitat cognitiva, descrita com l'habilitat per adaptar la nostra conducta davant d'estímul canviants, nous o inesperats.

Quant al substrat neuroanatòmic subjacent a les tasques i models utilitzats en la present tesi doctoral, l'HPC és crític per a la memòria declarativa o relacional, és a dir, el tipus de memòria que permet recuperar de forma conscient i intencional informació relacionada amb experiències prèvies. Els dèficits en la consolidació d'aquest tipus de memòria són, precisament, un dels aspectes més comuns durant l'envelliment, que es manifesten en tasques com la TSPA (Portero-Tresserra et al., 2018). El CPF, per la seva banda, a part de ser rellevant en aspectes com la flexibilitat cognitiva o el control inhibitori, té un paper clau en les tasques de MT, la qual permet retenir i manipular informació durant un període de temps breu, que pot anar des de segons fins a minuts. Són diverses les investigacions que remarquen la importància del CPF per al bon funcionament de la MT i s'ha pogut comprovar com mitjançant la inactivació d'aquesta àrea es produeixen dèficits significatius en l'execució de tasques com la DNMT, la qual avalua aquest tipus de memòria (Auger & Floresco, 2017). Tanmateix, com hem comentat anteriorment, els rols que

assumeix el CPF són múltiples i variats, motiu pel qual nombrosos equips investigadors s'han centrat en delimitar quines àrees específiques del CPF tindrien una major participació en la MT. Goldman-Rakic fou pionera en l'estudi de la MT i les seves bases neurals i mitjançant estudis de registre de neurones individuals, duts a terme en primats, va demostrar com en tasques de demora temporal s'apreciaven patrons d'activitat neuronal significatius en una àrea que correspondria al còrtex prelímbic (CPL) (Chafee & Goldman-Rakic, 1998). El CPL constitueix, anatòmicament parlant, una part de l'escorça prefrontal medial (CPFm), implicat en l'adquisició i la correcta execució de tasques dependents del manteniment de la informació en períodes breus de temps (Gilmartin & Helmstetter, 2010). Per aquesta raó, nombroses investigacions, incloent la nostra, han considerat el CPL com una diana terapèutica prometedora sobre la qual actuar per intentar disminuir dèficits de MT ocasionats per diversos factors.

Una altra de les regions a tenir en compte en aquest context és el nucli parafascicular del tàlem (PFn). El PFn és un component dels nuclis intralaminars i és un element clau dins del sistema reticular activador ascendent (Kinomura et al., 1996). També destaca per enviar projeccions glutamatèrgiques a l'estriat i al còrtex prefrontal (CPF), especialment al còrtex infralímbic (CIL), prelímbic (CPL) i cingulat anterior (Sadikot & Rymar, 2009; Quiroz-Padilla et al., 2010). A través d'aquestes projeccions, el PFn forma part del sistema dels ganglis basals-tàlem-cortical, i participa en funcions associatives, motores i límbiques (Galvan & Smith, 2011). La seva lesió impedeix l'adquisició i la retenció de diferents paradigmes conductuals com, per exemple, l'evitació activa de dos sentits, la DSO i la TSPA; (Newman & Burk, 2005; Villarejo-Rodríguez et al., 2013). Així, doncs, el PFn sembla jugar un paper modulador important de les capacitats cognitives, en concret de la memòria, mitjançant les seves projeccions al CPF.

Per finalitzar aquest plantejament, tenint en compte la rellevància del glutamat i els AMPAR en els processos de plasticitat sinàptica, l'aprenentatge i memòria, vam estudiar si l'S18986 administrada al CPL podria potenciar l'aprenentatge i/o la memòria en les tasques com la DSO i la TSPA. A més, vam analitzar si aquest compost podria revertir dèficits mnemònics en les mateixes tasques,

derivats de l'administració d'SCOP al CPL (Experiment 1). Així mateix, vam avaluar si S18986 podria ser capaç de revertir els dèficits, en els mateixos paradigmes d'aprenentatge, produïts per la inactivació del PFn com a conseqüència de l'administració de muscimol, un agonista del receptor GABA_A (Experiment 2).

D'altra banda, vam avaluar si l'administració intra PLC de DCS, agonista parcial dels receptors NMDA, podria millorar la MT en rates envellides, en un paradigma de resposta demorada realitzat en gàbia de condicionament. (Experiment 3).

Hipòtesi i Objectius

La nostra hipòtesi de treball és que una correcta transmissió glutamatèrgica al CPF, i en concret al CPL, és essencial per als processos cognitius, com l'aprenentatge, memòria i la flexibilitat cognitiva.

Tenint en compte allò exposat, l'objectiu general del present treball consisteix en avaluar si l'administració intracerebral de moduladors positius dels receptors de glutamat millora processos d'aprenentatge i memòria en animals sans i amb dèficit cognitiu. Esperem, doncs, que l'administració d'agonistes dels AMPAr i NMDAr al CPL podria facilitar l'aprenentatge i la memòria de tasques de memòria basades en estímuls olfactivs, altament rellevants en rosegadors, com la DSO i la TSPA, així com la MT i la flexibilitat cognitiva en tasques que inclouen demora entre les diferents fases.

Així doncs, els objectius específics del treball han estat:

- Avaluar la capacitat de l'S18986 administrada pre-aprenentatge al CPL per a revertir dèficits en l'aprenentatge i la consolidació de la memòria induïts per la injecció post-adquisició d'SCOP en dues tasques d'aprenentatge olfactiv (DSO i TSPA) en rates joves.
- Avaluar la capacitat de l'S18986 administrada pre-aprenentatge al CPL, per a revertir dèficits d'aprenentatge i/o memòria induïts per l'administració de

muscimol pre-aprenentatge al PFn del tàlem en dues tasques d'aprenentatge olfatori (DSO i TSPA) en rates joves.

- Avaluar la capacitat de la DCS administrada al CPL abans de cada sessió d'entrenament per a revertir dèficits associats a l'edat en la MT i la flexibilitat cognitiva en les tasques de resposta demorada en gàbia de condicionament.

II. MARC TEÒRIC I ANTECEDENTS EXPERIMENTALS

1 ENVELLIMENT I FUNCIONS COGNITIVES

L'envelliment, tot i no ser una patologia per se, és un procés en el qual, fruit del pas del temps, es veuen afectades les capacitats cognitives. Tot i això, trobem una gran variabilitat individual, que pot ser explicada mitjançant variables com l'educació, l'activitat física o els factors genètics, entre d'altres. De tota manera, cal distingir entre les capacitats minvades dintre del procés d'envelliment normal i el declivi associat a alguna de les patologies que poden conduir a la demència (Unverzagt, Hui et al., 2012)

Els canvis involutius que es donen durant l'envelliment no patològic són força comuns en tots els mamífers. Alguns d'aquests canvis subjacents a les disfuncions cognitives associades a l'envelliment natural són l'atròfia cortical, suggerida per la reducció del pes i el volum del parènquima, la dilatació dels ventricles, l'augment de la grandària dels solcs i la disminució del gruix de les circumvolucions (Terry et al., 1987; Hubbard & Anderson, 1981). Aquesta reducció en la mida cerebral sembla correspondre a una pèrdua selectiva de substància blanca, mentre que en l'envelliment patològic la substància grisa es veu també afectada (Salat et al., 1999). També es produeix una disminució en els nivells de molècules relacionades amb la supervivència de les neurones i la plasticitat sinàptica, com el factor neurotròfic derivat del cervell i el factor de creixement nerviós. Tots aquests canvis correlacionen amb els dèficits cognitius (Martí-Nicolovius & Arévalo-García, 2019), en especial amb les alteracions de les funcions cognitives associades al lòbul frontal (West, 1996; Rypma et al., 2001; Buckner, 2004; Van Petten, 2004). Així doncs, els mètodes volumètrics amb ressonància magnètica (MRI) han mostrat reduccions relacionades amb l'edat en regions frontals, però també s'han trobat disminucions en altres àrees cerebrals, incloses les regions temporals, parietals, subcorticals, cerebel·loses i també a la substància blanca (Raz et al., 1997; Good et al., 2001; Jernigan et al., 2001; Tisserand et al., 2002; Tisserand & Jolles, 2003).

Entre els canvis microscòpics que es donen en l'envelliment normal i el patològic hi trobem l'aparició de cabdells neurofibril·lars, de plaques senils i la degeneració de les cèl·lules gials. Malgrat això, les regions cerebrals on hi apareixen no són equivalents. En l'envelliment patològic aquests canvis s'observen en aquelles àrees rellevants per a funcions superiors com és el cas del CPF, el lòbul temporal medial i superior i els nuclis colinèrgics del prosencèfal basal mentre que en l'envelliment no patològic aquests canvis s'associen a un patró de reducció de matèria grisa que inclou l'escorça frontal, temporal, parietal, i regions subcorticals (Yamamoto & Hirano, 1985; Gomez-Isla et al., 1997).

A més d'aquestes alteracions neuropatològiques, un altre factor que contribueix al deteriorament cognitiu observat durant l'envelliment és una reducció en el nombre dels receptors glutamatèrgics NMDA i AMPA, descrita en rata (Tamaru et al., 1991; Wenk et al., 1991; Clark et al., 1992), ratolí (Magnusson & Cotman, 1993a;b) i primat (Wenk et al., 1991), receptors que són essencials per l'expressió de la plasticitat sinàptica hipocampal implicada en l'aprenentatge i la memòria (Barnes, 1979; Wenk & Barnes, 2000). En aquest context, alguns estudis de ressonància magnètica funcional (RMf) en persones grans han mostrat una activitat hipocampal reduïda que correlaciona amb dèficits en aprenentatge espacial (Moffat et al., 2006). A més a més, estudis neurobiològics i conductuals indiquen que durant l'envelliment s'observen dèficits en la memòria de treball (MT) i la memòria episòdica en humans (Tulving, 1983; Yonelinas, 2002), ambdues molt lligades a la integritat prefrontal i hipocampal. Això explicaria el fet que les persones grans tinguin dificultats en tasques de caire atencional, executiu i visuoespacial, també relacionades amb els lòbuls frontals (Buckner, 2004; Grady, 2008; Kléncklen et al., 2012; Lithfous et al., 2013).

La MT consisteix en la representació conscient i manipulació temporal de la informació necessària per a realitzar operacions cognitives complexes, com l'aprenentatge, la comprensió del llenguatge o el raonament. La seva contribució a la memòria a llarg termini i la seva relació amb la intel·ligència fluida, és a dir, amb la capacitat de raonament general i de resolució de

problemes fan de la MT un sistema de memòria molt rellevant (Morgado Bernal, 2005). Un senzill exemple del què és la MT seria el fet de recordar allò que ens han dit durant una conversa a fi de poder respondre en consonància. En aquest exemple hi podem veure tres fases diferenciades; si suposem que aquesta conversa es dóna entre un client i un cambrer la primera fase és la que coneixem com a fase *mostra*, que correspondria a la informació que li arriba al cambrer per part del client; la segona és la fase *demora* la qual correspon a el temps que transcorre des de que el client ha fet la seva demanda fins que el cambrer pugui executar una resposta, aquesta última acció se l'anomena fase *tria* ja que seleccionem la resposta en consonància a la demanda que se'ns ha fet.

En rosegadors s'ha observat un deteriorament associat amb l'edat en una tasca que avalua aquest tipus de memòria, com és la "*delayed matching to sample*" (DMTS). D'aquesta manera, mentre les rates joves i velles mostren un rendiment similar quan existeix una demora curta entre la fase de mostra i la fase de prova, en incrementar les demores entre les fases de la tasca (és a dir, quan s'inclou una demanda de MT més elevada) el rendiment de les rates velles es veu significativament perjudicat en comparació al dels subjectes joves (Bañuelos et al., 2013; Bizon et al., 2009; Beas et al., 2013).

La MT es basa en el correcte funcionament de la CPF i, en especial, en la capacitat de les neurones piramidals de seguir disparant fins i tot amb absència de l'estímul (Goldman-Rakic, 1995). Durant l'envelliment, com s'ha comentat en paràgrafs anteriors, hi ha una pèrdua de receptors glutamatèrgics, els quals es troben ubicats principalment en les neurones piramidals. En concret, la pèrdua es veu evidenciada en la subunitat NR2A dels NMDAr, que està regulada per l'edat, doncs en cervells immadurs els NMDAr es componen majoritàriament de la subunitat NR1 i de la NR2A, essent substituïda amb els anys per la subunitat NR2B. En aquest context, s'ha suggerit que l'afectació de les tasques de MT amb l'edat podria ser deguda a la reducció que es dona en subunitats dels NMDAr (Guidi et al., 2015) i de transportadors vesiculars de glutamat (VGlut1) del CPF (Bloss et al., 2013). A més, en estudis electrofisiològics en rates, s'ha observat que la MT s'associa a l'activitat oscil·ladora en aquestes cèl·lules

piramidals (Buzsáki & Wang, 2012) relacionada amb ones gamma (30-100 Hz) (Howard et al., 2003). Pel que fa als circuits neurals involucrats en la producció d'ones gamma, trobem dos models, per una banda, el model d'interneurons gamma *network* (ING) on les oscil·lacions depenen de la mútua inhibició entre neurones GABAèrgiques (Whittington et al., 2000). D'altra banda el model PING, *Pyramidal Interneuron Network Gamma*, on les oscil·lacions depenen de la interacció entre les cèl·lules piramidals i les neurones GABAèrgiques via connexions de sinapsis recurrents (Whittington et al., 2000). En models PING, les interneurons estan dirigides per sinapsis glutamatèrgiques que provenen de cèl·lules piramidals (Gonzalez-Burgos & Lewis, 2012; Korotkova et al., 2010).

Donada la relació entre els NMDAr i l'activitat inhibidora de les interneurons GABAèrgiques, és lògic que les infusions locals d'antagonistes dels NMDAr, com l'MK-801, no només bloquegin aquests receptors en les interneurons GABAèrgiques, sinó que també afectarien els receptors de cèl·lules piramidals (Gonzalez-Burgos & Lewis, 2012). Per tant, la disminució de l'activitat dels NMDAr dins el PFC sembla afectar predominantment el manteniment d'informació relacionada amb la MT. En comparació, la disminució de l'activació dels receptors GABA_A pot afectar la codificació de la informació de la MT (Auger & Floresco, 2017). Tant l'administració d'antagonistes dels GABA_A com dels NMDAr poden desregular les ones gamma i afectar la MT, tot i que sembla que les conseqüències de bloquejar uns o altres receptors no son exactament iguals, ja que la contribució dels NMDAr en l'activació sinàptica de les interneurons GABAèrgiques és modesta (Hull et al., 2009). El bloqueig dels ions magnesi dels NMDAr és més fort en les pv-Basket cells (PVBCs) que en les neurones excitatòries, fent que la seva contribució en els potencials postsinàptics de les PVBCs sigui dèbil (Hull et al., 2009). És possible que la permeabilitat al calci dels NMDA jugui un rol independent o directe en l'excitació de les cèl·lules PV (Sarihi et al., 2008).

González-Burgos i Lewis l'any 2012 van veure una relació inversa entre la contribució NMDA en les ones gamma, ja que incrementant els corrents NMDA baixa la freqüència gamma. En el model, consistent amb les observacions

experimentals, la introducció de corrents de llarga durada NMDAr en les sinapsis PVBCs produïen ràfegues retardades de potencials d'acció que no van ser bloquejats a la d'excitació que arriba de cèl·lules piramidals (Gonzalez-Burgos & Lewis, 2012).

La MT la podem avaluar a través de diferents paradigmes conductuals com són, la ja citada prèviament tasca de DMTP, i la seva variant DNMTTP, però també utilitzant laberints espacials o tasques olfactivas com per exemple l'*odor spantask*. En aquesta última, es presenta un recipient amb sorra aromatitzada amb un reforç amagat al interior i en el següent assaig es presenta aquest mateix recipient aromatitzat junt amb un altre amb un aroma nou on s'hi introdueix el reforçador l'animal ha de recordar que les aromes ja presentades anteriorment ja no estan reforçades. En aquesta tasca es pot anar afegint nous recipients aromatitzats de manera que acaba esdevenint un bon paradigma de memòria de treball de tipus olfactiu (Dudchenko et al.,2013). Com aquesta, moltes altres tasques realitzades en diferents laberints, com ara el radial o el de nou forats, han estat utilitzades per a l'avaluació de la MT, no obstant, tots aquests paradigmes no estan automatitzats i per tant es facilita l'aparició de variables estranyes.

Sembla ser doncs, que els instruments més fiables a l'hora d'avaluar la MT són les gàbies de condicionament pel fet de ser instruments automatitzats, en especial mitjançant pantalla tàctil per la seva flexibilitat a l'hora tant d'agregar diversos graus de dificultat, ja sigui modificant la durada de la demora o agregant colors o formes, com per evitar estratègies de resposta que emmascarin el resultat de l'avaluació de la MT. A més a més cal tenir present el comportament natural de l'animal i facilitar que puguin respondre en consonància a la seva naturalesa.

A part de la MT, durant l'envelliment també s'observen dificultats en tasques de memòria declarativa, altres dèficits associats a l'envelliment són els sensorials, en especial els olfactoris, que afecten, òbviament, els aprenentatges basats en aquesta modalitat sensorial. L'olfacte és la modalitat etològicament més rellevant en els rosegadors i té un caràcter molt adaptatiu, lligat a la

supervivència i la reproducció. El processament olfatori té lloc a l'escorça olfactiva d'associació, la qual està estretament relacionada amb l'escorça olfactiva peririnal i també l'amígdala, l'HPC i regions del CPF. Els dèficits olfactivs són presents en múltiples malalties neurodegeneratives, així com també s'observen després de lesions cerebrals, epilèpsia o migranya. En el cas de la malaltia d'Alzheimer és una característica que es manifesta en les etapes més primerenques i que progressivament es va agreujant amb el curs de la malaltia (McNamara et al., 2008). De fet, per aquest motiu s'ha suggerit que la detecció d'anòsmia en la fase preclínica podria ser utilitzada com a indicador durant el diagnòstic d'aquestes malalties (Doty et al., 1987; Daniel & Hawkes, 1992). En humans, l'avaluació dels efectes de l'envelliment sobre l'olfacte s'ha realitzat predominantment en l'olfacte oronasal i inclou estudis de la capacitat per identificar les olors, així com avaluacions de les intensitats percebudes dels estímuls olfactivs. Els ancians mostren clars descensos en la capacitat d'identificar les olors en comparació a grups de joves (Doty et al., 1984, (Wysocki & Gilbert, 1989). A més, les intensitats percebudes de moltes olors poden atenuar-se amb l'edat. No obstant això, existeix cert desacord sobre la magnitud d'aquest efecte (Stevens & Cain, 1987). D'altra banda, l'edat sembla produir efectes de deteriorament també en l'olfacte retronasal (Murphy, 1985) i es proposa que alguns individus tenen alteracions limitades només a l'olfacció retronasal (Duffy & Wurtz, 1991).

Els aprenentatges olfactivs han estat un model especialment útil per estudiar les funcions de diferents neurotransmissors crítics en els processos d'aprenentatge i memòria, com per exemple l'ACh. L'ACh és un dels neurotransmissors més estesos al sistema nerviós, ja que les neurones colinèrgiques estan àmpliament distribuïdes per tot l'encèfal. Les principals fonts colinèrgiques són els nuclis del tronc de l'encèfal i del prosencèfal basal (PB). S'ha descrit que l'ACh modula funcions cognitives i conductuals, tals com la regulació de l'*arousal* cortical i els processos atencional i, a més, exerceix un paper crucial en els processos de plasticitat neural subjacents a l'aprenentatge i la memòria (Sarter & Parikh, 2005; Gu, 2002) mitjançant l'activació dels receptors muscarínics (Hasselmo, 2006; Bartus et al., 1982; Bhattacharya & Sen, 1991). S'ha descrit que l'ACh modula funcions cognitives

i conductuals i realitza un paper clau en els processos de memòria i aprenentatge.

Aquestes funcions les realitza gràcies, en part, a la modulació que exerceix sobre l'activitat neuronal d'estructures crítiques en el sistema olfatori, com el bulb olfatori (Castillo et al., 1999; Elaagouby & Gervais, 1992) i el còrtex piriforme (Barkai et al., 1994; Hasselmo & Bower, 1992; Linster et al., 1999). De fet, la disrupció de la funció colinèrgica produeix un deteriorament de diferents formes de memòria olfactiva. Per exemple, les lesions selectives colinèrgiques localitzades en diferents nuclis del PB produeixen dèficits en tasques de memòria associativa olfactiva, com la TSPA (Vale-Martínez et al., 2002) i augmenten la generalització entre olors similars (Linster et al., 2001). Així mateix, quan s'administren antagonistes colinèrgics com l'SCOP de forma sistèmica al bulb olfatori es deteriora l'execució de diverses tasques basades en estímuls olfactors, com l'habitució simple, l'aprenentatge d'estratègies, l'aprenentatge perceptiu i l'emparellament demorat (De Rosa & Hasselmo, 2000); Fletcher & Wilson, 2001; Hunter & Murray, 1989; Ravel et al., 1992; Ravel et al., 1994; Saar et al., 2001). D'altra banda, l'administració d'agonistes colinèrgics augmenta la discriminació d'olors i millora l'aprenentatge d'estratègies olfactives (Doty et al., 1998; Saar et al., 2001).

Donada la importància de l'ACh i de les seves projeccions cap al CPF, les quals contribueixen a un correcte funcionament d'aquesta regió cerebral, i dels efectes de l'envelliment sobre el CPF, en el present treball hem utilitzat tasques de memòria olfactiva en les que la integritat del CPF és necessària per un correcte aprenentatge, com són la TSPA i la DSO.

2 CÒRTEX PREFRONTAL I FUNCIONS COGNITIVES

El CPF és la part més rostral del lòbul frontal, constituït també per l'escorça motora i premotora. Aquesta àrea cortical és la que més ha augmentat en volum relatiu en humans, a més de ser aquella que triga més temps en desenvolupar-se filogenèticament (Preuss, 1995). Durant molts anys s'ha

discutit sobre fins a quin punt aquesta regió és homòloga en primats i en rosegadors i, tot i que en primats les funcions puguin anar més enllà de les que porta a terme en rosegadors, podem parlar d'una certa homologia entre espècies, ja que en tots els mamífers, el CPF rep aferències del nucli dorsal mitjà del tàlem (Fuster, 2009).

Cal recordar que el CPF abasta una àrea molt important, amb diferents subregions, les quals exerceixen múltiples funcions. Una possible classificació de les diferents parts de l'escorça prefrontal en humans és la següent (figures 1 i 2):

ESCORÇA PREFRONTAL		
LATERAL	MEDIAL	ORBITOFRONTAL
DORSOLATERAL	DORSOMEDIAL	
VENTROLATERAL	VENTROMEDIAL	

Figura 1: Esquema resum de les diferents regions que formen l'escorça prefrontal en humans. Carlén 2017.

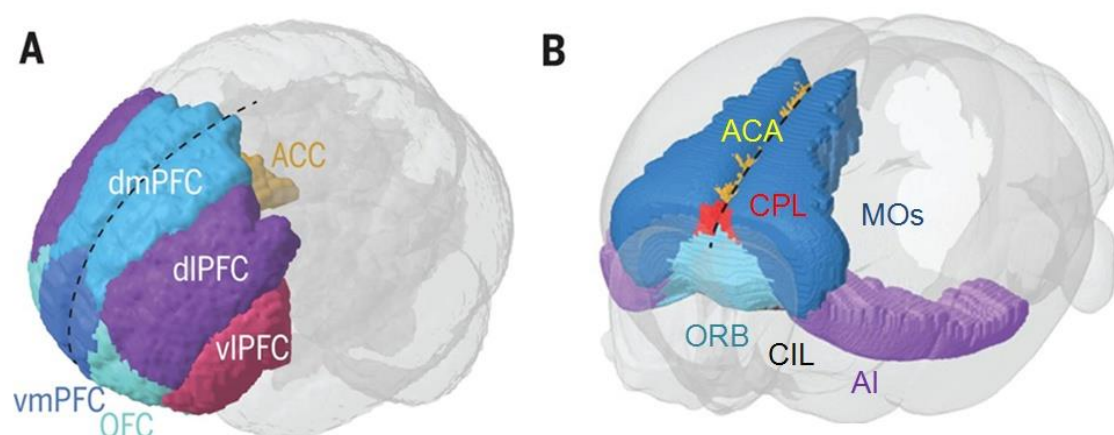


Figura 2: (A) Divisió funcional del CPF en humans (Escorça prefrontal dorsolateral (dIPFC), escorça prefrontal dorsomedial (dmPFC), escorça prefrontal ventromedial (vmPFC), escorça prefrontal ventrolateral (vIPFC), escorça orbitofrontal (OFC) i (B) en rata (Escorça orbital (ORB), àrea motora secundària (MOs), Àrea cingulada anterior (ACA), Àrea insular agranular (AI), escorça prelímbica (CPL), escorça infralímbica (CIL). Adaptat de Carlén, 2017.

2.1 CITOARQUITECTURA

En primats, la CPF està formada per sis capes diferenciades, però en rata no existeix la capa IV granular (Groenewegen & Uylings, 2000) i només es distingeixen amb claredat quatre capes (Swanson L.W., 1998). Les neurones piramidals glutamatèrgiques són les més nombroses de l'escorça (70-85%) i són presents en totes les capes de l'escorça, exceptuant la capa I (McCormick et al., 1985). Les neurones piramidals més petites són les que es troben a les capes II/III, mentre que les més grans es localitzen a les capes V/VI. Aquestes neurones constitueixen un grup molt heterogeni, amb diverses morfologies en l'arborització dendrítica i en les projeccions col·laterals axòniques, diferències que poden traduir-se en una diversitat funcional entre els diferents tipus de neurones piramidals (DeFelipe & Fariñas, 1992; Somogyi et al., 1998). Existeix una gran especificitat laminar de les projeccions de la CPF, les neurones piramidals de les capes II/III projecten a altres zones de l'escorça, mentre que les de les capes V/VI tot i també projectar a zones de l'escorça ho fan en la majoria de casos sobre estructures subcorticals (DeFelipe et al., 2001). A més de les neurones de projecció piramidals, un altre tipus de neurones present a l'escorça prefrontal són les interneurons, les quals tenen diferents morfologies i patrons d'arborització dendrítica. Constitueixen del 15 al 30% de les neurones de l'escorça cerebral i són presents en totes les àrees i capes corticals. La majoria d'aquestes interneurons alliberen el neurotransmissor GABA (Somogyi et al., 1998) i realitzen els seus contactes sinàptics dins la mateixa escorça proporcionant un control local inhibitori (DeFelipe et al., 2001)

Podem classificar les interneurons en funció de la seva morfologia, diferenciant així entre les *basket cells*, les interneurons canelobre, les *double bouquet*, les bipolars, les neurones Martinotti i aquelles que tenen forma neuroglial (veure figura 3) (DeFelipe et al., 2001). Però també és habitual classificar-les en funció de la proteïna d'unió al calci que expressen, en aquest cas diferenciem entre les interneurons de calbindina (majoritàriament les *double bouquet*), calretinina (*double bouquet* i bipolars) i parvalbumina (canelobre i *basket cells*) (Benes & Berretta, 2001).

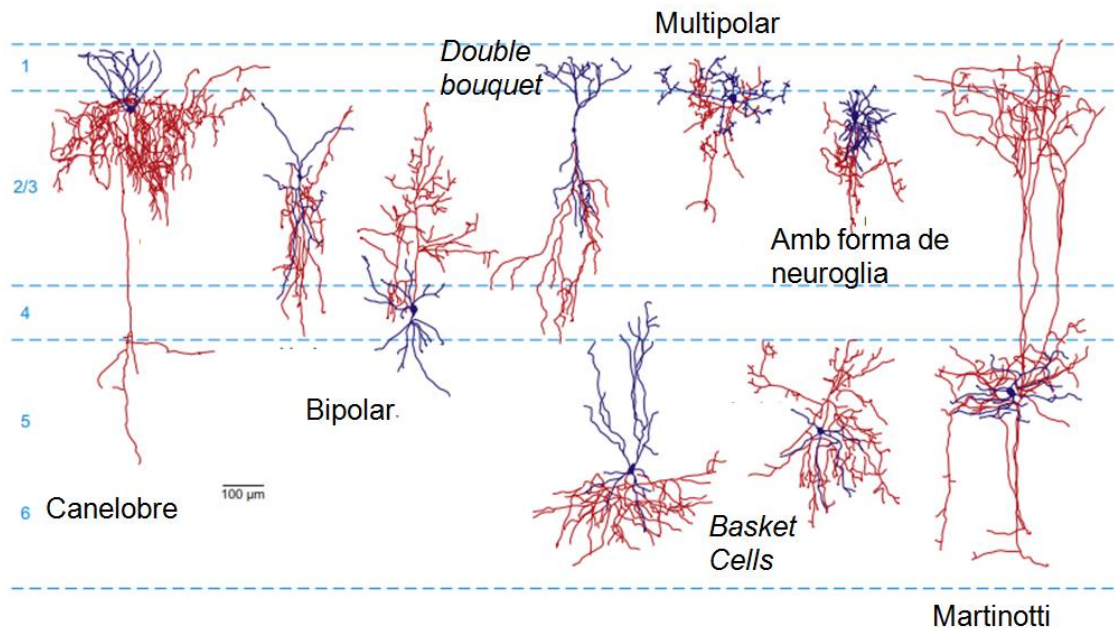


Figura 3: Morfologies representatives dels tipus d'interneurons de ratolí (en vermell els axons i en blau els arbres dendrítics). A la imatge podem veure dues variants de les cèl·lules bipolars i de les basket cells. Adaptat de Kirkcaldie 2012.

Les interneurons que expressen parvalbumina (PV) participen en la regulació de les neurones piramidals de projecció (McBain & Fisahn, 2002; Markram et al., 2004). Aquestes cèl·lules projecten un axó que sinapta de forma exclusiva amb el segment inicial de les neurones piramidals, a través de receptors GABA_A, presentant un patró molt ràpid de trens de potencials d'acció (Somogyi et al., 1998). Les característiques descrites per les interneurons GABA converteixen aquestes cèl·lules en possibles reguladores de les projeccions de les piramidals.

L'alliberament de GABA des de les interneurons que contenen PV és important per tal de regular les ones gamma corticals. Com ja s'ha comentat anteriorment, s'ha vist que les ones gamma cerebrals sincronitzades correlacionen amb els processos de MT i d'atenció selectiva (Womelsdorf & Fries, 2007) i que les tasques amb demanda cognitiva elevada correlacionen amb un increment de les ones gamma (Cho et al., 2006; Basar-Eroglu et al., 2007). Per tant, els antagonistes GABAèrgics podrien desregular les ones d'aquesta freqüència afectant així la MT. No obstant, l'antagonisme dels

NMDAR de les neurones piramidals del CPF també pot produir aquesta desregulació de les ones gamma (Homayoun & Moghaddam, 2007).

2.2 CONNECTIVITAT

El CPF té un paper crucial en la regulació i processament d'informació procedent de diverses àrees corticals i subcorticals. Aquest paper regulador depèn de les connexions directes o indirectes que presenta amb totes aquestes regions cerebrals (veure figura 4), que en moltes ocasions són recíproques. Estudis anatòmics realitzats mitjançant la combinació de diferents tècniques immunohistoquímiques, de transport retrògrad i hibridació in situ han permès diferenciar i definir l'anatomia i la naturalesa (tipus de neurotransmissió) de les projeccions cap al CPF (Peyronet al., 1997).

La major densitat d'aferències al CPF provenen del nucli mig dorsal talàmic (Donoghue & Wise, 1982). Aquestes connexions són recíproques i es distribueixen de manera ordenada acabant principalment en les capes I i III del CPF (Uylings & Van Eden, 1990). No obstant, no només aquest nucli del tàlem envia projeccions al CPF, sinó que ho fan tots els nuclis medials com per exemple el paratenial, el paraventricular, l'intermediodorsal, el romboide, el reuniens, a més a més dels nuclis intralaminars (Hsu & Price, 2007), com per exemple, el PFn.

Una altra estructura que també connecta de manera rellevant amb el CPF és l'amígdala, en concret la regió basolateral. Es tracta de connexions recíproques que parteixen essencialment des de les regions prelímbica (CPL) i infralímbica (CIL) del CPF (Zaborszky et al., 2000; Vertes, 2004; Gabbott et al., 2005). Altres àrees del sistema límbic amb les que està interconnectat el CPF són el nucli accumbens (Burns et al., 1996; Fuster, 1997; Tzschentke & Schmidt, 2000) i l'hipocamp, en especial amb el subículum i CA1 ventral (Krettek & Price, 1977; Vertes, 2004; Gabbott et al., 2005).

Les projeccions esmentades anteriorment són eminentment de tipus glutamatèrgic, però el CPF també rep connexions de diferent naturalesa

neuroquímica, com són les que provenen del prosencèfal basal, concretament del nucli basal magnocel·lular, les quals constitueixen la principal innervació colinèrgica del CPF (Jacobson et al., 2008), tot i que les projeccions des del CPF a aquesta regió són glutamatèrgiques (Gaykema et al., 1991; Zaborszky et al., 1997).

Pel que fa a les connexions amb el mesencèfal i protuberància s'han descrit projeccions dirigides a l'àrea tegmental ventral (ATV) (Carr & Sesack, 2000) i el locus coeruleus (Arnsten & Goldman-Rakic, 1984). L'ATV envia al seu torn projeccions a través del feix prosencefàlic medial (Hökfelt et al., 1974) i constitueix la principal projecció dopaminèrgica al CPF (Björklund & Dunnett, 2007). D'altra banda, el locus coeruleus és el principal responsable de la innervació noradrenèrgica a l'escorça (Felten & Sladek, 1983). Altres àrees que reben projeccions del CPF són el nucli del rafe dorsal, la substància grisa periaqüeductal, el nucli del tracte solitari i la substància negra pars compacta (Uylings & Van Eden, 1990; Vertes, 2004).

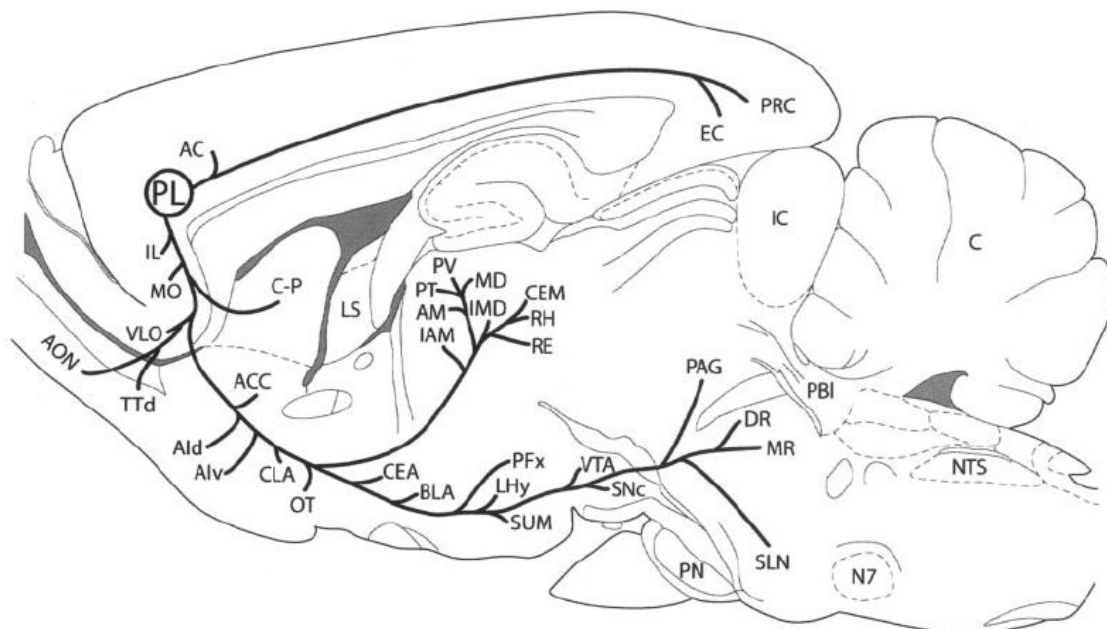


Figura 4: Secció sagital en la qual podem veure les principals projeccions des del CPL en cervell de ratà. (AC: còrtex cingulat anterior; Ald: còrtex insular agranular part dorsal; Alv: cortex insular agranular part ventral; AM: nucli anteromedial del tàlem; AON: nucli olfatori anterior; BLA: nucli basolateral de l'amígdala; C: cerebel; C-P: nuclis caudat i putamen, estriat; CEA: nucli central de l'amígdala; CEM: nucli central medial del tàlem; CLA: claustrum; EC:

còrtex entorhinal; DR: nucli dorsal del rafe; IAM: nucli interanteromedial del tàlem; IL: còrtex infralímbic; IMD: nucli intermediodorsal del tàlem; LHy: àrea hipotalàmica lateral; MD: nucli mediodorsal del tàlem; MO: còrtex orbital medial; MR: nucli mitjà del rafe; NTS: nucli del tracte solitari; N7: nucli facial; OT: tubercle olfatori; PAG: substància gris periaqüeductal; PBI: nucli parabraquial lateral; PFX: regió perifornical de l'hipotàlem; PL: còrtex prelímbic; PN: nucli pontí; PRC: còrtex perirínic; PT: nucli parataenial del tàlem; PV: nucli paraventricular del tàlem; RE: nucli reunions del tàlem; RH: nucli romboide del tàlem; TTd: taeniectata dorsal; VLO: còrtex orbital ventrolateral. (Adaptat de Vertes 2004).

2.3 FUNCIONS

El coneixement que tenim del CPF és que està molt relacionat amb l'atenció i les funcions executives en humans (Owen, Evans, & Petrides, 1996; Robbins et al., 1998) i animals (Dias et al., 1996; Birrell & V.J. Brown, 1995), com per exemple la MT, el control inhibitori, la flexibilitat cognitiva o la capacitat d'atenció (Miyake et al., 2001) S'entén com a procés atencional l'eficàcia de l'adquisició de nova informació en situacions caracteritzades per la presència de múltiples estímuls, seleccionant aquella informació que és rellevant i alhora ignorant la irrellevant (Sarter et al., 2003). Estudis previs han observat dèficits atencional i de flexibilitat cognitiva després de la lesió del CPL en la tasca *five-choice serial reaction time task* (5-CSRTT) i en d'altres paradigmes que també mesuren aquests processos cognitius com, per exemple, tasques de condicionament operant apetitiu realitzades amb determinades característiques d'aplicació, com per exemple amagant el reforç en un recipient ple de sorra aromatitzada. A les conclusions que han arribat aquests estudis es que el CPL és responsable de la flexibilitat cognitiva quan hi ha un canvi en les estratègies o en les normes. El CPL facilita la capacitat de canviar inicialment una estratègia rellevant anteriorment (Dalley et al., 2004; Kelley et al., 1998; Muir et al., 1996; Peters, 2006; Ragozzino, 2007). Això s'observa en condicions en què l'individu ha d'inhibir la resposta en funció de l'estímul, responnent de manera diferent a les contingències inicials. De fet, les lesions al CPL de les rates produeixen dèficits d'atenció (Newman et al., 2008; Newman & McGaughy, 2008).

Pel que fa a la MT, experiments realitzats en primats mostren com les neurones del CPF es mantenen actives durant l'absència d'estímuls, és a dir, durant els períodes de temps en que l'animal ha de recordar un estímul previ per tal de poder realitzar una tasca de manera òptima (Chafee & Goldman-Rakic, 1998). El CPF, en concret la seva part medial, juga un rol crucial en les capacitats mnemòniques com la formació de la memòria, la consolidació, la recuperació de la memòria, així com també modula funcions emocionals i motores (Uylings et al., 2003). Vieira i els seus col·laboradors (2015) van utilitzar un constructe viral per a suprimir la subunitat NR1 dels receptors NMDA a fi de demostrar la importància dels NMDAr ubicats al CPFm en l'extinció. Els ratolins els quals tenien la subunitat NR1 mostraven problemes de flexibilitat cognitiva (Vieira et al., 2015).

Experiments neuropsicològics en humans també han permès conèixer la implicació del CPF en diverses funcions, per exemple la lesió de la zona orbitofrontal comporta canvis dràstics en la personalitat com pot ser un augment de la conducta de risc, de la impulsivitat o de la desinhibició, essent el cas més cèlebre el del treballador ferroviari Phineas Gage (Fuster, 1997). Les lesions al CPF lateral, d'altra banda, comporten incapacitat de planificació i d'organització en l'espai temporal (Fuster, 2001). Per últim les lesions en el CPF medial han mostrat afectacions en l'atenció i la concentració així com també apatia i desinterès (Dumitriu et al., 2010).

En la present tesi hem posat especialment atenció en el CPL, el qual juga un paper clau en la flexibilitat cognitiva i la inhibició de conductes en el procés de presa de decisions (Van Kerkhof et al., 2013). El CPL està àmpliament interconnectat amb diverses regions cerebrals relacionades amb el reforç demorat i tot i que no es coneix completament la funció del CPL es creu que està relacionada amb la codificació del valor que es dona al reforç (Sackett et al., 2019). A nivell cel·lular, el CPL, va ser una de les primeres regions on es va descriure la potenciació a llarg termini (PLT) fora de l'HPC, i es va observar, en el fascicle que connecta l'HPC amb el CPL (Doyère et al., 1993). Des d'aleshores, també altres estudis han descrit l'existència de PLT en aquesta i altres zones corticals, com per exemple l'escorça somatosensorial (Vickery et

al., 1997; Haul et al., 1999; Jay et al., 1996). Per tant, els fenòmens de plasticitat sinàptica en aquesta regió podrien explicar la seva implicació en els processos d'aprenentatge i memòria (Jay et al. 1996), i les seves connexions amb l'HPC la seva participació en la formació de la memòria relacional (DeVito et al. 2010).

De forma congruent, la disfunció del CPF pot ser la responsable de dèficits observats en diversos trastorns neuropsiquiàtrics com, per exemple, el trastorn per dèficit d'atenció i hiperactivitat (TDAH), la malaltia d'Alzheimer, l'ansietat o l'esquizofrènia (Dalley et al., 2004; Schroeter et al., 2012).

3 SISTEMA GLUTAMATÈRGIC I FUNCIONS COGNITIVES

3.1 EL GLUTAMAT

El glutamat és el neurotransmissor excitador més important del sistema nerviós central (SNC) i, de fet, al voltant del 80-90% de les sinapsis són glutamatèrgiques (Braintenberg & Schüz, 1998). El glutamat participa en diverses funcions cerebrals, ja que és mediador d'informació sensorial, de coordinació motora, d'emocions i cognició, com per exemple de la formació i la recuperació de la memòria (Parkinet al., 2018).

La síntesi del glutamat és un pas en el metabolisme de la glucosa i els aminoàcids. El glutamat és un precursor de l'àcid γ -aminobutíric (GABA) en les neurones GABAèrgiques i de la glutamina en cèl·lules glials; és un component de proteïnes i pèptids, per exemple glutatió (γ -glutamil-cysteinil-glicina), que és una gran defensa contra l'estrès oxidatiu a les cèl·lules. Per tant, totes les cèl·lules del cervell, neuronals i glials, contenen glutamat, que es troba tant en el citosol com en els mitocondris, i tant en els cossos cel·lulars com en els seus processos (Martinez-Hernandez et al., 1977) (veure figura 5).

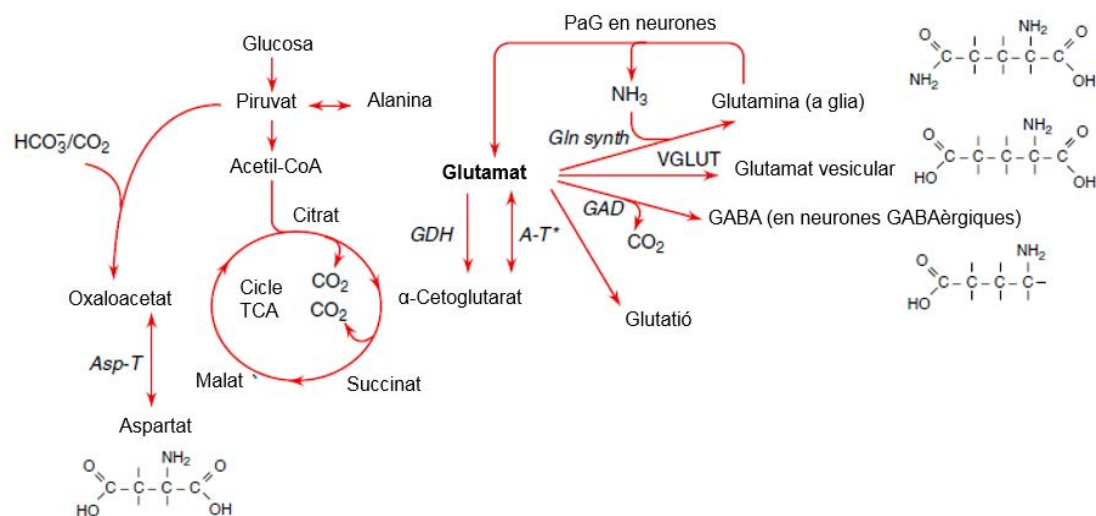


Figura 5: Esquema on es mostra les diferents implicacions del glutamat en reaccions bioquímiques. Des de la seva producció, tan a través de la glucosa com a través de la glutamina, i les substàncies que se'n deriven. Asp-T= Aspartat Transaminassa; GDH: Glutamat Deshidrogenassa; PaG= glutaminasa fosforilada; GlnSynth: Glutamina sintetasa. Figura adaptada de *Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular and Medical Aspects; 7th edition*

El glutamat es forma a partir de la glucosa, la qual després de ser oxidada esdevé dues molècules de piruvat. Aquest àcid és descarboxilat a la matriu del mitocondri pel complex enzimàtic piruvat deshidrogenasa produint CO_2 i acetil-CoA el qual intervé en les vies catabòliques del cicle de Krebs on esdevé α -cetoglutarat. L' α -cetoglutarat constitueix l'estructura del carboni del glutamat. El grup amino deriva d'un altre aminoàcid, que després de la donació del seu grup amino es converteix en un cetoàcid o un aldehyd. Aquest donant d'amino pot ser aspartat, GABA, alanina o algun altre aminoàcid. El glutamat participa en moltes reaccions bioquímiques: a les cèl·lules gials es converteix, per acció de l'enzim glutamina sintetasa, en glutamina, la qual si és transportada al terminal pre-sinàptic pot tornar a esdevenir glutamat mitjançant l'acció de l'enzim glutaminasa (Shen et al., 1999).

En les neurones glutamatèrgiques, el glutamat es concentra en vesícules sinàptiques on hi arriba a través dels transportadors de glutamat anomenats VGLUT, uns complexos proteics que actuen com a bomba de protons emmagatzemant el neurotransmissor en vesícules sinàptiques perquè puguin

alliberar-se a la sinapsi. De VGLUT n'hi ha tres tipus, els VGLUT1, VGLUT2 (els quals podem trobar en diferents tipus de neurones glutamatèrgiques i en astròcits) i VGLUT3 (els quals poden ser localitzats en neurones GABAèrgiques, monoaminèrgiques i colinèrgiques). Un cop s'ha alliberat el glutamat en la sinapsi es finalitza la amb els transportadors EAAT dels quals n'hi ha cinc tipus, els EAAT1 els trobem en astròcits, són abundants en el cerebel però també presents en el prosencèfal, els EAAT2 són el principal transportador en el prosencèfal, els EAAT3 els podem trobar en neurones de tot el cervell així com també de forma presinàptica en terminals GABAèrgics, els EAAT4 són abundants en el cerebel, a les dendrites de les neurones de Purkinje i finalment els EAAT5 els trobem a la retina (Parkin et al., 2018; Meldrum, 2000).

L'absorció del glutamat es produeix contra el seu gradient de concentració i, per tant, necessita una força motriu, que es subministra principalment pel gradient electroquímico del Na^+ a través de la membrana plasmàtica. El glutamat entra a les cèl·lules juntament amb tres ions de Na^+ i un protó; i un ió de K^+ es contra-transportat (Danbolt et al., 2016). L'absorció del glutamat és, per tant, elèctrica, donant lloc a un moviment net de càrrega positiva a través de la membrana plasmàtica. Un cop a la glia, el glutamat absorbit es converteix en glutamina mitjançant l'acció de l'enzim glutamina sintetasa, la qual, com s'ha comentat en anteriors paràgrafs, pot tornar a esdevenir glutamat mitjançant la glutaminasa fosforilada (Whiting et al., 1999).

3.2 ELS RECEPTORS DEL GLUTAMAT

Existeixen dos tipus de receptors del glutamat, els ionotròpics i els metabotròpics. Els receptors ionotròpics estan acoblats a canals iònics els quals desencadenen respostes elèctriques ràpides, i se n'han caracteritzat tres tipus: NMDAr, AMPAr i Kainatr. Pel que fa als receptors metabotròpics, acoblats a proteïnes G, podem també distingir-ne tres classes (Veure figura 6).

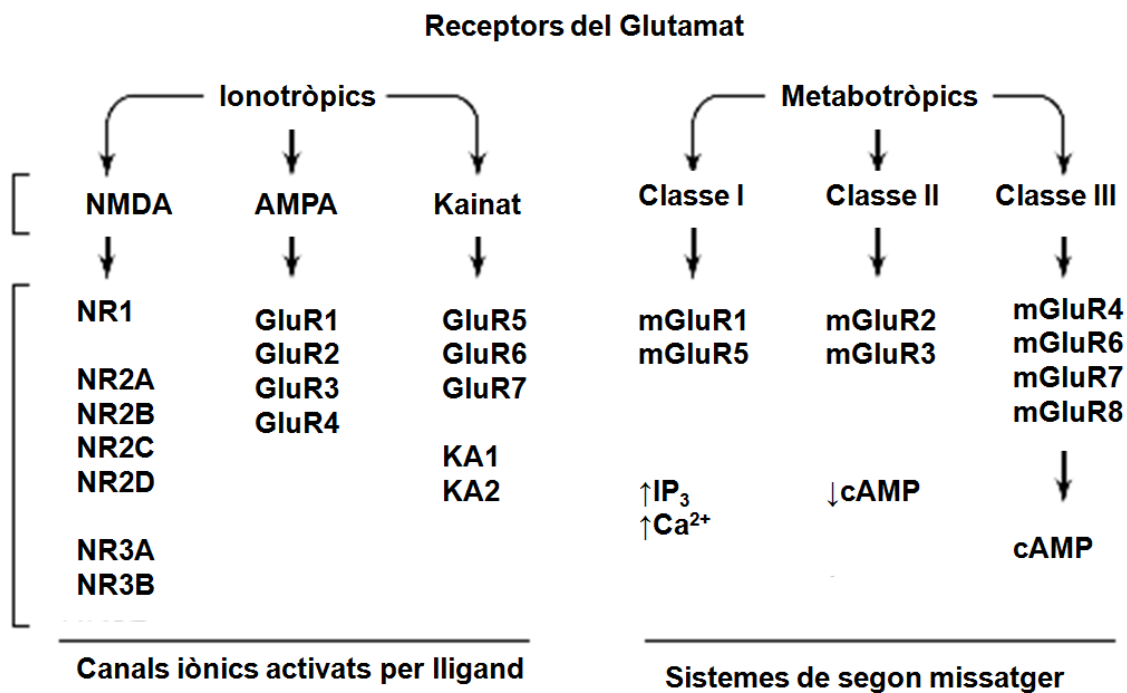


Figura 6: Família molecular dels receptors del Glutamat. Cada família es divideix en tres classes i aquestes en diversos grups els quals exerceixen diferents funcions, es distribueixen de forma diferent pel SN i són codificats per diferents gens.

Pel que fa al NMDAr, és un heterotetràmer que conté dues subunitats; la subunitat NR1, la qual és necessària per a la funció de canal i la NR2, la qual afecta les característiques biofísiques i farmacològiques del NMDAr (Lynch i Guttman, 2001). En unes condicions on el potencial de membrana estigui en repòs, el canal NMDAr està bloquejat per un ió de Mg^{2+} . Per a que el canal estigui lliure és necessari que es doni una despolarització. Dins del canal es troba un lloc d'unió per a anestèsics dissociatius (p. ex., ketamina, MK-801), que actuen com a antagonistes no competitiu dependents de l'ús. A part del lloc de reconeixement del glutamat, a la subunitat NR1 hi ha un espai on s'hi uneix el coagonista glicina (lloc modulador de la glicina, GMS), que ha d'estar ocupat per la glicina per obrir el canal (Berger et al., 1998). El NMDAr obert permet l'entrada de Ca^{2+} , que activa una cascada d'enzims que afecten la bioquímica de la plasticitat sinàptica local i els processos d'expressió gènica (Hong et al., 2004). L'activació perllongada del NMDAr pot causar proliferació d'espines dendrítiques i també tenir efectes tròfics en neurones postsinàptiques (Lladó et al., 1999).

A l'hora de dissenyar tractaments per a la potenciació de l'aprenentatge i la memòria, els NMDAr es consideren centrals pels mecanismes de plasticitat sinàptica (Liu et al., 2004). Durant la inducció de PLT, les sinapsis excitadores convergents causen una robusta despolarització sinàptica, l'entrada de Ca^{2+} a través dels NMDAr i regulació a l'alça persistent de la funció AMPAr (Malenka, 2003). Per contra, l'activació excessiva dels NMDAr pot provocar estrès oxidatiu i mort neuronal (Coyle et al., 2002). No obstant, les propietats d'aquests receptors ens permeten actuar-hi a través de la seva modulació indirecta a fi d'evitar la ja esmentada mort neuronal per activació excessiva, i una de les vies pot ser mitjançant agonistes parcials com és el cas de la d-cicloserina (DCS) (de la qual en parlarem amb més profunditat en apartats posteriors), que s'acobla al lloc d'unió de la glicina actuant com agonista parcial i facilitant els processos de PLT .

També es pot enfortir la funció dels NMDAr mitjançant la potenciació d'altres receptors glutamatèrgics, ja que tant la potenciació dels AMPAr com la dels receptors metabotròpics potencien la inducció de la PLT (Knafo et al., 2012). Finalment, i com hem comentat en apartats anteriors, existeix una connexió entre els diferents sistemes de neurotransmissió, així doncs es pot modular la funció dels NMDAr a través de fàrmacs GABAèrgics, colinèrgics o dopaminèrgics (Rosi et al., 2004; Furth et al., 2013).

Pel que fa els AMPAr, són canals activats per glutamat i permeables al K^+ i al Na^+ . A diferència dels NMDAr, no necessiten d'un coagonista per a ser activats. Els AMPAr són heterotetràmers formats per quatre subunitats (GluR1, GluR2, GluR3 i GluR4). Es considera habitualment que en un AMPAr podem trobar dues subunitats diferents estequiomètricament associades. Cadascuna d'aquestes subunitats està constituïda d'una cua aminoterminal extracel·lular, de tres dominis transmembrana, d'una seqüència hidrofòbica que constitueix el canal i d'una seqüència c-terminal citosòlica. La part extracel·lular del receptor es subdivideix en dos dominis, el lligand i el domini n-terminal.

Els AMPAr proporcionen l'entorn de despolarització necessari per alliberar el Mg^{2+} dels canals NMDAr i facilitar-ne l'obertura. Per tant, podem dir que els AMPAr controlen l'activació dels NMDAr a més a més de desencadenar l'activació de cascades neuroprotectores intracel·lulars a través de la família de proteïnes kinassa Src (Hayashi, et al., 1999). Una propietat característica dels moduladors AMPA es que poden induir l'alliberació del factor neurotròfic derivat del cervell (BDNF) i facilitar l'activitat dels NMDAr a través del circuit de retroalimentació BDNF-NMDAr (Georgiev et al., 2008).

Els AMPAr són receptors crítics en una transmissió glutamatèrgica normal i la seva disfunció està relacionada amb diverses malalties mentals (Dingledine et al., 1999). Els moduladors positius estableixen el receptor AMPA en el seu estat de canal obert després de la unió del glutamat, i per tant, perllonguen el flux de corrent a través de la cadena, augmentant així la resposta sinàptica (Granger et al. 1993). Aquest efecte augmenta l'acció del glutamat i evita els efectes excitotòxics causa d'una activació directa i sostinguda del receptor NMDA (Yamada & Nabeshima, 2000). A més, diversos moduladors positius d'AMPA han demostrat una capacitat distintiva per augmentar la LTP en l'hipocamp in vivo en rosegadors, i posseeixen propietats pro-cognitives en diverses tasques de comportament en rosegadors i primats (Lepagnol et al. 1997; Zivkovic et al., 1995; Buccafusco et al. 2004; Beracochea et al. 2007).

En el present treball ens hem centrat en la modulació positiva dels AMPAr, ja que podrien ser una diana terapèutica per al desenvolupament de fàrmacs que reverteixin dèficits mnemònics (Lynch, 2006; Staubli et al., 1994)

3.3 MODULACIÓ DELS RECEPTORS NMDA: LA D-CICLOSERINA

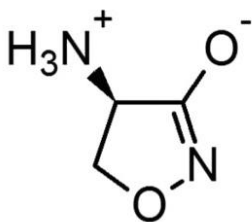


Figura 7: Estructura química de la d-cicloserina

La d-cicloserina (DCS) (figura 7) fou descoberta l'any 1955 amb l'objectiu de combatre les soques més resistents de *Mycobacterium Tuberculosis* (Cavazos-Guzmán & Carrillo-Arriaga, 2009). La DCS és, doncs, un antibiòtic produït per soques d'*Streptomyces orchidaceus* que fou usat inicialment com a tractament de la

tuberculosi i d'altres infeccions. Durant el seu ús van observar-se canvis cognitius en els pacients, fet que va conduir a estudiar els possibles efectes d'aquest fàrmac sobre les funcions cognitives. La DCS és un agonista parcial dels NMDAr (veure figura 8) que actua al lloc d'unió de la glicina potenciant l'activitat glutamatèrgica de manera substancial (Hood et al., 1989; Normann & Berger, 2008). Recentment s'ha descrit una major afinitat de la DCS pels receptors NMDA compostos per les subunitats NR1 i NR2C. Malgrat que els NMDAr amb subunitats NR2C es localitzen majoritàriament al cerebel, també han estat descrits al CPF (Karavanova et al., 2007). El fet que es tracti d'un agonista parcial ha fet que sigui un dels fàrmacs més utilitzats en models animals de dèficit cognitiu o en estudis preclínics en humans ja que redueix els possibles efectes citotòxics que tenen els agonistes directes (Monahan et al. 1989). Així doncs, diverses investigacions han treballat amb aquest fàrmac a fi d'estudiar els possibles efectes terapèutics en diverses malalties. Així, la DCS ha estat testada, tot i que sense gaire èxit, en el tractament dels símptomes negatius de l'esquizofrènia (Goff, 2012) i de manera conjunta amb teràpia cognitiva en el tractament de trastorns d'ansietat (Hofmann et al., 2015), trastorn obsessiu compulsiu (TOC) (Davis, 2011) o anorèxia (Steinglass et al., 2007), obtenint en aquests darrers casos resultats positius ja que l'administració de DCS propiciava un augment de la rapidesa i efectivitat de la teràpia psicològica.

D'altra banda, la DCS sembla millorar els dèficits d'aprenentatge fruit del procés d'envelliment tant administrada sistèmicament (Baxter et al., 1994) com directament a l'HPC (Portero-Tresserra et al., 2018) (veure taula 1). S'ha pogut comprovar que la DCS disminueix els efectes perjudicials de l'estrès sobre l'aprenentatge (Yamamoto et al., 2008) i potencia la flexibilitat cognitiva en animals estressats més que no pas en animals controls (George et al., 2018), així com també millora les dificultats en l'adquisició i l'extinció del condicionament de por produïts per la privació de son (Silvestri & Root, 2008). A més, al nostre laboratori hem observat com l'administració de DCS al CPL també sembla reduir el dèficit amnèsic induït per SCOP (Portero-Tresserra et al., 2013) i per la lesió del PFn (Villarejo-Rodríguez et al., 2013) en tasques de memòria olfactiva. En una investigació similar, també es demostrà com la

infusió de DCS prevenia els dèficits de memòria relacional i la supressió dels processos de PLT causats per l'administració d'SCOP (Portero-Tresserra et al., 2014). A més a més s'ha observat que la infusió d'aquesta substància a l'HPC podria millorar els dèficits produïts per la injecció intraperitoneal de MK-801 a la adquisició d'una tasca de memòria espacial (Kawabe et al., 1998). Estudis preclínic en humans mostren que la DCS, combinada amb teràpies conductuals d'exposició, podria constituir un tractament eficaç dels trastorns d'ansietat (Hofmann et al., 2013), ja que millora l'aprenentatge d'extinció de la resposta de por (Vervilet, 2008).

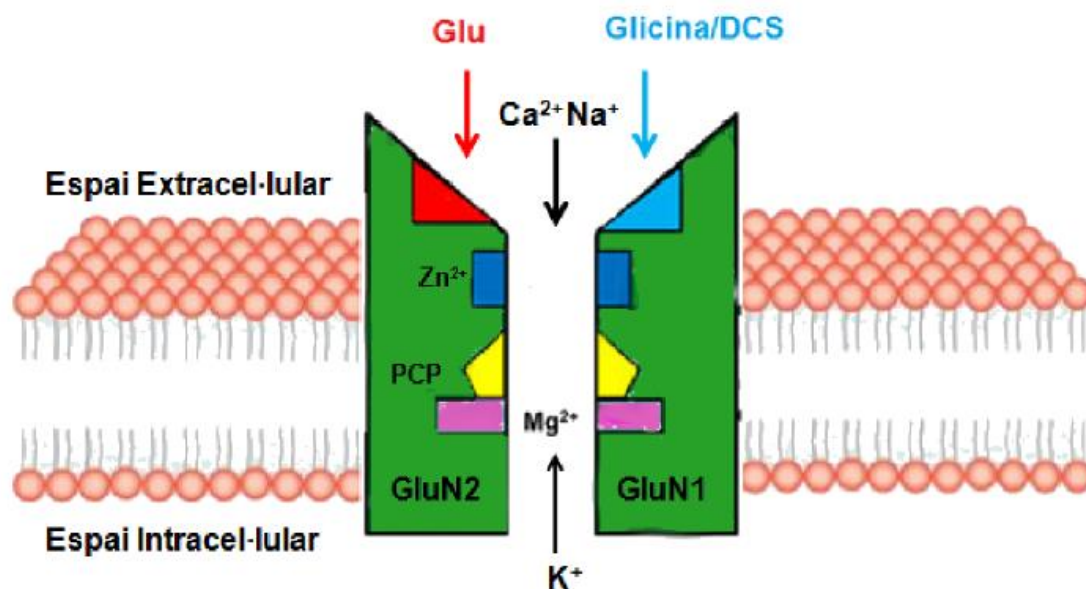


Figura 8: Esquema del NMDAr activat i els seus llocs d'unió de diferents substàncies. L'agonista DCS s'uneix al lloc d'unió de la glicina dins de la subunitat 1 del NMDAr

La majoria de treballs que han investigat els efectes de l'administració de DCS ho han fet mitjançant paradigmes aversius, principalment en el condicionament de la por i de l'aversió pel lloc, mostrant que l'administració de DCS abans i després de l'entrenament pot facilitar l'aprenentatge d'extinció i la consolidació de la nova traça de memòria d'aquests paradigmes (Pre-entrenament: Bouton et al. 2008; Langton & Richardson 2008; Lin et al. 2010; Myers & Carlezon 2010; Woods & Bouton 2006; Yamamoto et al. 2008; Yang et al. 2007; Lehner et al. 2010; Post-entrenament: Ledgerwood et al. 2005; Vervilet 2008; Weber et al. 2007; Gupta et al. 2013). Un menor nombre d'estudis ha investigat els

efectes de la DCS en tasques apetitives, i només s'han determinat en experiments que impliquen l'administració de substàncies addictives. Aquestes investigacions han observat que quan l'administració es realitza post-extinció, es produeix una millora en la consolidació de la mateixa (Kelley et al., 2007; Paolone et al., 2009). En canvi, quan l'administració es realitza abans de l'entrenament els resultats són més controvertits, ja que en algunes investigacions la DCS pre-entrenament potencia l'aprenentatge de l'extinció (Vengeliene et al., 2008), mentre que en d'altres no causa cap efecte (Vurbic et al. 2011) o bé, fins i tot, el dificulta (Port & Seybold 1998). Aquestes diferències es podrien explicar per la durada i quantitat d'assajos realitzats durant l'entrenament d'extinció, ja que si el nombre d'assajos és breu, el procés que es podria activar és el de reconsolidació.

Pel que fa a els efectes de la DCS sobre la MT, existeixen pocs estudis, tot i que alguns en humans mostren com l'administració sistèmica en adults sans no l'afecta (Forsyth et al., 2015) mentre que millora l'execució de tasques de MT en pacients esquizofrènics (Forsyth et al., 2017). Fins ara, la majoria dels estudis en aquesta línia s'han centrat en els efectes de la DCS aguda en diferents processos de memòria. En un d'ells, la DCS va millorar el rendiment de les tasques sense demora i de resposta diferida en rates joves quan es van administrar 30 minuts abans de la prova (Pussinen i Sirviö, 1999). A més, s'ha demostrat que una dosi sistèmica única de DCS administrada abans de la prova de MT va millorar-ne la capacitat en humans adults (Kuriyama et al., 2011). Micklei i els seus col·laboradors (2012) van mostrar que l'administració sistèmica aguda, però no crònica, de DCS 30 minuts després d'una sessió d'extinció facilitava l'aprenentatge de l'extinció en rates joves. A més, s'ha demostrat que la infusió intra-HPC aguda de DCS millora els dèficits induïts per SCOP en la MT (Ohno i Watanabe, 1996).

Tenint en consideració el mecanisme d'acció de la DCS, altres funcions dependents del CPF poden beneficiar-se dels seus efectes. Una d'aquestes funcions és la de la flexibilitat cognitiva, descrita com l'habilitat per a trobar diferents alternatives a l'hora de buscar un resultat i alternar entre diferents

critèris d'actuació que poden ser necessaris per respondre a demandes canviants d'una tasca o situació.

MODELS ANIMALS			
Condicionament de la resposta de por associada a un estímul			
MOMENT	ÀREA/ADMINISTRACIÓ	EFFECTE	AUTORS
30' pre 20' pre	Sistèmica BLA	↑ extinció	Walker et al., 2002
15' pre	sistèmica	↑ extinció = renovació	Woods & Bouton 2006
30' pre 20' pre 20' pre	BLA sistèmica BLA	↑ extinció ↑ extinció ↑ reconsolidació	Mao et al., 2006 Lee, Milton & Everit, 2006
15' pre	Sistèmica (+ metirapona)	↑ extinció	Yang et al., 2007
Immed. pre	sistèmica	↑ extinció = re extinció	Langton & Richardson 2008
30' pre	sistèmica	↑ extinció	Lin et al., 2010
Immed. post	sistèmica	↑ extinció = Reaprenentatge ↑ Generalització	Ledgerwood et al. 2005
Immed. post Immed. pre i post 2 o 28 dies pre	sistèmica	↑ extinció = extinció ↑ extinció = extinció	Parnas et al. 2005
Immed. post	sistèmica	↑ extinció = reextinció	Weber et al. 2007
30' pre 10' post 24h post	sistèmica	↑ reconsolidació ↑ extinció ↑ extinció	Bustos et al. 2010
Immed. pre	sistèmica	= extinció	Langton & Richardson 2010
Immed. post	sistèmica	↑ retenció extinció	McCallum et al. 2010
40' pre Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Toth et al. 2012
20' pre	sistèmica	↑ extinció en animals estressats ↓ extinció en animals no estressats	Saito et al. 2012
10' pre	HPC	↑ extinció ↑ NMDAr 2B al HPC	Ren et al. 2013

15' pre	sistèmica	↑ extinció	Saridogan et al., 2015
post	sistèmica	↑ extinció	Backer et al., 2018
Condicionament de la resposta de por associada al context			
15' pre	sistèmica	↑ extinció	Bouton et al., 2008
Immed. pre	sistèmica	↑ extinció	Myers & Carlezon 2009
15' pre	Sistèmic/BLA	↑ reconsolidació	Yamada et al., 2009
30' pre	BLA	↑ extinció	
Immed. post	BLA	Reverteix dèficit en extinció per estrès	Akirav et al., 2009
6 dies durant	sistèmica	Reverteix dèficit en extinció per estrès Reverteix ↑ NMDAr a l'HPC	Yamamoto et al., 2008
Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Berlotto et al., 2010
30' pre	sistèmica	↑ extinció ↑ GABA a BLA	Lehner et al., 2010
Immed. post	sistèmica	↑ extinció ↑ pERK al CPFm	Gupta et al., 2013
5' pre	BLA	↓ freezing	Sugiyama et al., 2018
pre	sistèmica	↑ extinció	Sugiyama et al., 2019
Pre Post	sistèmica	↑ extinció	Graham & Scott, 2018
30' pre	HPC	↑ extinció	Malan-Müller et al., 2016
post	sistèmica	↑ reconsolidació	Saitho et al., 2017
Preferència pel lloc associat amb alcohol/cocaïna/morfina o autoadministració			
60' pre	sistèmica	↑ extinció	Vengeliene et al., 2008
Immed. Pre	sistèmica	= extinció	Grolewski et al., 2009
Durant		↓ recondicionament	
30' pre	sistèmica	↑ extinció	Nic Dhonnchadha et al., 2009
Immed. post		↓ recondicionament	
Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Kelley et al., 2007
Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Paolone et al., 2009
Immed. post	Sistèmica BLA	↑ extinció	Botreau et al., 2006

Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Thanos et al., 2009
20' pre	BLA	↑ reconsolidació	Lee et al., 2009
Immed. pre	sistèmica	↑ extinció	Myers & Carlezon, 2010
Immed. post	Sistèmica Acc BLA, HPC, CPL	↑ extinció ↑ extinció = extinció	Torregrossa et al., 2010
Immed. post	CIL	= extinció	Chang & Maren, 2011
20' pre	sistèmica	= extinció	Lu et al., 2011
Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Thanos et al., 2011
24h post	sistèmica	↑ extinció	Karel et al., 2018
Immed. post	sistèmica	↑ extinció	Yang et al., 2013
Conducta reforçada amb menjar / sucrosa			
Immed. Post	sistèmica	↑ extinció	Shaw et al., 2009
60' pre	sistèmica	= extinció	Flavell et al., 2011
30' pre	sistèmica	↓ extinció	Port & Seybold, 1998
15' pre	sistèmica	= extinció	Vurbic et al., 2011
Immed. Post	sistèmica	↑ extinció	Leslie et al., 2012
Immed. Post	CIL	↑ extinció	Peters & De Vries, 2013
Conducta d'aversiò al menjar			
Immed. Post	Amigdala	= extinció	Akirav et al., 2009
Immed. Post	sistèmica	↑ extinció ↓ recuperació espontània	Mickley et al., 2012
Immed. Post	sistèmica	↑ extinció	Sharp et al., 2017
Efectes de la DCS per revertir dèficits induïts			

MANIPULACIÓ	ADMINISTRACIÓ DCS	EFFECTE	AUTORS
Laberint aquàtic de Morris			
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Temple & Hamm, 1996
Lesió de l'àrea septal medial	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Riekkinen et al., 1998a,b
Lidocaïna al HPCd	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Riekkinen et al., 1999
Exposició al toluè	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Win-Shwe et al.,

		↑ NMDAr 2A A l'HPC	2010
KO per GluD1	Sistèmica 30' pre	Reversió del dèficit	Yadav et al., 2013
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica cada 12h	Reversió del dèficit	Sta Maria et al., 2017
Envelliment	HPCv 20' pre	Reversió del dèficit ↑ sinaptofisina	Portero-Tresserra et al., 2018
Laberint radial			
Lesio HPC	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Schuster & Schmidt, 1992
MK-801 sistèmica	HPC pre	Reversió del dèficit	Kawabe et al., 1998
Lesió a l'escorça entorrinal	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Zajaczkowski & Danysz, 1997
Memòria de treball			
Interleuquina β a l'HPC	HPC pre	Reversió del dèficit	Matsumoto et al., 2001
AIDA intra-HPC	HPC pre	Reversió del dèficit	Ohno & Watanabe, 1998
KO per GluD1	Sistèmica 30' pre	Reversió del dèficit	Yadav et al., 2013
Reconeixement d'objectes			
Estrès agut	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Kart-Teke et al., 2006
Isquèmia	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Dhawan et al., 2011
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Yaka et al., 2007
Estrès agut	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Philbert et al., 2013
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica cada 12h	Reversió del dèficit	Sta Maria et al., 2017
Tasques de condicionament			
Muscimol intra-amigdala	Amigdala post	Reversió del dèficit	Akirav, 2007
Estrès agut	Sistèmica pre	Reversió del dèficit en ♀ ↑ retenció en ♂	Waddell et al., 2010
Privació de son REM	Sistèmica pre	Reversió del dèficit	Silvestri et al., 2008
Estrès postnatal	Sistèmica pre/post	Reversió del dèficit	Judo et al., 2010
Exposició endotoxina	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Kranjac et al., 2013

KO per GluD1	Sistèmica pre	Reversió del dèficit de conducta social	Yadav et al., 2012
KO per GluD1	Sistèmica pre	Reversió del dèficit condicionament de la por	Yadav et al., 2013
Estrès	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Whittle et al., 2013
MK-801 sistèmica	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Vishnoi et al., 2015
ovariectomització	Sistèmica pre i post	Reversió del dèficit	Graham & Scott, 2018

Tasca de discriminació visual / olfactiva

MK-801 sistèmica HA-966 sistèmica	Intramuscular pre	Reversió del dèficit	Matsuoka et al., 1996 Villarejo-Rodriguez et al., 2013
Lesió PFn	CPL pre	Reversió del dèficit	Postero-Tresserra et al., 2013
SCOP CPL post	CPL pre	Reversió del dèficit	Postero-Tresserra et al., 2013

Escala de severitat neurològica

Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post	Reversió del dèficit	Adeleye et al., 2010
---------------------------	----------------	----------------------	----------------------

TERÀPIES EN HUMANS

Fòbies

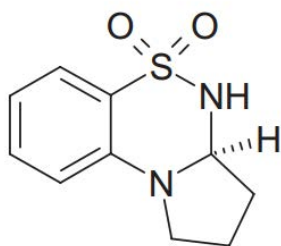
MOMENT	RESULTATS	AUTORS
2 h pre Pre i post	↑ teràpia d'exposició (acrofòbia) Manteniment de la millora als 3 mesos = tractament aracnofòbia	Ressler et al., 2004
1h pre	↑ tractament fòbia social	Guastella et al., 2007a
2h pre	= extinció de la por condicionada	Hofmann et al., 2006
1h pre	= extinció de la por condicionada	Guastella et al., 2007b
1h pre	↑ teràpia en en transtorn de pànic	Klumpers et al., 2012
1h pre	↑ activació CPF ventromedial, orbitofrontal i cingulat anterior	Otto et al., 2009
1h pre	↑ activació CPF ventromedial, orbitofrontal i cingulat anterior	Nave et al., 2012
Post		Smits et al., 2013
Post	= tractament aracnofòbia	Tart et al., 2013

TEPT / TOC

30' pre	= extinció ↑ simptomatologia ↑ tractament	Litz et al., 2012
30' pre	= extinció ↑ simptomatologia ↑ tractament	Choi et al., 2010
30' pre	= extinció	Rothbaum et al., 2014
1h pre	↑ tractament	De Leeuw et al., 2017
1h pre	↑ tractament	Storch et al., 2010
2h pre	↑ tractament	Kushner et al., 2007
Dependència a drogues		
2h pre	= extinció en dependència a l'alcohol	Watson et al., 2011
15' pre	= extinció en dependència a la cocaïna ↑ <i>craving</i>	Prisciandaro et al., 2013
1h pre	↑ en el tractament de la dependència a la nicotina	Santa Ana et al., 2009
15' pre	= extinció en dependència a la cocaïna	Price et al., 2009
15' pre	↑ <i>craving</i>	Price et al., 2012
1h pre	= tractament teràpia cognitiva conductual per síndrome d'abstinència a la cocaïna	Kennedy et al., 2012
30' pre	= extinció en dependència a la cocaïna	Santa Ana et al., 2015
1h pre	↑ extinció en dependència a l'alcohol	Kiefer et al., 2015

Taula 1: Efectes de l'administració sistèmica i intracerebral de DCS en la millora de la memòria. Abreviatures: ↑: Augment, ↓: Disminució, pre: abans de l'aprenentatge.

3.4 MODULACIÓ DELS RECEPTORS AMPA: el compost S-18986



La substància (S)-2,3-dihidro-[3,4]-ciclopenta-1,2,4-benzotriazina-1,1-dioxid (S-18986) (figura 9) és un modulador al·lostèric positiu dels receptors AMPA del glutamat, i es considera una *ampaquina*, és a dir, un compost noòtròpic que interactua fortament amb els AMPAr i presenta una possible capacitat per millorar funcions

Figura 9: Estructura química de (S)-2,3-dihidro-[3,4]-ciclopenta-1,2,4-benzotriazina-1,1-dioxid. Les ampaquines són fàrmacs que potencien els corrents glutamatèrgics a través dels AMPAr, i des dels anys 60 van identificar-se nombrosos compostos amb la finalitat d'alentir el declivi cognitiu per efecte de l'edat entre els quals van destacar el Piracetam i d'altres derivats com per exemple l'aniracetam (Moose

et al., 1988; Frostl & Maitre, 1989). Aquests fàrmacs semblaven tenir efectes de potenciació cognitiva en experiments amb animals però eren efectes bastant modestos (Nakamura, 2006). No obstant, les ampaquines es caracteritzen per facilitar l'aprenentatge en molts paradigmes, incloent la discriminació per olors (Larson et al., 1995), i millorar la memòria a curt termini en la tasca *Non matching to sample* (NMTS) (Hampson et al., 1998). Donats els potencials resultats s'ha seguit estudiant aquest tipus de compostos millorant notablement la seva potència i eficàcia i notant diferències entre els diferents compostos. Així, mentre que totes les ampakines faciliten la PLT, no totes faciliten la depressió a llarg termini com si que ho fa la CX546 (A. C. Arai, 2002). També s'ha observat que els efectes de les ampakines varien substancialment en els diferents tipus neuronals, ja els increments dels potencials excitadors postsinàptics (PEPs) són més grans en les cèl·lules piramidals de CA1 que no pas en el tàlem o en les interneurons de l'hipocamp (A. Arai & Kessler, 2007). Una altra de les ampakines sorgides d'aquesta recerca fou la substància S18986, la qual sembla produir efectes potenciadors sobre les funcions cognitives administrada oral o intraperitonealment en diverses tasques d'aprenentatge (veure taula 3), com ara el reconeixement d'objectes (Bertaina-Anglade et al., 2007; Lebrun et al., 2000), la discriminació contextual seriada en animals de mitjana edat (Béracochéa et al., 2007) i en tasques operants d'alternació demorada (Kelly et al., 2009).

El primer estudi que va demostrar el seu efecte intracerebral va ser un treball del nostre laboratori (Yefimenko et al.; 2013), on s'observava que l'S18986 administrat al CPL 10 minuts abans de l'adquisició de la tasca d'aprenentatge DSO, disminuïa les latències de resposta i el nombre d'errors. A més a més, s'ha observat la capacitat de la S18986 de revertir alguns dèficits en rates envellides, ja que la seva administració crònica via oral augmenta l'activitat motora en el laberint en Y, així com retarda el declivi de les neurones colinèrgiques prosencefàliques i les dopaminèrgiques mesencèfàliques (Bloss., 2008). També ha estat capaç de revertir dèficits de memòria i s'observa que l'administració sistèmica alleugereix l'amnèsia, induïda per SCOP, en tasques de discriminació espacial i evitació passiva en rates joves (Bernard et al., 2010;

Rosi et al., 2004). Per altra banda, s'ha descrit el seu efecte neuroprotector en ser administrada de manera crònica o aguda en ratolins amb lesions intracerebrals induïdes per l'administració de NMDA (Dicou et al., 2003).

Diversos estudis han suggerit els possibles mecanismes d'acció de l'S18986 subjacents a la potenciació dels processos cognitius, ja que s'ha demostrat que l'administració oral augmenta la inducció i el manteniment de la PLT a l'HPC i el CPF (Bernard et al., 2010) i l'expressió de factors neurotròfics, com el BDNF tant *in vivo* com *in vitro* (B. P. Lockhart et al., 2007). D'altra banda, s'ha suggerit que l'S18986 podria modular les funcions cognitives en actuar sobre d'altres sistemes de neurotransmissió, doncs s'ha observat que promou l'alliberació d'ACh a l'HPC i de noradrenalina a l'HPC i al còrtex (Rosi et al., 2004) (veure taula 2).

Tasca	Àrea	Moment	Efecte	Autors
Reconeixement d'objectes	Sistèmica	30/60 min pre i crònica	↑ reconeixement d'objectes	Lebrun et al. 2000
Evitació passiva	Sistèmica	60 min pre	↑ Resposta a l'evitació passiva, ↓ extinció	Rosi et al. 2004
Reconeixement d'objectes	Sistèmica	crònica	↑ Reconeixement d'objectes	Bertaina-Anglade et al. 2007
Discriminació contextual seriada	Sistèmica	crònica	↑ Reconeixement d'objectes	Beracochea et al. 2007
Laberint en Y	Sistèmica	crònica	↑ Memòria espacial	Bloss et al. 2008
Laberint radial	Sistèmica	Crònica	↑ Flexibilitat de memòria declarativa	Marighetto et al. 2008
Reducció del reforç	Sistèmica	Crònica	↑ Execució de la tasca	Kelly et al. 2009
Devaluació seqüencial	Sistèmica	30 min pre	↑ Execució de la tasca en vells = en joves	Vandesquille et al. 2011

Discriminació espacial retardada	Sistèmica	30 min prior	↑ Execució de la tasca	Vandesquille et al. 2011
		Alprazolam		
Discriminació simple d'olors	Intracerebral (CPL)	10 minuts pre	↑ aprenentatge i memòria de DSO	Yefimenko et al. 2013

Taula 2: Efectes de l'administració sistèmica i intracerebral de S18986 en la millora de la memòria. Abreviatures: ↑: Augment, ↓: Disminució, pre: abans de l'aprenentatge.

4 GLUTAMAT I NUCLI PARAFASCICULAR

El tàlem és una estructura diencefàlica de matèria grisa que formen les parets laterals del tercer ventricle, principalment serveix d'estació de relleu i integració de les aferències sensorials i d'eferències motores, així com també de la regulació del son (Vertes et al., 2015).

Al voltant i a l'interior dels dos tàlems es troben les làmines medul·lars, de substància blanca. La làmina medul·lar interna que deixa al descobert els compartiments extramedul·lars (anterior, lateral, posterior i mediodorsal) i intramedul·lar, que inclou els nuclis medial, medial dorsal i centremitjà (veure figura 10). La regió lateral del tàlem està coberta amb la làmina medul·lar externa que està separada de la càpsula interna pel nucli reticular talàmic, mentre que la regió dorsomedial està coberta per l'estrat zonal, incloent el nucli pulvinar (Vertes et al., 2015). A l'interior de la làmina medul·lar interna del tàlem hi trobem els nuclis intralaminars (ILN), els quals es classifiquen en anteriors i posteriors. El grup anterior està format pels nuclis central dorsal, central lateral, central medial i paracentral, mentre que el grup posterior està constituït pel nucli parafascicular (PFn) en els rosegadors o el complex centremitjà-parafascicular (CM-PF) en els primats i altres mamífers (Quiroz-Padilla et al., 2010).

Totes les estructures prosencefàliques que contribueixen a les funcions cognitives reben aferències des del tàlem i aquest selecciona, en funció de la

naturalesa de la informació que rep, subconjunts d'estructures corticals i subcorticals per a dur a terme les accions apropiades per a cada situació. Aquestes connexions funcionals explicarien que les lesions talàmiques alteren un ampli ventall de funcions afectives i cognitives (Vertes et al., 2015).

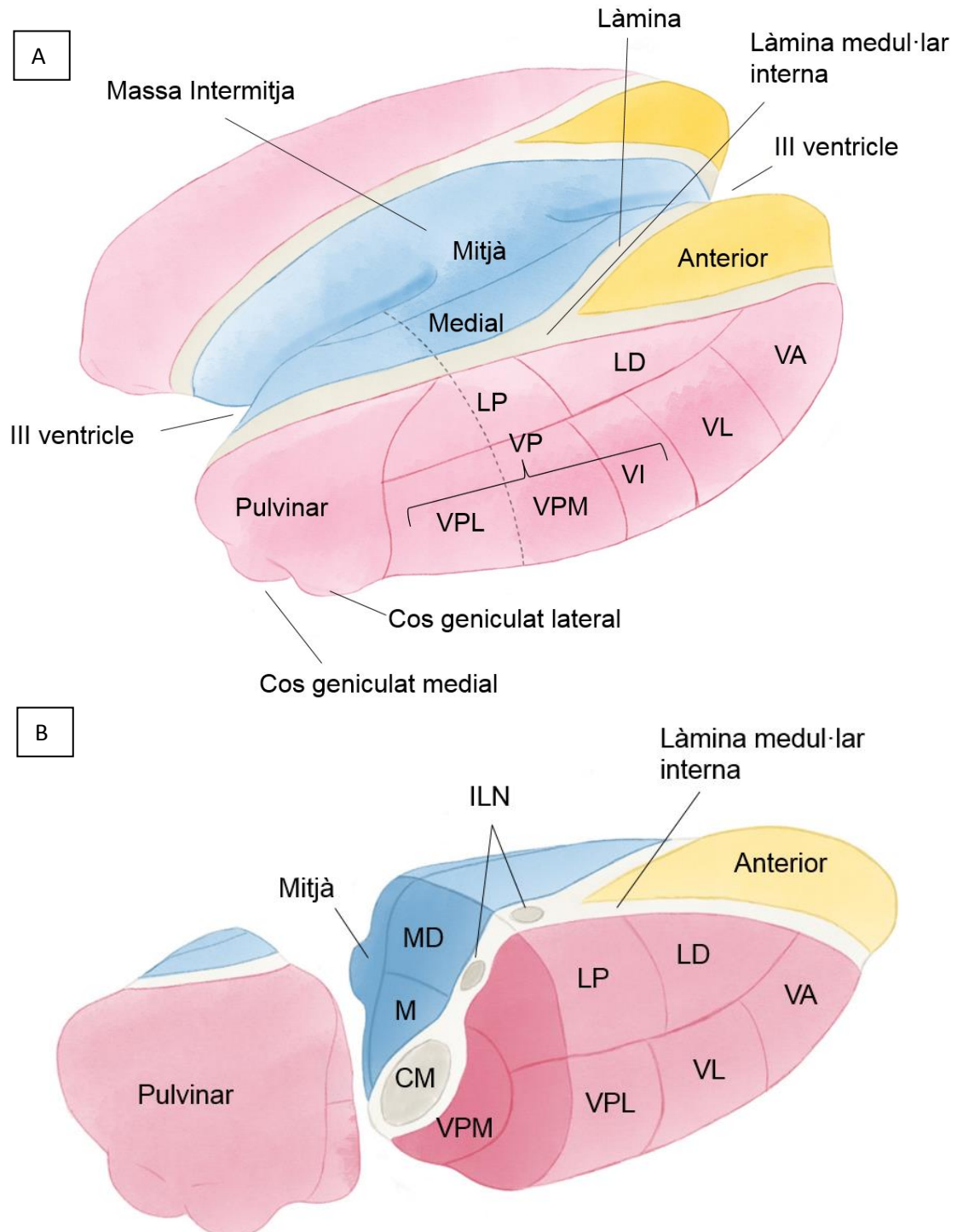


Figura 10: A) Esquema simplificat d'un tàlem humà i les seves regions principals. B) Tall coronal del tàlem. LP: lateral posterior, LD: lateral dorsal, VP: ventral posterior, VPL: ventral

posterolateral; VPM: ventral posteromedial, VI: Ventral intermedial, VL: ventral lateral, VA: ventral anterior, M: medial, MD: medial dorsal, CM, centromitjà, ILN: nuclis intralaminars. (Adaptat de Barrós-Millàs (2017). Potenciació de l'atenció i de la memòria en models animals de dèficit cognitiu per inactivació de nuclis intralaminars del tàlem).

4.1 CITOARQUITECTURA

El PFn està format per una massa gran i rodona de cèl·lules que ocupa la part medial del tàlem. Aquest nucli està travessat per un feix de fibres, el fascicle retroflexus (fr) o habénulo-interpeduncular, que intercomunica els nuclis de l'habènula (HBL) amb estructures del tronc de l'encèfal (Jones, 1985). El fr es troba localitzat medialment al nucli PF dividint-lo en dues regions: el nucli PF lateral (PFI), que es correspondria amb les cèl·lules magno de la part dorsomedial CM dels primats, i el nucli PF medial (PFm), que es correspondria amb la part diferenciada del nucli PF del complex CM-PF dels primats (Marini et al., 1999). Pel que fa a la subdivisió citoarquitectònica del complex CM-PF en humans, constitueix encara un punt de discussió, ja que alguns autors reconeixen dues parts, mentre que altres en distingeixen (Heinsen et al., 1996).

En la rata, el PFn limita dorsalment amb el nucli de l'HBL, els nuclis laterals posteriors del tàlem, el nucli precomisural i l'àrea pretectal; centralment amb el complex parvocel·lular posterior; i lateralment amb el complex nuclear posterior del tàlem (Paxinos i Watson, 1997). En la seva part més rostral, el PFn acaba en punta, formant una petita extensió dins de la làmina medul·lar interna, i limita amb els nuclis CL i mediodorsal. El límit posterior del nucli PF es reconeix més fàcilment en seccions horitzontals i sagitals que en seccions coronals i limita amb el nucli pretectal anterior, la comissura posterior i les estructures mesencefàliques adjacents, formant la regió que marca la frontera mesodiencefàlica

Respecte la citoarquitectura del nucli PF en la rata, els estudis realitzats amb traçadors axonals suggereixen que està format per una única població de neurones que projecten a diferents zones cerebrals. Les projeccions contralaterals del nucli PF es dirigeixen principalment a l'escorça cerebral, l'estriat, al nucli subtalàmic (NST), al nucli reticular talàmic (NRT), al globus

pàl·lid (GP), al col·licle superior (CS) i al nucli entependuncular (Cesaro et al., 1985; Deschênes, 1996; Yasukawa et al., 2004). Morfològicament, aquestes neurones són majoritàriament multipolars, de grandària mitjana, amb un cos en forma poligonal o ovoide d'aproximadament 20 a 25µm de diàmetre, del qual emergeixen de 3 a 7 dendrites, les quals poden arribar a una distància de gairebé 1.5mm. Aquestes cèl·lules es caracteritzen per establir sinapsis amb dendrites o espines dendrítiques, heterogeneïtat sinàptica que encara no està del tot clara (Lacey et al., 2007). Els axons, tant ipsilaterals com contralaterals, presenten una alta densitat de varicositats i botons terminals d'un diàmetre aproximat de 0.5-2µm (Castle et al., 2005; Deschenes et al., 1996; (Vercelli et al., 2003). En el cas dels primats, el complex CM-PF té diferents subpoblacions neuronals que projecten a zones cerebrals de forma específica (Parent & Parent, 2005).

4.2 CONNECTIVITAT

El nucli PF és un component clau dins del sistema reticular activador (Kinomura et al., 1996) i rep projeccions topogràficament organitzades dels ganglis basals, així com també destaca per enviar projeccions glutamatèrgiques importants a l'estriat i, menys massives, al còrtex prefrontal (CPF), especialment a l'escorça infralímbica (CIL), prelímbica (CPL) i cingulada anterior (Sadikot & Rymar, 2009; Quiroz-Padilla et al., 2010). A través d'aquestes projeccions, el PFn forma part del sistema dels ganglis basals-tàlem-cortical, participant en funcions associatives, motores i límbiques (Galvan i Smith, 2011). Els ILN, a diferència d'altres nuclis talàmics, tenen més connexions amb el CPF i, com a conseqüència, les lesions produeixen una pitjor execució en tasques dependents d'aquesta escorça (Bailey & Mair, 2005). En concret, les projeccions glutamatèrgiques des del PFn tenen com a una de les seves dianes principals el CPL, regió que com ja s'ha comentat, s'ha relacionat amb processos atencional i de flexibilitat cognitiva (Passetti et al., 2003; Ragozzino, 2007).

D'altra banda, s'ha vist que el PFm, projecta cap a l'amígdala, l'Acc i el CPF (Ottersen, 1981; Otake & Nakamura, 1998). Estudis realitzats amb primats

mostren que el PFn projecta amb la regió dorsal de l'amígdala, principalment als nuclis central i medial (Sadikot et al., 1992). L'HPC també sembla ser una regió diana del PFn, ja que s'han trobat fibres en el HPC amb origen PFn (Berendse & Groenewegen, 1991) Finalment, en primats s'ha observat que el PFn projecta al NBM (Sadikot et al., 1992a).

Pel que fa a les projeccions del PFI s'ha vist que envien projeccions cap al nucli geniculat lateral, nucli reticular talàmic, el subtàlem, la zona incerta, la substància negra, el nucli vermell, la substància grisa periaqueductal, el col·licle superior, la formació reticular, el nucli del rafe, el nucli pontí i la banya ventral de la medulla espinal (Marini & Tredici, 1995) (figura 11).

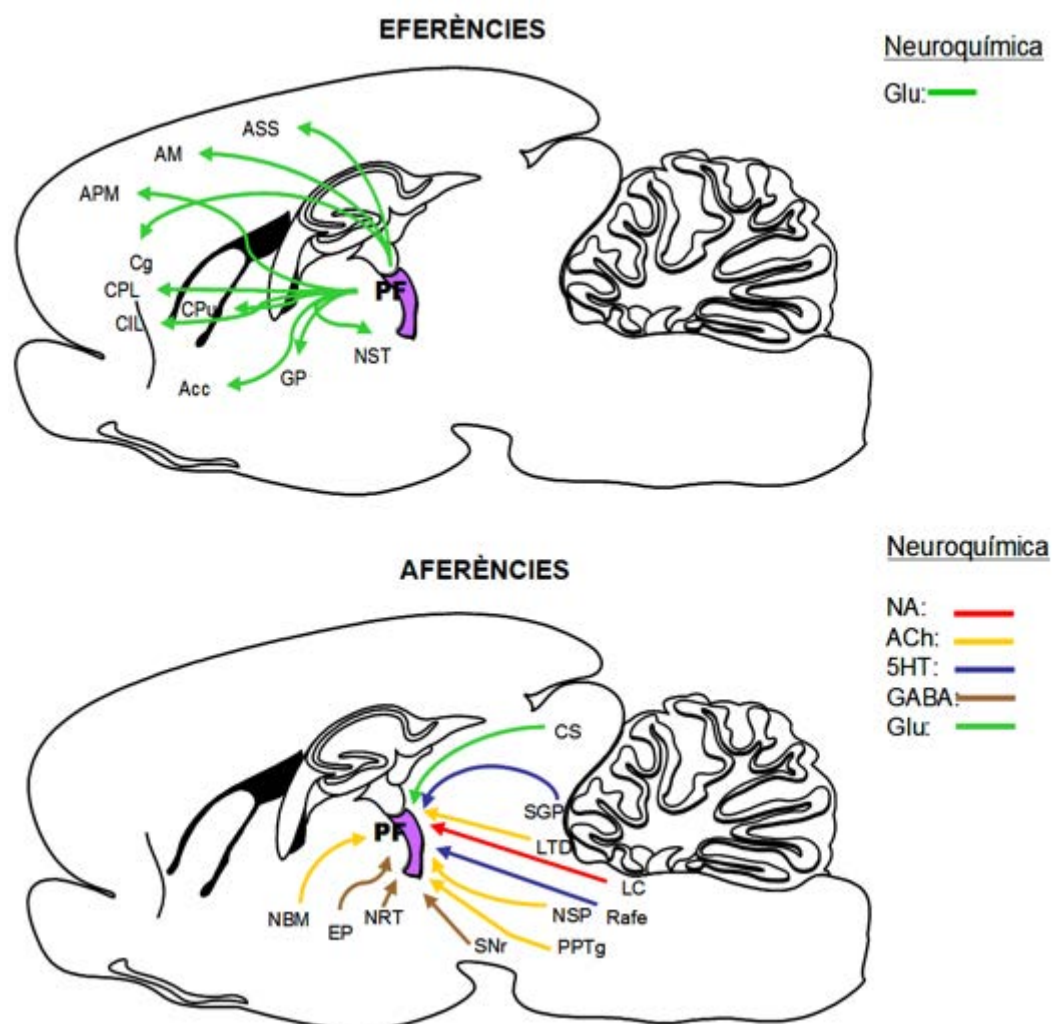


Figura 11: Secció sagital on es representa esquemàticament les eferències (a dalt) i aferències (a baix) del PFn. ASS: àrea somatosensorial; AM: àrea motora; APM: àrea premotora; Cg: Escorçacingulada; CPL: escorça prelímbica; CIL: escorça infralímbica; CPU: caudat-Putamen; Acc: Nucli Accumbens; GP: Globus pàlid; NST: nucli subtalàmic; NBM: nucli basal

magno-cel·lular; EP: Nucli Entopeduncular; NRT: nucli reticular talàmic; SNr: Substància nigra; PPTg: nucli peduncle pònic tegmental; NSP: Nucli subpeduncular; LC: Locus Coeruleus; LTD: nucli lateral dorsal; SGP: substància gris periaqueductal; CS: colicle superior

4.3 FUNCIONS

El tàlem participa en funcions sensorials, motores i també cognitives. Pel que fa a aquestes últimes, s'ha observat que podria ser un node important per a la memòria (Child & Benarroch, 2013). En particular, els nuclis ILN, especialment el PFn, són components rellevants dels sistemes d'*arousal* cortical el que suggereixen, juntament amb les seves connexions neuroanatòmiques, podrien formar part de circuits cerebrals subjacents a diferents funcions, tant sensomotrius (Peppe et al., 2008) com cognitives (Brown et al., 2010; Quiroz-Padilla et al., 2010; Schiff, 2008; Minamoto, 2002).

Els ILN s'han relacionat amb funcions mnemòniques ja que les lesions produeixen símptomes d'amnèsia diencefàlica en humans i impedeixen l'adquisició i la retenció de diversos tipus de tasques de memòria en animals.

Les lesions en els ILN (incloent el PFn) produeixen dèficits en tasques atencionals com el *Seven Choice Serial Reaction Task* augmentant-ne les latències (Burk & Mair, 2001). Les lesions al PFn, a part dels dèficits atencionals ja mencionats, provoquen dèficits tant en tasques de memòria implícita com relacional, no obstant, aquests nuclis no semblen ser indispensables per a l'aprenentatge d'aquestes tasques ja que la seva lesió no afecta a l'adquisició i retenció ni de tasques implícites com per exemple l'evitació activa (Guillazo-Blanch et al., 1995), pel que fa a tasques relacionals com la TSPA, tot i que la lesió ens mostri que no s'ha associat els diferents estímuls no es pot descartar però que la lesió hagués impedit l'expressió de la resposta però que si que s'hagués donat una associació entre els diferents estímuls (Quiroz-Padilla et al., 2010). Al nostre laboratori també hem estudiat els efectes de la inactivació temporal mitjançant l'administració de muscimol al PFn (Barrós-Millàs et al. dades en curs de publicació), o la seva lesió (Quiroz-

Padilla et al., 2006; 2007) mostrant dèficits en l'aprenentatge de la tasca TSPA i dèficits atencionals.

En aquest mateix context, alguns estudis han mostrat que l'estimulació cerebral profunda (ECP) en aquest nucli facilita la memòria en animals (Guillazo-Blanch et al. 1995; Sos-Hinojosa et al., 2003; Schiff 2012; Yamamoto et al., 2013; Baker et al., 2016). La retenció en la tasca de l'evitació activa (Vale-Martínez et al., 1998; Guillazo-Blanch et al., 1999) i també és capaç de revertir dèficits de memòria causats per la lesió del nucli basal magnocel·lular (Sos-Hinojosa et al., 2000). D'altra banda, també s'ha observat que l'ECP del PFn restaura l'*arousal* cortical i el nivell de consciència en humans (Schiff, 2008).

El PFn també s'ha relacionat amb funcions cognitives en humans, ja que diferents proves neuropatològiques mostren una degeneració de les seves neurones en persones afectades per patologies associades a dèficit cognitiu, com la malaltia d'Alzheimer, la corea de Huntington i la malaltia de Parkinson (Kim et al., 2013); per a una revisió, veure (Quiroz-Padilla et al.; 2010). Tot i que el seu paper en aquestes malalties no es coneix bé, el fet que els nuclis ILP estiguin integrats en els circuits dels ganglis basals-tàlem-corticals regulant funcions no només sensoriomotors, sinó també atencionals (Raeva, 2006), reforça la idea que podrien relacionar-se amb el dèficit cognitiu propi de cada malaltia (Rüb et al., 2002; Halliday, 2009).

A més a més, i en relació a d'altres funcions, en estudis *post-mortem* de cervells de pacients amb esquizofrènia s'ha detectat una reducció de l'expressió de NMDAr en els ILN, a més d'altres regions com el PFC, i altres estructures talàmiques (Meador-Woodruff et al., 2003). Yasuda i els seus col·laboradors l'any 2017 van desenvolupar una soca de ratolins als quals es va interrompre selectivament els NMDAr dels ILN i van mostrar alguna de la simptomatologia observada en esquizofrènia com, per exemple, impulsivitat i dèficits de MT, entre d'altres. Aquests dèficits van ser revertits mitjançant el virus AAV-fsNR1, que va restablir la funció dels NMDAr (Yasuda et al., 2017). Aquestes troballes suggereixen que la disfunció de NMDAr als ILN contribueix

a la fisiopatologia dels trastorns relacionats amb l'esquizofrènia que aquests nuclis talàmics són un potencial objectiu per a una estratègia terapèutica.

Així com el nucli talàmic anterior al formar part del sistema hipocampal pot ser necessari només per a la recuperació de la memòria recent, els nuclis ILN posteriors podrien estar involucrats en la recuperació de la memòria remota (Lopez et al., 2009). En una tasca de laberint d'aigua es va demostrar que les lesions en els ILN impedièren la recuperació de la memòria remota però no de la memòria recent (Lopez et al., 2009). No obstant això, al produir la lesió pre-adquisició, no estava clar si els ILN estaven involucrats en la recuperació de la memòria remota o si només participaven en el procés de consolidació. (Lopez et al., 2018). D'altra banda, les connexions anatòmiques d'aquests nuclis amb l'HPC i la CPF suggereixen que podrien estar també involucrats en la consolidació de la memòria (Winocur et al., 2010).

Per tant, donades les importants projeccions glutamatergiques del PFn cap al CPL, podem considerar aquesta regió talàmica com a una zona moduladora de l'activitat prefrontal i per tant esdevé una regió d'interès a l'hora de proposar tractaments cerebrals capaços de potenciar la memòria o revertir dèficits associats a diverses condicions.

5 MODELS CONDUCTUALS DE MEMÒRIA OLFACTÒRIA, MEMÒRIA DE TREBALL I FLEXIBILITAT COGNITIVA

5.1 DISCRIMINACIÓ SIMPLE D'OLORS

La DSO consisteix en una tasca olfactiva de tipus associatiu basada en la tendència innata dels animals a explorar preferentment els estímuls nous, diferenciant-los d'aquells estímuls que ja coneixen. El fet que sigui basada en una conducta natural i etològicament rellevant fa que sigui una tasca fàcil d'adquirir per l'animal (Sara et al., 1999). Aquesta tasca va ser desenvolupada per Susan Sara (1999) amb l'objectiu d'estudiar la dinàmica temporal de la participació de diferents receptors de neurotransmissors en la formació de la

memòria a llarg termini i, a més, tenia com a finalitat evitar possibles estímuls aversius que poguessin intervenir en la cascada molecular implicada en el manteniment de la PLT (Stanton & Sarvey, 1985).

La DSO requereix la discriminació de diferents aromes impregnades en esponges i associar una d'aquestes olors a un reforç. En termes de condicionament es considera que l'aroma reforçada, inicialment neutra o estímul neutre (EN), esdevé un estímul condicionat (EC) en haver-se associat a l'aliment que actua com a reforç. Després de diversos assajos on es dona aquesta associació, l'aroma reforçada (EC+) adquireix un caràcter apetitiu per a l'animal, el qual provoca una major preferència per a dirigir-se a l'esponja que conté l'aroma reforçada. El fet de reforçar sempre la mateixa aroma obliga al subjecte a inhibir la seva tendència innata a explorar estímuls nous, és a dir, les altres aromes, i buscar sempre la mateixa esponja aromatitzada per a obtenir el reforç (Sara et al., 1999). En la fase test s'avalua el record, la resistència a l'extinció i la capacitat de reaprenentatge de la tasca. A fi d'avaluar l'execució dels animals en aquesta tasca es mesuren dues variables, la latència dels subjectes en introduir el musell dins de l'esponja reforçada i consumir el reforç, un cereal, i, en segon lloc, el nombre d'errors. En aquesta tasca podem distingir dos tipus d'errors, els errors de comissió són aquells consistents en introduir el musell en una esponja no reforçada, mentre que els errors d'omissió es donen quan al passar a prop de l'esponja reforçada no s'hi introdueix el musell i l'animal s'allunya de la zona.

Les regions cerebrals més implicades en l'adquisició i la consolidació d'aquesta tasca són el CPL, especialment durant l'adquisició, l'escorça orbitofrontal ventrolateral i l'amígdala basolateral (BLA) (Tronel & Sara, 2002)

En relació a la neuroquímica, els NMDAR i els receptors muscarínics del CPL participen en la primera fase de consolidació de la memòria de la DSO, ja que el seu bloqueig produeix dèficits de memòria importants (Tronel & Sara 2003; Carballo-Marquez et al., 2007), mentre que l'administració d'agonistes glutamatèrgics, com la DCS, facilita la retenció i compensa el dèficit d'algunes

lesions cerebrals, com del PFn, el qual envia projeccions glutamatèrgiques al CPL (Villarejo-Rodriguez, 2010; Villarejo-Rodriguez, 2013).

En resum, el paradigma de DSO permet avaluar la capacitat dels animals per diferenciar estímuls olfactoris i identificar un estímulo reforçant. Aquest aprenentatge associatiu apetitiu procedimental sembla dependre principalment dels circuits dels quals formen part el CPL i l'BLA, però no l'HPC (Tronel & Sara, 2003).

5.2 TRANSMISSIÓ SOCIAL DE PREFERÈNCIA ALIMENTÀRIA

La TSPA és un altre paradigma apetitiu de memòria olfactiva, que en aquest cas permet avaluar la memòria relacional. Aquesta tasca va ser desenvolupada per primera vegada, de manera simultània i independent, pels equips de Bennett G. Galef i Posadas-Andrews l'any 1983 (Galef & Wigmore, 1983; Posadas-Andrews & Roper, 1983).

La TSPA ocorre de manera espontània a la natura quan un animal observador interacciona amb un membre de la mateixa espècie, animal demostrador, que acaba de consumir un aliment i, aleshores, l'animal observador prefereix el mateix aliment que ha ingerit l'animal demostrador abans que un aliment desconegut. Aquesta interacció i transmissió de la informació i la posterior preferència alimentària els permet disminuir el risc de menjar aliments nous que podrien no ser segurs (Galef & Wigmore, 1983) i destaca la importància del CPL, PB i la BLA, tot i que també requereix la integritat de l'HPC pel seu record. En condicions de laboratori, la TSPA es realitza en diferents fases. En la fase d'adquisició, un animal demostrador menja un dels aliments aromatitzats de forma aleatòria, seguidament es dona una interacció entre els animals demostrador i observador, l'observador forma una associació entre l'olor de l'aliment aromatitzat i un component natural i volàtil de l'alè del demostrador, el disulfur de carboni (CS₂). Aquest aprenentatge fa que a l'hora d'escollir quin menjar aromatitzat triar durant el test, l'animal observador triï aquell que havia estat ingerit anteriorment per l'animal demostrador, consumint així un major percentatge d'aquest respecte l'altre (Galef et al., 1988)

El fenomen de la TSPA és independent de variables com l'edat, la soca, el sexe o si els animals es coneixien o no entre ells (Galef et al., 1988). Es tracta d'un aprenentatge d'influència social que provoca un record molt potent en rates i ratolins sans, però que es veu afectat durant l'envelliment oblidant-se prematurament l'associació entre els estímuls (Countryman & Gold, 2007). Les diferències relacionades amb l'edat en l'expressió de CREB i pCREB poden contribuir al ràpid oblit que és característic dels rosegadors envellits. A més, tot i que la fosforilació de CREB en resposta a l'entrenament és evident en l'HPC de rates joves i velles, l'expressió de pCREB després de l'entrenament augmenta significativament menys en l'HPC ventral de rates d'edat avançada que en rates joves.

El motiu pel qual podem parlar de la TSPA com un aprenentatge relacional es degut a diverses característiques. En primer lloc, durant el test de memòria només hi és present un dels dos estímuls amb els quals han format l'associació durant l'aprenentatge (l'aroma de l'aliment). En segon lloc, l'adquisició d'aquesta memòria es realitza en un context (interacció social) molt diferent al context (prova de preferència de menjar) en què s'ha d'expressar i en només un únic assaig, com ocorre en molts aprenentatges d'aquest caire. Per tant, sembla que l'animal observador ha de fer un ús flexible de la informació adquirida durant la interacció social amb l'animal demostrador, característica definitiva de la memòria relacional (Alvarez et al. 2001; Bunsey & Eichenbaum, 1995). Així doncs, la TSPA en condicions de laboratori permet estudiar els mecanismes cerebrals que conformen la memòria relacional, la qual ha estat àmpliament lligada a l'HPC. Dins de l'HPC es descriuen diferències tant en la connectivitat com amb la funció entre les parts dorsal (HPCd) i ventral (HPCv). L'HPCd rep informació visual, auditiva i somatosensorial mentre que la informació olfactiva arriba més extensament a l'HPCv (Amaral & Witter, 1989; Moser & Moser, 1998). L'HPCv connecta amb el CPF, el bulb olfactori i l'amígdala entre altres, relacionant-lo amb els aprenentatges olfactoris (Martin et al., 2007). En general, les lesions electrolítiques de la formació hipocampal, tant de la part ventral com de la part dorsal, prèvies a l'adquisició de la TSPA no afecten l'aprenentatge de la tasca però sí que acaben comportant dèficits de la memòria a llarg termini (Winocur, 1990; Winocur et al., 2001). Pel que fa a

les lesions posteriors a l'adquisició, tant en la part ventral com en la part dorsal, ocasionen una pèrdua de memòria dels fets més recents previs a la lesió a més a més d'impedir que nous aprenentatges puguin ser consolidats i per tant recordats a llarg termini (Winocur, 1990; Winocur et al., 2001; (Ross, 2006).

S'ha evidenciat també la importància del PB i, en concret, del sistema colinèrgic en el processament de senyals olfactoris i en la formació i el record de memòries de reconeixement social (Ravel et al. 1994). D'acord amb aquesta idea, s'ha observat que la seva lesió pre-entrenament de les neurones colinèrgiques del NBM deteriora la retenció de la TSPA, però no el seu aprenentatge (Berger-Sweeney et al., 2000). En canvi, altres estudis observen un impediment en la retenció tant a curt com a llarg termini amb les lesions específiques pre-entrenament del el nucli basal magnocel·lular / substància innominada (NBM/SI) i un dèficit en la consolidació de la memòria amb les lesions del prosencèfal basal, sèptum medial / banda diagonal de Broca (SM/BDBv) (Vale-Martínez et al., 2002). Aquests resultats, juntament amb el fet que la seva estimulació elèctrica millora l'adquisició i la retenció d'aquesta tasca (Boix-Trelis et al., 2006), fa del NBM una regió crítica per a la TSPA.

Pel que fa al CPF també participa en la TSPA degut a que s'ha observat que les lesions, tant pre- com post-entrenament, afecten el test de retenció quan s'augmenta la dificultat de la tasca, augmentant les opcions de resposta, i el dèficit augmenta quan major és l'interval de temps entre l'entrenament i el test (Winocur & Moscovitch, 1999; Portero-Tresserra et al., 2013). Altres treballs han demostrat que el bloqueig colinèrgic de l'escorça orbitofrontal (Ross et al., 2005) o del CPL (Boix-Trelis et al., 2007; Carballo-Marquez et al., 2009a; Portero-Tresserra et al., 2013) produeix dèficit de memòria en diferents tests de retenció.

Una altra regió cerebral que podria jugar un paper modulador per a la TSPA, a través de les seves connexions amb el CPF, és el PFn ja que s'ha pogut demostrar que la seva lesió pre-entrenament també provoca dèficits en la retenció de la tasca (Quiroz-Padilla et al., 2006).

5.3 DELAYED MATCHING TO POSITION

La tasca *delayed matching to position* (DMTP) en Skinner Box sorgeix de l'adaptació de la "tasca de resposta demorada" en primats (Dunnett, 1985).

A diferència de la memòria de referència espacial (que implica retenir informació sobre una única ubicació durant els dies), la informació que s'ha de recordar en una tasca de resposta demorada varia en cada assaig i requereix que el subjecte actualitzi contínuament la posició de l'EC. En particular, les tasques de resposta demorada s'utilitzen sovint per avaluar la MT, la qual depèn de la integritat del PFC en humans, primats no humans i rosegadors (Bizon et al., 2012; Rodriguez&Paule., 2009).

Aquesta tasca ha estat utilitzada en un gran rang d'espècies diferents incloent micos (Mello, 1971), coloms (Blough, 1959) i humans (Owen et al., 1996), normalment a fi d'avaluar malalties neurològiques o psiquiàtriques, com l'Alzheimer, el Parkinson o l'esquizofrènia (Irle et al., 1987). Aquesta tasca i d'altres variants com la DNMT (Delayed Non-matching To Position) han estat utilitzades en rata a fi d'explorar els efectes de lesions cerebrals i els efectes de diferents fàrmacs sobre la memòria per a una posició o objecte durant una curta durada (Dunnett, 1985; Dunnett et al., 1989).

Tal com comentàvem a l'apartat 1, diversos autors han diferenciat tres fases en aquests tipus de tasques, la fase *mostra* i la fase *tria* les quals estan separades per la fase *demora* (Blockland et al., 2004; Dudchenko et al., 2013; Sloan et al., 2006; Mcquail, Frazier, & Bizon, 2016; Auger & Floresco, 2017). En la figura 12 podem veure un esquema de la tasca DMTP, una tasca de resposta demorada en que les rates han de recordar la posició d'una palanca abans d'executar una resposta demorada.

Les tasques DMTP i DNMT requereixen de flexibilitat per adaptar-se a la norma i respondre als estímuls que es presenten mantenint la informació activa durant un període de temps per finalment executar la resposta de tria (Dudchenko et al., 2013). El fet d'utilitzar en uns mateixos subjectes les dues

versions de la tasca de resposta demorada de forma seriada permet analitzar també la flexibilitat cognitiva (Yhnell et al., 2015).

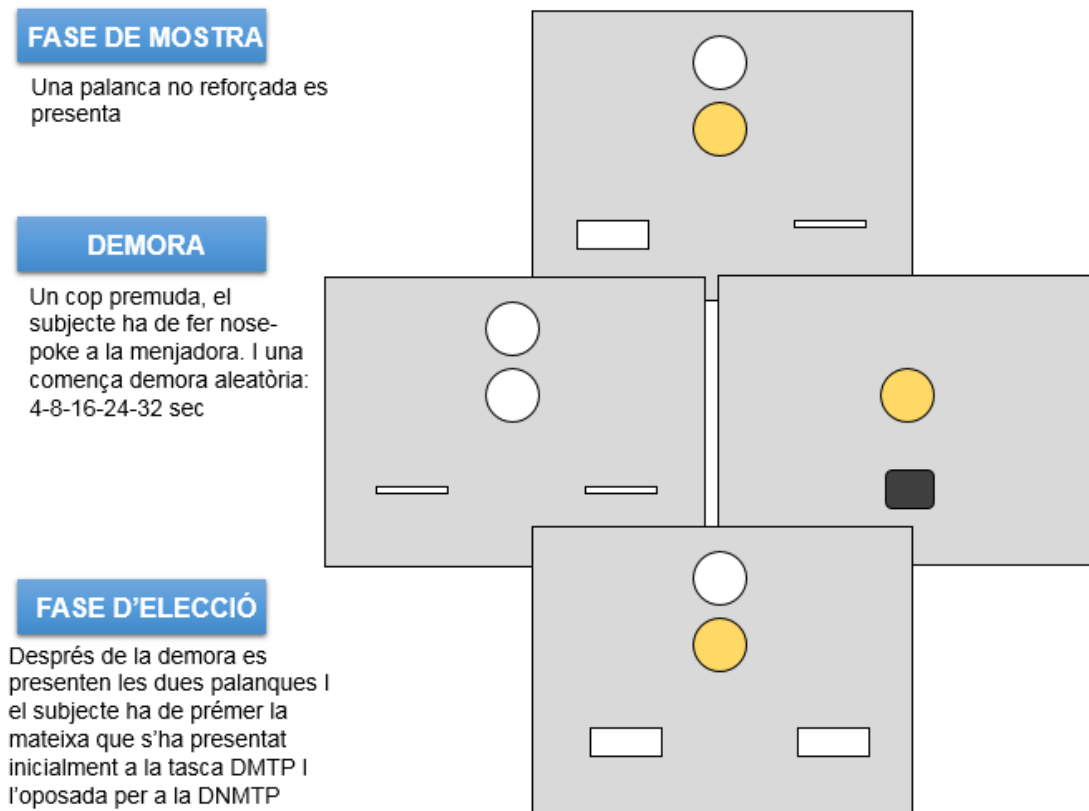


Figura 12: Visió esquemàtica de les parets de la caixa de condicionament i els ítems que la componen. En aquesta imatge es veu quins ítems estaven activats en cadascuna de les fases de les que es componen les tasques de resposta demorada DMTP i DNMTTP.

Els danys en el CPF medial (CPFm) disminueixen significativament el rendiment d'aquesta tasca de manera dependent del retard (Sloan & Dunnett, 2006). Per contra, les lesions de l'HPC no n'alteren el rendiment. Aquestes dades suggereixen fortament que qualsevol disminució del rendiment de resposta demorada que es detecta en rates envellides probablement sigui intervinguda pel PFC i no per l'HPC. Tot i que en la literatura no tots els resultats suggereixen el mateix, Porter et al. (2000) van trobar que les lesions a l'HPC interfereixen en la correcta execució de la tasca DMTP independentment de la durada de la demora; d'altres autors van trobar que les lesions al fòrnix (via de connexió HPC) provocaven un empitjorament de la tasca, en aquest cas dependent de la durada de la demora (Chudasama & Muir, 1997; Winters &

Dunnett, 2004). Així doncs, no podem descartar que es requereixi d'un correcte funcionament de l'HPC per a una òptima execució de les tasques de resposta demorada.

Pel que fa al substrat neuroquímic de les tasques, els antagonistes dels NMDAr són la classe de fàrmacs més descrits en la tasca DMTP. Per exemple, Robinson i Mao (1997) van administrar l'antagonista NMDAr MK-801 a l'HPCv i a l'HPCd a fi d'investigar la implicació dels receptors NMDA hipocampals. Els resultats que varen obtenir van mostrar diferències entre les zones dorsal, on la administració interferia l'execució de la tasca de MT de forma independent a la demora aplicada, i ventral, on la injecció no l'afectava (Robinson & Mao, 1997). D'altra banda, Willmore et al. (2001) van provar diferents compostos que incloïen antagonistes del lloc de la fenciclidina (PCP), antagonistes competitiu NMDAr, un antagonista del lloc de glicina i un antagonista dels NR2B. En aquesta sèrie d'estudis, aquests autors reporten dèficits selectius amb PCP (dependent de demora) i MK-801, mentre que es van observar deficiències no selectives amb memantina, SDZ220.581 i Ro 25-6981.

Altres fàrmacs que van administrar a l'HPC (Mao & Robinson, 1998; Willmore et al., 2001) a fi de conèixer millor el correlat neuroquímica d'aquesta tasca han estat el muscimol i l'SCOP. Pel que fa al primer, no va produir cap efecte quan es va administrar a l'HPCv però si va fer-ho sobre l'HPCd. L'administració de muscimol tampoc va impedir la correcta execució de les tasques DMTP i DNMTTP quan va ser administrat a HPC, però si que va perjudicar la MT quan va administrar-se al CPF (Robinson & Mao, 1997; Mao & Robinson, 1998). No obstant, no totes les manipulacions a HPC han tingut els mateixos resultats, ja que Dunnett i els seus col·laboradors van observar un empitjorament independent de la demora en la tasca DMTP amb l'administració d'SCOP a l'HPC (Dunnett et al., 1990).

De fet, el model de dèficit cognitiu amb SCOP ha estat àmpliament utilitzat en la tasca DMTP i nombrosos inhibidors de la acetilcolinesterasa s'han provat en aquest model, mostrant una reversió del dèficit induït per SCOP. Més recentment, l'SCOP també s'ha mostrat eficaç com a eina per estudiar efectes

pro-cognitius amb compostos no colinèrgics. Per exemple, estudis recents han demostrat que els dèficits dependents de la demora induïts per SCOP podrien ser revertits per antagonistes dels mGlu2/3 (Woltering et al., 2010).

Pel que fa al sistema dopaminèrgic, malgrat que està fortament implicat amb la funció del CPF, pocs estudis han investigat els efectes dels compostos dopaminèrgics en els paradigmes de resposta demorada. En un estudi de Baron et al. (1998) que comparava els efectes de les drogues d'abús en la memòria, no es va observar que la cocaïna ni la d-amfetamina causessin un deteriorament agut. Això està en línia amb les observacions de Sahgal (1987), qui va informar que l'amfetamina va induir un biaix a respondre, però no un deteriorament de la memòria *per se*. Com que diversos compostos que s'han suggerit per a la millora cognitiva de l'esquizofrènia han demostrat ser efectius a la DMTP (Woltering et al., 2010; Ballard et al., 2009; Prieto & Taboada Martínez, 2011), sorprèn que s'hagin realitzat pocs estudis que investiguin els efectes dels antipsicòtics establerts amb la DMTP. L'ilperidona s'ha vist que facilitava l'execució de la tasca dependent de la demora (Gemperle et al., 2003). En el mateix estudi, l'antipsicòtic típic haloperidol va causar un petit deteriorament en la demora més llarga i la dosi més alta provada, mentre que la clozapina no va tenir cap efecte en l'execució de la tasca. També es va observar una petita facilitació dependent de la demora amb la risperidona, mentre que l'asenapina i l'olanzapina no tenien cap efecte sobre l'execució de la tasca DMTP. En conjunt, sembla que alguns antipsicòtics, amb acció antidopaminèrgica, són capaços de millorar la precisió en la tasca DMTP.

De tot això en podem extreure que la tasca DMTP i les seves variants són dependents del correcte funcionament del CPF. No obstant, els resultats discrepants en els estudis en HPC no ens han de fer descartar que les subregions de l'HPC puguin estar involucrades en diferents aspectes del processament de la informació relacionada amb la codificació de la MT a través de la LTP (Robinson & Mao, 1997).

5.4 LABERINT Y-MAZE

El laberint en Y és un laberint molt utilitzat en tasques de MT espacial, en tasques de memòria a curt termini i també en tasques de reconeixement d'objectes. Pel que fa a la MT, pot avaluar-se mitjançant l'alternança espontània, que és una tasca de tipus espacial, que permet als ratolins explorar els tres braços del laberint lliurement. Aquest comportament és impulsat per la curiositat innata dels rosegadors per explorar àrees prèviament no visitades (Lalonde, 2002). Un rosegador amb memòria de treball intacta i, per tant, funcions corticals prefrontals intactes, recordarà els braços visitats anteriorment i mostrarà una tendència a entrar en un braç menys visitat recentment. Això requereix la interacció de diverses regions diferents del cervell, com l'HPC i el CPF (Swonger & Rech, 1972; Sarnyai et al., 2000).

Pel que fa a la memòria de referència espacial, en la qual l'HPC hi juga un paper important (Conrad et al., 1996), també es pot avaluar col·locant els subjectes en el laberint en Y amb un dels braços blocat durant l'entrenament. Després d'un interval entre assajos, l'animal ha de recordar quin braç no ha explorat prèviament i ha de visitar aquest braç amb més freqüència. En rates joves sembla diferir l'exploració entre llocs i objectes essent aquestes últimes exploracions de més llarga durada (Dellu et al., 1992). L'exploració del braç sol ser més difusa i generalitzada del que ho és en objectes i s'ha vist que les rates adultes joves poden recordar el braç al que han visitat fins a sis hores després mentre que en rates de 18 mesos d'edat el record es perd al voltant dels 30 minuts (Dellu et al., 1992).

Un dels avantatges de la tasca de reconeixement del laberint Y és el fet de minimitzar les influències de confusió de factors no específics com els generats en tasques que involucren privació, descàrregues elèctriques, demandes motores, etc.

5.5 TASCA DE RESPOSTES ALTERNES

Aquesta tasca, en el nostre cas adaptada a les gàbies de condicionament, consisteix en alternar una resposta condicionada a fi d'obtenir el reforç. Altres tasques de caire similar a aquesta s'han utilitzat en laberints espacials, com en el laberint en T (Jarrard et al., 2004), en laberint radial (Ainge et al., 2007) o en W (Kim & Frank, 2009).

En aquestes tasques s'ha discutit molt sobre quin és el paper que juguen estructures com l'HPC o el CPF, donat que d'una banda són tasques que requereixen d'alta capacitat atencional i de MT, i d'altra banda són tasques que, en el cas dels laberints, impliquen un alt component de memòria espacial. Per tant es pot definir aquesta tasca com una tasca de memòria de treball espacial.

L'activitat de l'HPC depenent del context en la versió amb demora de la tasca d'alternança espacial podria sorgir a través del circuit intrahipocampal. Hi ha una projecció unidireccional, ipsilateral i monosinàptica des del HPC al PFC (Floresco et al., 1997; Goldman-Rakic et al., 1984), que s'origina principalment en el HPCv (Laroche et al., 2000; Thierry et al., 2000). Que podria estar involucrada en tasques de memòria de treball espacial (Seamans et al., 1995; Floresco et al., 1997; Jones, 2002). Els primers estudis demostren que els micos que pateixen danys bilaterals al PFC o l'HPC (Goldman & Rosvold, 1970) mostren un rendiment deficient de la MT espacial. Per tant, els diferents patrons d'activitat de l'HPC podrien reflectir el seu paper de la MT espacial, requerint interaccions entre el CPF i l'HPC (Wang et al., 2006). Si el circuit HPC-PFC està danyat, la MT de tipus espacial podria veure's afectada.

En el cas del paradigma mnemònic utilitzat en la present tesi, rauen algunes diferències respecte els anteriorment mencionats. Una de les diferències està relacionada amb el pes de la memòria de referència, la qual en tasques com el W-Maze té un pes molt més alt i s'intercala amb el component de MT (Kim & Frank, 2009)

6 MODELS ANIMALS FARMACOLÒGICS DE DÈFICIT COGNITIU

6.1 BLOQUEIG DE LA TRANSMISSIÓ COLINÈRGICA

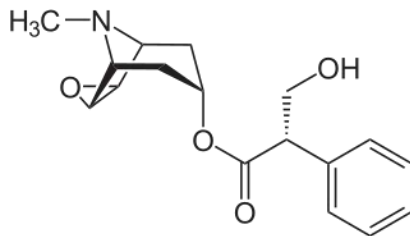


Figura 13: Estructura química de l'escopolamina

L'SCOP (figura 13) inicialment anomenada hioscina, i coneguda popularment com a burundanga, ha estat àmpliament utilitzada com a substància amb capacitat de bloqueig de la transmissió colinèrgica. Es tracta d'un alcaloide que s'extreu de les plantes de la família de les solanàcies i va ser un dels primers alcaloides aïllats de les plantes per part d'Albert Ladenburg, l'any 1880. L'SCOP es va usar conjuntament amb la morfina des de 1900 fins a la dècada de 1960 com a somnífer i, en dosis altes, com a anestèsic. Aquest compost exerceix els seus efectes actuant com a antagonista competitiu i no selectiu dels receptors colinèrgics muscarínics, és a dir, s'uneix al receptor i impedeix que l'ACh s'hi pugui unir i, per tant, bloqueja la transmissió colinèrgica. El seu ús en neuropsicofarmacologia va començar a ser popular ja que reproduïa el deteriorament observat en l'envelliment o la demència en humans i animals sans (Ebert & Kirch, 1998; Flood & Cherkin, 1986). Drachman & Leavitt (1974) foren els primers en demostrar que l'administració d'SCOP a persones sanes produïa tals efectes sobre les funcions cognitives, i posteriorment es va demostrar que també impedia l'adquisició de nous aprenentatges (Atri et al., 2004) i provocava dèficits en la MT (Green et al., 2005).

Pel que fa al seu ús en models animals de dèficits cognitius, la infusió d'SCOP ha estat molt utilitzada per a induir alteracions en l'atenció i l'aprenentatge i memòria (Carballo-Márquez et al., 2009). Tal i com veiem a la taula 3, diversos estudis han demostrat que el bloqueig dels receptors muscarínics amb SCOP, tant aplicat amb injeccions sistèmiques com intracerebrals, impedeix l'adquisició de nova informació i bloqueja el procés de consolidació de la memòria, empitjorant particularment l'execució de les tasques que requereixen

una alta demanda atencional (Gold, 2003). Diversos estudis del nostre laboratori també han demostrat la capacitat amnèsica de l'SCOP administrada intracerebramental CPL després de l'adquisició de diferents paradigmes de memòria, com ara la TSPA i la DSO (Carballo-Márquez et al., 2009; Boix-Trelis et al., 2007; Portero-Tresserra et al., 2013).

Pel que fa a la base molecular d'aquests efectes amnèsics que comporta l'administració d'SCOP, podrien estar mediat pel deteriorament de la PLT (Markram & Segal, 1990). L'SCOP sembla mostrar una major afinitat pels receptors M5 i M1 de l'ACh, aquests últims, estimulen l'acció de la proteïna cinasa C, facilitant així la funció dels NMDAr. Aquestes accions del sistema muscarínic augmenten la probabilitat de què un estímul excitador arribi al llindar d'activació dels NMDAr, els quals modifiquen la transmissió sinàptica lligada a la plasticitat neural (Collingridge & Singer, 1990).

De la mateixa manera, l'administració de fàrmacs antagonistes dels NMDAr impedeixen que substàncies potenciadores de l'activitat colinèrgica, com la fisostigmina o la nicotina, per via sistèmica o administrada a l'HPC, facilitin la memòria implícita (Castellano et al., 2005; Jafari-Sabet, 2006). Jafari-Sabet (2006) mostren que dosis baixes, mancades d'efecte per separat, de NMDA i de fisostigmina milloren la consolidació de la memòria emocional quan s'administren conjuntament i el mateix passa quan s'utilitzen dosis baixes d'antagonistes dels NMDAr i muscarínics, per separat no tenen cap efecte però al administrar-se conjuntament deterioren l'aprenentatge i la memòria de la tasca d'evitació passiva (Ohno & Watanabe, 1996; Mahmoodi et al., 2010). Brown et al., l'any 2010 també van veure com a través de l'administració d'agonistes GABAèrgics, com el muscimol i baclofen, es podia modular l'alliberació d'acetilcolina a l'estriat en condicions que exigeixen flexibilitat cognitiva.

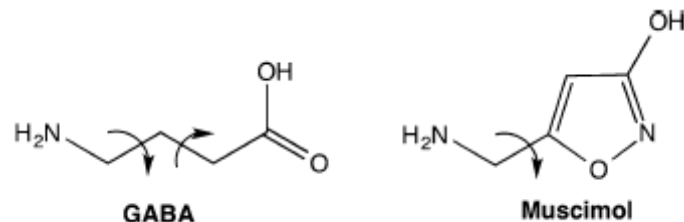
Tasca	Àrea/Administració	Efecte	Autors
No aparellament demorat amb la mostra	CPL	↓Adq	Brito et al., 1989
3-panel runwaytask	BLA	↑ errors MT = errors memòria de referència	Ohno et al., 1993
Aparellament demorat amb la posició	CPFm	↓ Adq dosi depenent i demora depenent	Broesen et al., 1994
Discriminació visual	CPL	= Adq	Granon et al., 1995
Aparellament demorat amb la mostra	CPL	↓ Adq	Granon et al., 1995
Laberint radial	HPCv	↓Adq	Kim & Levin, 1996
No aparellament demorat amb la posició	HPCv	↓Adq	Robinson & Mao, 1997
Laberint radial	CPL+CIL	↓ Adq dosi depenent	Ragozzino & Kesner, 1998
Evitació inhibidora	BLA	↓rt 24h	Bianchin et al., 1999
Evitació inhibidora	BLA	↓ MT	Bianchin et al., 1999
Tasca de detecció de senyal	CPL	↓ precisió en senyal aleatòria = precisió en senyal predictiva	Williams et al., 1999
Laberint radial	HPCv	↓Adq	Mishima et al., 2000
Laberint radial	IP	↓Alliberació ACh ↓execució de la tasca Adq	Mishima et al., 2000
Condicionament clàssic por	BLA immed	72h ↓	Passani et al., 2001
Evitació inhibidora	BLA immed	1,5h = 24h ↓	Barroes et al., 2002
Preferència per lloc	BLA	↓ en administració immed. = en administració 2h post	Schroeder & Packard., 2002
Gàbia operant	CPL	=extinció ↓ extinció	Maruki et al., 2003
Condicionament	BLA	↓Adq	See et al., 2003

instrumental		=reinst.	
reforçat amb droga			
CAM d'atenció i memòria)	(tasca CPL+AC i	Fase atencional: = precisió ↑ errors d'omissió ↑ latències ↑ respostes prematures dosi dependents Fase memòria: ↓ precisió dosi dependent ↑ latències	Chudasama et al., 2004
TSPA	CPL	↓rtimed ↓rt 24h	Boix-Trelis et al., 2007
DSO	CPL	↓ retenció i reaprenentatge a les 24h	Carballo-marquez et al., 2007
DSO	CPL	Immed post 1h post = reaprenentatge ↓ consolidació ↑ errors i retenció	Carballo-Marquez et al., 2007
TSPA	HPCv	Dèficit parcial test 24h	Carballo-Marquez et al., 2009
TSPA	BLA	↓ Adq	Carballo-Marquez et al., 2009
Evitació activa sentits	2 BLA immed	24h ↓ consolidació	Carballo-Marquez et al., 2011
MWM	IP diària 1 set. 2 set. 3 set. 4 set.	↑ latència ↓ temps en quadrant	Ahn et al., 2017
Passiveavoidance	IP diària 1 set. 2 set. 3 set. 4 set.	↓ record traumàtic	Ahn et al., 2017
Passiveavoidance	IP diària	↓ record traumàtic	Lee et al., 2017

Taula 3: Modificacions farmacològiques per administració d'SCOP en diferents paradigmes de memòria. ↑=augment; ↓=disminució; immed= immediat; set.= setamana; adq= adquisició; rt= retest; reinst= restabliment de la resposta

6.2 POTENCIACIÓ DE L'ACTIVITAT GABAÈRGICA

El GABA (figura 14) és el principal neurotransmissor inhibitori del SNC (Dhakal et al., 2012), i fou



descobert per Roberts i **Figura 14:** Estructura molecular del GABA i del Muscimol Awapara als anys 50. Donada la seva funció inhibidora en el SNC, els moduladors de l'activitat GABAèrgica s'han utilitzat al llarg de la història per combatre l'ansietat i com a anestèsics (Chapouthier & Venault, 2001), però també s'han utilitzat en recerca per a induir episodis d'amnèsia (Campagna et al., 2003). El muscimol (5-aminomethyl-isoxazol-3-ol) (figura 14) és una substància present en els bolets del gènere *Amanita muscaria*. En aquest tipus de bolet hi trobem nombrosos compostos d'interès farmacològic com és el cas de la muscarina, la qual dóna nom al tipus de receptors muscarínics de l'ACh. Al llarg de la història el seu consum ha sigut utilitzat en cultes religiosos, tot i això, es va creure durant molt de temps que els efectes psicoactius que provocava l'amanita muscarina eren fruit de la muscarina, no va ser però fins els anys seixanta que es va aïllar el muscimol i es va demostrar que la muscarina era la responsable d'efectes gastrointestinals no desitjats, mentre que el muscimol ho era dels efectes psicoactius.

Pel que fa als seus efectes farmacològics, el muscimol és un potent agonista dels receptors GABA_A, un potent agonista parcial dels GABA_C, i no té cap efecte sobre els receptors GABA_B (Zhang et al., 2001) i també un inhibidor de la recaptació de GABA (Krogsgaard-Larsen & Johnston, 1975). Pel que fa als seus efectes conductuals, tal i com podem veure a la Taula 4, s'ha administrat a diverses regions cerebrals, com l'HPC el CPF, la BLA o diversos nuclis talàmics i s'ha observat que deteriora l'aprenentatge i la memòria en diferents tasques. Wang i els seus col·laboradors, l'any 2006 van administrar el muscimol tant pre-adquisició com post-adquisició a la BLA i van veure com s'afectava l'adquisició i la consolidació de la memòria en la tasca TSPA tant a les 24 hores com als set dies. En relació al tàlem, la seva administració en el nucli reuniens perjudica la MT i la flexibilitat cognitiva en rates (Viena et al., 2018), sense afectar la locomoció o la motivació apetitiva (Mei et al., 2018).

Donades les projeccions existents des de diferents nuclis talàmics cap a regions claus per a l'aprenentatge i la memòria, com el CPL, s'ha suggerit que mitjançant l'administració de muscimol al PFn podríem modular processos d'atenció i d'aprenentatge i memòria a través de les seves connexions glutamatèrgiques amb els circuits dels ganglis basals i l'escorça cerebral, proporcionant un estat d'activació neural òptim per al processament de la informació sensorial i senyalitzant la presència d'esdeveniments conductualment significatius per als subjectes (Quiroz-Padilla, 2010). D'altra banda, seria possible que mitjançant l'administració de l'ampakina S18986 es podrien suplir els dèficits glutamatèrgics derivats de la inactivació del PFn.

Tasca	Manipulació	Àrea	Efecte	Autors
Condicionament clàssic de por	Muscimol	BLA	↓Adq i readquisició 24h	Helmstetter & Bellgowan, 1994
Taste-potentiated odor aversion (TPOA)	Muscimol	BLA durant Adq	↓TPOA =Aversió gust	Ferry et al., 1995
Taste-potentiated odor aversion (TPOA)	Muscimol	BLA preadq	=TPOA =Aversió gust	Ferry et al., 1995

No aparellament demorat amb la posició	Muscimol	HPCv	=	Robinson, 1998
Concliclassic por	Muscimol	BLA (immed)	= 24h	Wilensky et al., 1999
Camp obert	Muscimol + Lidocaïna (2%)	HPCv	↓ activitat dosi depenent	Bardgett & Henry, 1999
Condicionament clàssic de por	Muscimol	BLA	↓ Dosi depenent	Wilensky et al., 2000
Evitació inhibitoria	Muscimol	BLA (immed)	↓ dosi depenent 24h	Wilensky et al., 2000
Condicionament clàssic de por	Muscimol	BLA	↓ Adq	Maren et al., 2001
Alternança demorada en gàbia operant	Muscimol	HPCv	↓ adq	Maruki et al., 2001
Inhibició prepuls	Muscimol	HPCv	Efecte resistent al pre-entrenament amb neuroleptics ↓ adq	Zhang et al., 2002a
Condicionament Palpebral	Muscimol/APV	CPFm	↓ Adq	Takehara-Nishiuchi et al., 2005
Extinció por condicionada	Muscimol	BLA (immed)	= 24h	Berlau & McGaugh, 2006
TSPA	Muscimol	BLA	Test 24h ↓ Test 7d ↓	Wang et al., 2006
TSPA	Muscimol	BLA pre ADQ	↓ TSPA (1 i 7 d)	Wang et al., 2006
TSPA	Muscimol	BLA post ADQ	= TSPA (1 i 7d)	Wang et al., 2006
Evitació Passiva	SCH23390 (Antagonista D1)/Muscimol/CNQX (Antagonista AMPA) APV (antagonista NMDA)	CPFm	↓ Adq i Test 24h	Izquierdo et al., 2007
Tasca de conflictes contextuals	Muscimol	CPL	=execució tasca bimodal = execució assaigs congruents ↓ execució assaigs incongruents	Marquis et al., 2007

Laberint en creu	Muscimol	CPL+CIL	↓ Retenció de l'estrategia apresada 24 h abans	Rich&Shapiro., 2007
Condicionament clàssic de por	Muscimol	BLA	↓ Test 24h	Takahashi et al., 2007
Extinció condicionada por	Muscimol	BLA	EnlentimentAdq	Ponnusamy et al., 2007
Extinció condicionada por	Muscimol	BLA (preretenció)	↓ 24h	Ponnusamy et al., 2007
Autoadministració de cocaïna	Baclofen+Muscimol	HPCv	↓ reinst. =extinció	Rogers & See, 2007
Resposta Emocional Condicionada	Ifenprodil/Muscimol	CPFm	↓ Retenció i Reaprenentatge	Laurent&Westbrook 2008
Por condicionada demorada	Muscimol	HPCv	↓ freezing to i context amb i sense demora	Esclassan et al., 2008
Resposta Emocional Condicionada	Muscimol/APV (antagonista NMDA)	CPFm	↓ Adq	Helmstetter., 2010
Tasca de MT espacial	Muscimol	Nucli reuniens i rhomboid del tàlem	↓ MT delay dependent	Dylan et al., 2015
Step-down passive avoidance	Muscimol	CA1 post ADQ	↓ consolidació	Nasehi et al., 2016
MWM	Muscimol dosi baixa (0,01 i 0,05mg/kg)	IP 3 dies consecutius preadq i 4 dies consecutius d. Post ADQ	↑ adq ↑ test	Pilipenko et al., 2017
Memòria d'evitació inhibidora	Muscimol	BLA i HPCv post ADQ	↓ consolidació	Wang et al., 2017
Por contextual	Muscimol	CPL pre ADQ	↓ adq (interval 5') = adq (interval 24h) = por condicionada demorada	Santos et al., 2017
DNMTP	Muscimol+Baclofen	CPL pre ADQ	↓ MT independent de delay	Auger & Floresco, 2017
Discriminació	Muscimol+baclofen	HPCv	Memòria de	Riaz et al., 2017

contextual bidireccional		CA1 CA3 Preadq	recompensa ↓ en HPCv Recuperació memòria ↓ en HPCv Memòria de recompensa = en CA1 i CA3 Recuperació memòria = en CA1 i CA3	
Evitació inhibidòria	Muscimol	CPFpre test	= retenció 2h ↓ retenció 1 d ↓ retenció 7 d	Luo et al., 2017
ObjectRecognitionTask	Muscimol	CA1 i CPFm post adq	= memòria c/t ↓ memòria ll/t	Villar et al., 2017
Por condicionada	Muscimol	Nucli talàmic anteromedialpre exposició	=por innata ↓ por contextual	deLima et al., 2017
Water task avoidance	inhibitori Muscimol 1h o 7h post	Acc	↑ latències vs animals tractats amb NE a bla	Kerfoot i Williams 2018
Y-maze	Muscimol 1h o 7h post	Acc	↓ memòria contextual	Kerfoot i Williams 2018
Memòria d'evitació inhibidòria	Muscimol	CA1 post adq i preadq	↓ consolidació	Majd et al., 2018

Taula 4: Efectes de l'administració de muscimol sobre diferents paradigmes mnemònics..
 Abreviatures: ↑: Augment, ↓: Disminució, =: cap canvi, pre: abans de l'aprenentatge, d= dies, h:
 hores, adq: adquisició, c/t: curt termini, ll/t: llarg termini, immed: immediat.

III. TREBALL EXPERIMENTAL

III.I Ètica i benestar animal

Tots els procediments es van realitzar d'acord amb la directiva de la Comunitat Econòmica Europea relativa a l'aproximació de les disposicions legals, reglamentàries i administratives dels Estats membres respecte a la protecció dels animals utilitzats per a l'experimentació i altres finalitats científiques (86/609/CEE, del 24 de novembre de 1986), i del decret de la Generalitat de Catalunya (DOGC 2450 7/8/1997) pel qual es regula l'ús d'animals per a l'experimentació i altres finalitats científiques. A més, el procediment va ser aprovat per la Comissió d'Ètica en l'Experimentació Animal i Humana (CEEAH) de la Universitat Autònoma de Barcelona [números d'ordre de Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca, (DARP): 5959 i 3046].

III.II Subjectes

Per a la realització d'aquesta tesi doctoral s'han utilitzat un total de 195 rates mascle de la soca Wistar (*Ratus norvegicus*, de la soca Wistar), provinents de l'estabulari de cria del laboratori de Psicobiologia de la UAB (número B99 00029). Tots els animals estaven estabulats en unes gàbies amb la base de plàstic transparent de mida homologada (50x22x14 cm), cobertes amb una reixa d'acer inoxidable i amb un fons de flocs de fusta. Durant totes les fases experimentals, els animals van romandre a l'estabulari del laboratori de Psicobiologia, amb uns paràmetres constants de temperatura ambient (20°C-23°C), humitat (40%-70%) i amb un cicle de 12 hores de llum (8-20 hores)/foscor (20-8 hores) controlat artificialment.

Per tal que els animals s'habituessin a la manipulació dels investigadors, durant les fases experimentals van ser sotmesos diàriament a sessions suaus de *handling* que consistien en agafar l'animal pel llom i manipular-lo durant 10 minuts aproximadament, després es pesava l'animal i se'l retornava a la seva gàbia. Els animals van disposar d'aigua i menjar en forma de *pellets ad libitum*, però es van mantenir sota restricció de quantitat de menjar en algunes fases

dels diferents experiments. Durant les fases en què es va aplicar la privació de menjar, els animals van rebre una quantitat d'aliment determinada en funció del seu pes respecte el dia de la seva separació. El procediment de privació aconseguia mantenir els animals al voltant del 85% del seu pes inicial. La privació d'aliment va fer-se de forma progressiva i en consonància al percentatge de pes diari de cada subjecte a fi que el canvi no fos mai del 3% o superior d'un dia per l'altre. A més, diàriament es va portar a terme un control del pes i estat de salut dels subjectes (aparició de cromodaciorrea, estat del pelatge, etc). A fi que tots els animals tinguessin la mateixa exposició a la llum es van establir rotacions de les gàbies en el *rack* setmanalment.

Experiment 1: Efectes de l'administració d'S18986 i escopolamina al CPL en les tasques DSO i TSPA

L'objectiu d'aquest experiment fou investigar l'efecte de l'administració intracerebral de (S)-2,3-dihidro-[3,4]-cyclopentano-1,2,4-benzotriazina-1,1-dióxid (S18986), un modulador positiu dels receptors AMPA, sobre l'amnèsia induïda per l'administració d'SCOP al CPL.

Les proves conductuals van consistir en dues tasques d'aprenentatge olfatiu: la tasca de discriminació simple d'olors (DSO), que permet avaluar memòria implícita, i la transmissió social de preferència alimentària (TSPA), la qual s'utilitza per a l'avaluació de la memòria relacional (veure apartats 5.1 i 5.2, on està l'explicació de les tasques). També es van realitzar proves de control de percepció olfactiva i activitat motora (figura 15).

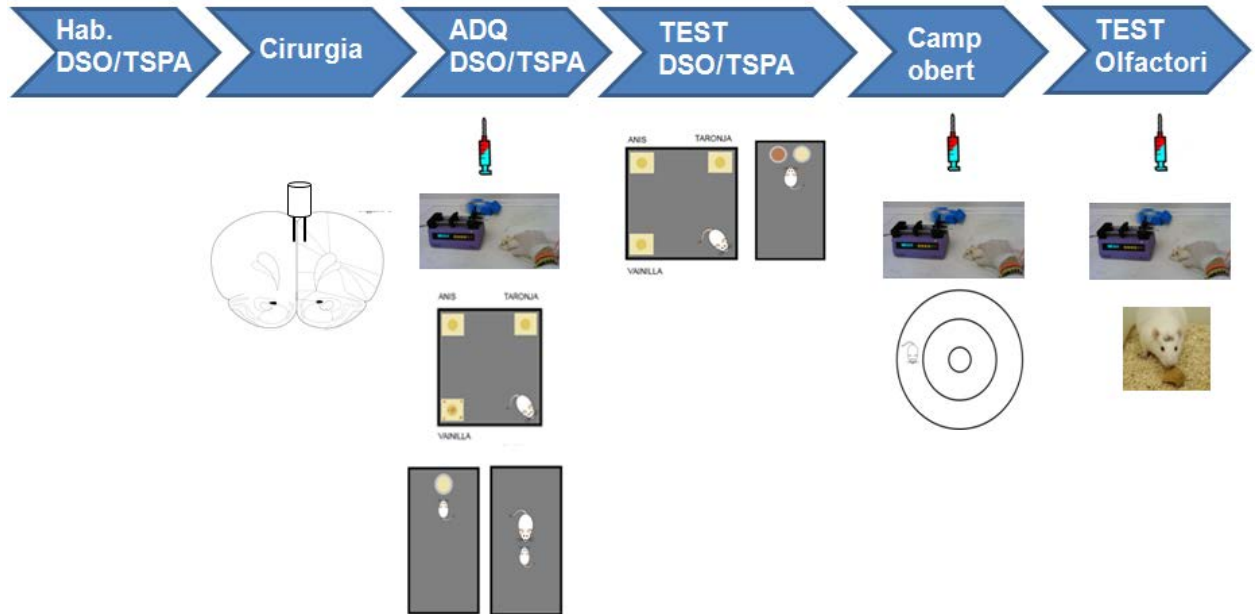


Figura 15: Esquema resum de les fases del experiment 1.

1.1 MATERIALS I MÈTODES

1.1.1 Cirurgia estereotàxica:

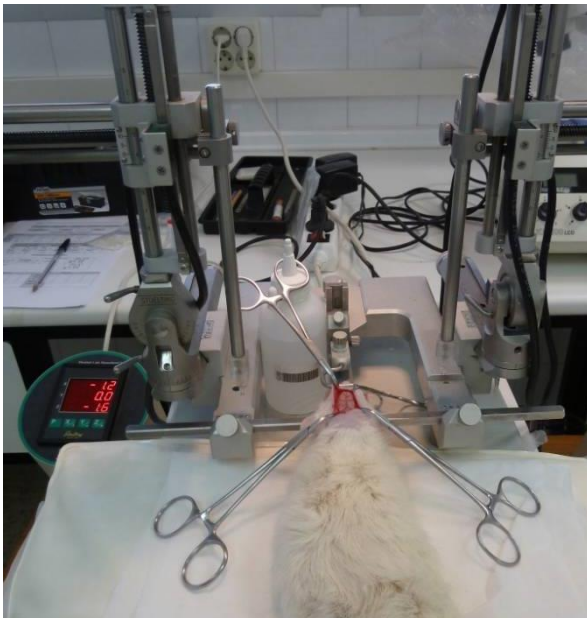


Figura 16: Fotografia d'una cirurgia estereotàxica.

Els animals van ser intervinguts quirúrgicament (figura 16) després de realitzar les diferents habituacions als paradigmes conductuals, els quals implicaven una privació d'aliment. Se'ls va implantar de manera crònica una cànula bilateral al CPL a través de cirurgia estereotàxica (Stoelting, ST51904 Manipulators Arm, Illinois, EEUU) i es van utilitzar les següents coordenades, corresponents al CPL:

+3,6 mm anterior a Bregma, \pm 0,6 mm lateral a la línia mitja sagital i - 2,9 mm de profunditat a partir de la superfície del crani (Paxinos i Watson, 1997).

La cànula consistia en un cilindre roscat de plàstic amb dos tubs d'acer de 26ga de diàmetre a l'extrem. A l'interior dels tubs d'acer hi anava col·locat un *dummy stylet* el qual consisteix en dos filaments d'acer que complien la funció de mantenir l'obertura de la cànula oberta. Finalment se li enroscava un tap de plàstic a l'extrem extern (Plastics One, Bilaney Consultants GMBH, Düsseldorf, Germany). Durant la cirurgia, els animals estaven sota anestèsia general durant aproximadament els 60 minuts que durava la intervenció utilitzant una combinació de ketamina (Imalgene 1000, 150 mg/Kg) i xilacina (Rompun, 8 mg/Kg).

Un cop els subjectes estaven anestesiats, se'ls col·locava a l'aparell d'estereotàxia subjectats per les orelles i el musell i reposaven sobre una manta elèctrica. S'aplicava un antisèptic (Topionic®, Esteve, Barcelona) i lidocaïna (100 mg/ml; Xilonibsa, Inibsa Barcelona) a la zona de la incisió. Després de la incisió se separava la membrana periòstica del crani i es localitzaven, per tal d'igualar-los en profunditat, els punts de referència cranial Bregma i Lambda, procedint a practicar dos petits orificis al crani, mitjançant un micromotor i una fresa de dentista, a través dels que s'introduïa la cànula bilateral dirigida al CPL. Aquesta va ser fixada al crani amb petits cargols i ciment dental (Vertex-Dental B.V; Pere Estrada Barcelona). Una vegada implantada la cànula es va col·locar el *dummy stylet* i el tap. Un cop finalitzada l'operació es va suturar la ferida i es va aplicar un antisèptic tòpic (Topionic®) sobre la sutura.

Immediatament després de la intervenció, els animals es col·locaven a la seva gàbia, la qual estava col·locada sobre una manta elèctrica a fi de mantenir la temperatura corporal, que es podia veure disminuïda pels efectes de l'anestèsia, fins que es despertaven. Un cop desperts, tornaven a l'estabulari on disposaven de menjar i aigua *ad libitum* i entraven en un període post-operatori.

El període post operatori tenia una durada d'uns cinc dies, durant els quals es controlava diàriament l'estat dels animals enregistrant el seu pes i possibles

indicis d'estrès, dolor o problemes de mobilitat. També es curava la ferida amb antisèptic tòpic, es giraven els taps i els *dummy stylets* per tal d'evitar que les cànules s'obturessin.

Un cop finalitzat el període de recuperació es reiniciava el procés de privació d'aliment (85%-90% respecte el seu pes inicial) per a dur a terme els diferents paradigmes conductuals i es realitzaven les diferents sessions d'habitució a les gàbies de comportament i al procés de microinfusió de les diferents substàncies.

1.1.2 Microinfusions

Sis dies després de la cirurgia, i abans de les sessions de comportament, les rates van ser habituades al procediment de la microinfusió (figura 17) per a reduir el possible estrès associat a aquest procediment. Aquesta habituació consistia en immobilitzar l'animal amb un drap i col·locar-lo al costat de la bomba d'infusió en funcionament. D'aquesta manera l'animal s'acostumava a estar immobilitzat durant un temps determinat i al soroll de la bomba. També es va manipular el *dummy stylet* de l'animal ja que el dia de la infusió és necessari treure'l i col·locar el microinjector en el seu lloc.



Figura 17: Fotografia d'una administració intracerebral amb bomba d'infusió

Per a realitzar les infusions de les substàncies es va introduir a dins de la cànula implantada un microinjector d'acer inoxidable (PlasticsOne®, Bilaney Consultants GMBH, Alemanya) i amb l'ajuda d'una bomba d'infusió, (11 plus SyringePump, HarvardApparatus Inc., Holliston, Massachusetts EEUU) a la qual s'acobraven dues xeringues de precisió (SGE Analytical Science syringes 10 μ L), es conduïa la dissolució fins el microinjector.

Deu minuts abans de la sessió d'adquisició de les tasques conductuals es va administrar el fàrmac S18986 (0,6 μ g per 1000 μ l de DMSO) o el seu vehicle (DMSO) al CPL. I un cop finalitzada l'adquisició de la tasca, immediatament després s'administrava l'SCOP (SCOP 40 μ g per 1000 μ l per de PBS) o el seu vehicle PBS (tampó fosfat salí 0.1M pH 7,4). Les infusions consistien en administrar un volum de 500 μ l/hemisferi durant 2 minuts a una taxa de 0,25 μ l/minut. S'afegia un minut d'espera al final de cada infusió, abans de enretirar el microinjector, per assegurar la correcta difusió de la substància i evitar-ne un possible reflux.

La concentració i el volum dels fàrmacs administrats es van establir a partir d'estudis previs. Així, prèviament s'havia demostrat que 20 μ g/hemisferi de SCOP en el CPL interrompia l'adquisició de la TSPA (Boix-Trelis et al., 2007), i la formació de memòries olfactòries com la DSO (Carballo-Márquez et al., 2009). Respecte S18986, s'ha demostrat que rates que rebien 0,3 μ g/hemisferi intracerebralment al CPL, mostraven menys errors i latències en la DSO (Yefimenko et al., 2013).

1.1.3 Discriminació simple d'olors (DSO)

1.1.3.1 Habitució i privació:

Abans de la cirurgia estereotàxica, els animals van realitzar, durant tres dies consecutius, una sessió diària d'habitució amb l'objectiu de familiaritzar-se amb el reforç (cereal de xocolata; Kellogg's, Spain) a utilitzar durant la prova d'aprenentatge i a l'espai on portaria a terme l'aprenentatge i el test.

L'habitució al reforç es realitzava immediatament abans de l'habitució a l'aparell, en gàbies de plàstic de 50 x 22 x 14 cm amb una coberta d'enreixat metàl·lic i amb polsim de cereal escampat per tota la superfície. L'animal hi romania fins que consumís 10 peces de cereal de xocolata en cada sessió d'habitució.

Les habituacions a l'aparell tenien una durada de 15 minuts, i l'aparell va consistir en una caixa de fusta de color negre d'1 cm de gruix de mides 60x60x40 cm amb un terra de metacrilat de color negre. Durant l'habitució a l'aparell s'introduïen 3 esponges de 8.5x6.5x5.5 cm amb un forat al centre de 3 cm de diàmetre i 2.5 cm de profunditat (on es col·locaria el reforç durant la tasca). Les esponges eren situades dins d'uns recipients de vidre del mateixa mida però de menys alçada (veure figura 18), i ubicades en una posició diferent dins de l'aparell cada dia d'habitució, tal i com es realitzaria posteriorment en els diferents assaigs de la tasca. Un cop finalitzades les sessions d'habitució, les rates eren retornades a la seva gàbia dins de l'estabulari.

Degut a que l'ordre en què els animals realitzaven les diferents proves de comportament es contrabalancejava, els animals que realitzaven primer la DSO un cop superat el període postoperatori, que comprenia al voltant de dues setmanes, realitzaven novament una sessió d'habitució idèntica a les tres anteriors, la qual anomenem rehabilitació donat el temps que transcorre entre una i l'altra. En canvi, els animals que realitzaven la DSO després de la tasca TSPA duïen a terme l'última habitució ("rehabilitació") 24h després de la tercera sessió d'habitució.

1.1.3.2 Adquisició i test de la tasca DSO

- Adquisició

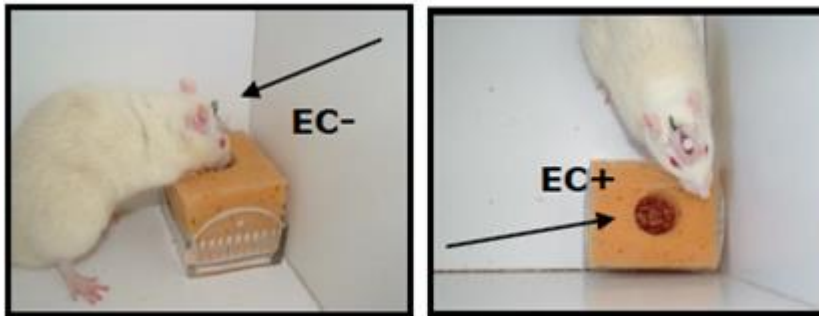


Figura 18: Representació dels dos tipus d'errors enregistrats. (Adaptat de Portero-Tresserra (2013). Efectes de la D-cicloserina en l'aprenentatge olfatori, espacial i en la plasticitat neural en animals sans i amb dèficit cognitiu

Un dia després de la sessió de rehabilitació, o de la quarta habituació segons el cas, es

realitzava

l'adquisició de la tasca de DSO,

consistent en una única sessió de quatre assaigs de 3 minuts de durada màxima cadascun (figura 19). L'interval entre assaigs era d'1 minut.

Per a aquest aprenentatge associatiu es van emprar tres esponges com les utilitzades en les habituacions, però impregnades cadascuna amb una aroma alimentària diferent: anís (0,2ml), vainilla (0,3ml) i taronja (0,6ml) (Vahiné, Ducros S.A., Sabadell, Espanya). El reforç s'ubicava dins del forat de l'esponja, de manera que el subjecte havia d'introduir el seu musell a dins del forat per a obtenir la recompensa. A més a més, s'esmicolava una peça addicional de cereal per cobrir la superfície de la caixa, tal i com fèiem en l'habituació al reforç, per tal de facilitar l'associació entre el reforç i l'espai nou. Hi havia un límit de 3 minuts de latència per als subjectes per trobar el reforç. Els subjectes que superaven aquest temps de 3 minuts en més d'un assaig, eren exclosos de l'experiment.

L'olor associada al reforç era assignada aleatòriament a cada rata i entre els assaigs es canviava la configuració espacial de les esponges amb l'objectiu que l'animal no es pogués guiar per pistes contextuais, però reforçant sempre la mateixa olor (assaig 1: SO, assaig 2: NE, assaig 3: NO i assaig 4: SE). Al inici de cada sessió de l'adquisició, es va situar l'animal a la cantonada sense esponja, mirant a la paret. En el primer assaig, es col·locava un cereal a cada

cantonada de l'esponja diana amb la finalitat de facilitar l'adquisició de l'associació entre estímuls (olor i reforç).

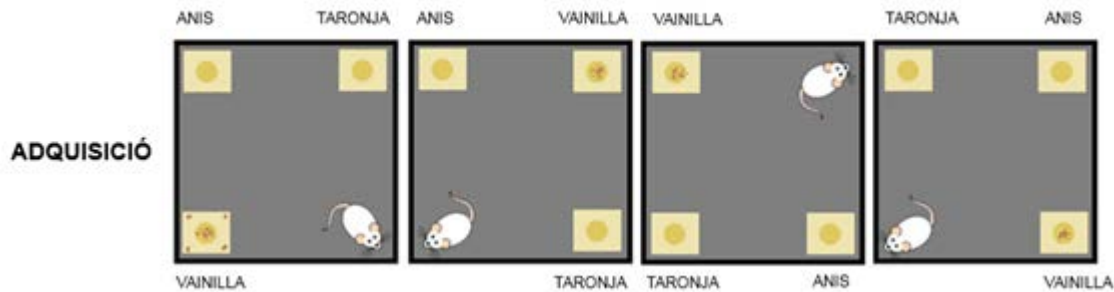


Figura 19: Esquema dels quatre diferents assajos de la fase d'adquisició de la tasca DSO.

En cada assaig es calculava la latència dels animals en emetre la resposta (introduir el musell dins l'esponja reforçada i consumir el cereal), el nombre d'errors d'omissió (ensumar l'esponja reforçada sense introduir-hi el morro) i els errors d'olor (introduir el musell dins d'una esponja no reforçada).

Deu minuts abans del inici de la sessió es realitzava l'administració de S18986 o DMSO segons el grup experimental. Finalment, immediatament després de la sessió d'adquisició, els subjectes rebien la microinfusió d'SCOP o PBS, segons el grup determinat.

- Retenció a les 24h i a les 48h

Vint-i-quatre i quaranta-vuit hores després de la sessió d'entrenament, es van dur a terme les sessions de retenció utilitzant el mateix procediment que l'emprat en la sessió d'adquisició, amb l'excepció del primer assaig amb pistes (figura 20). En el primer assaig de la retenció, cap de les tres esponjotes estava reforçada, així aquest assaig es pot considerar com un retest i és una mesura directa del record. A partir del segon assaig, es tornava a col·locar el reforç a l'interior de l'esponja reforçada. D'aquesta manera, la sessió de retenció constava de 3 fases: extinció (assaig 1), resistència a l'extinció (assaig 2) i reaprenentatge (assaigs 3 i 4) (Torras-Garcia et al., 2005).

Com en la sessió d'adquisició, les ubicacions de les esponges s'intercanviaven aleatòriament entre assaigs. Les variables mesurades van ser les mateixes que en la sessió d'adquisició (latència de resposta, errors d'olor i errors d'omissió).

Totes les sessions de DSO van ser enregistrades amb una càmera de vídeo (JVC, Eveiro Model GZ-X900).

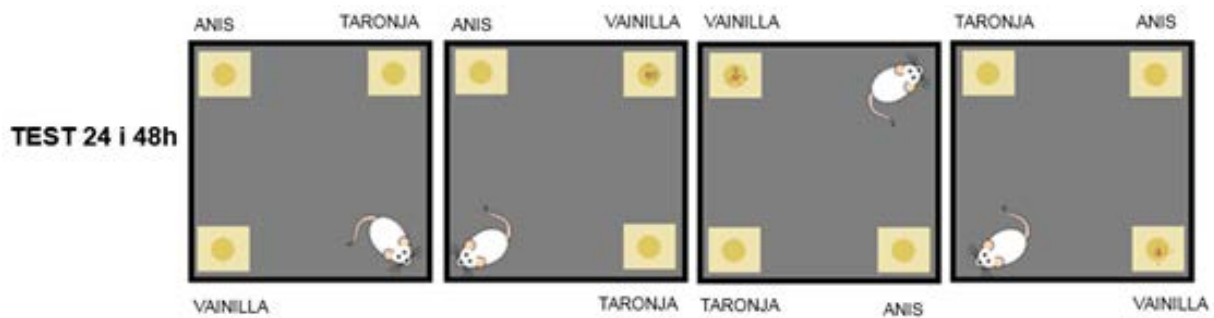


Figura 20: Esquema dels quatre diferents assajos de la fase test de la tasca DSO.

1.1.4 Transmissió social de preferència d'aliment (TSPA)

Aquesta tasca conductual consisteix en què un subjecte (observador) interaccioni amb un altre de la mateixa espècie (demostrador) el qual ha ingerit recentment un aliment aromatitzat. Durant aquesta exposició, l'observador forma una associació entre l'olor de l'aliment aromatitzat i un component volàtil natural de l'alè del demostrador, el CS₂.

1.1.4.1 Habitució i privació

Amb l'objectiu de què els subjectes observadors es familiaritzessin amb els recipients amb menjar en pols, es van dur a terme quatre sessions d'habitució, en dies consecutius o en el cas d'aquells animals que van realitzar aquesta tasca abans de la DSO, 3 dies consecutius més una rehabilitació post-cirurgia. Les habituacions tenien una durada de 2 hores el primer dia, 1 hora el segon, 45 minuts el tercer i 30 minuts el quart dia. Aquestes sessions tenien com a objectiu minimitzar la possible neofòbia associada a l'aliment i l'ambient o al menjar en pols.

Aquesta tasca es va realitzar en caixes de fusta rectangulars negres de 50 x 25 x 30 cm. Dins s'hi va col·locar una safata quadrada negra de plàstic Plexiglas (21 x 21 cm) que contenia dos suports de plàstic adjacents fixats al centre de la base. El menjar per a rata en pols (Scientific Animal Food & Engineering, Augy, France) es va introduir en recipients de vidre de 130 ml que es van col·locar dins els suports de plàstic. Pel que fa a les rates demostradores, les habituacions es van dur a terme a la seva pròpia caixa de plàstic transparent on s'hi va introduir una safata de Plexiglas de 21 x 10 cm amb un únic suport de plàstic i amb un recipient de vidre amb el menjar en pols.

Durant les habituacions es mesurava la quantitat d'aliment ingerit i es considerava que un consum menor de 3gr en dues de les sessions esdevenia un criteri d'exclusió del subjecte de l'experiment.

1.1.4.2 Adquisició de la Transmissió social de preferència alimentària (TSPA)



Figura 21: *Interacció social entre els animals demostrador i observador en l'adquisició de la tasca TSPA.*

Per a fer l'adquisició, en primer lloc el subjecte demostrador consumia un dels dos aliments en pols aromatitzats amb xocolata (2,2%; Oxfam Fairtra, Gent, Belgium) o canyella (1%; Carmencita, Alicante, Espanya), escollit aleatòriament i de manera contrabalançada durant 30 minuts a la seva pròpia gàbia.

De forma paral·lela, 10minuts després de l'inici de la ingesta del demostrador, els subjectes observadors eren sotmesos a la infusió pre-adquisició de DMSO o S18986, segons el grup preestablert. Immediatament després es retornava l'animal observador a la seva gàbia durant 20 minuts.

Un cop passat aquest temps, el subjecte demostrador que prèviament havia ingerit l'aliment aromatitzat s'introduïa a la gàbia de l'animal observador i

s'iniciava la interacció social (figura 21), la qual durava 30 minuts. Durant l'adquisició es registraven les interaccions socials dels animals a fi d'avaluar el comportament dels subjectes. Així, es van mesurar el nombre de vegades que el subjecte observador ensumava el musell (variable "*Sniffs* musell del demostrador"), el cos (variable "*Sniffs* cos del demostrador") i la zona anogenital (variable "*Sniffs* zona anogenital del demostrador") del subjecte demostrador. Es va definir un *sniff* com una orientació menor de 2 cm al musell de l'observador cap el demostrador. En aquesta fase també es va mesurar el nombre de cops que l'animal observador es netejava (*Groomings*), així com també si hi havia algun comportament agressiu de lluita (*fighting*) entre les dues rates.

Immediatament després de la interacció social, es retornava el subjecte demostrador a la seva gàbia, i l'animal observador rebia la infusió de SCOP o PBS, segons el grup. Finalment es retornava l'animal observador a la gàbia i se'l mantenia en estat de privació de menjar per garantir la motivació pel menjar al test del dia següent.

1.1.4.2 Test a les 24h i 48h de la TSPA



Figura 22: Fotografia del test de la TSPA.

Vint-i-quatre i quaranta-vuit hores després de la sessió d'interacció social, els subjectes van ser sotmesos als tests de preferència alimentària (figura 22 i 23). Aquestes sessions de retenció de la TSPA tenien una durada de 45 minuts i consistien en presentar al subjecte entrenat, dues opcions de menjar aromatitzat, un dels quals era el que s'havia donat a l'animal demostrador amb el que havia interaccionat, l'aroma entrenat. La posició dels dos aliments, entrenat (ME) i no entrenat (MNO), era escollida de forma contrabalançada entre grups. El record de l'aprenentatge es basa en la següent premissa: si els subjectes observadors havien après l'associació entre l'olor de l'aliment aromatitzat i el CS₂ de l'alè del

demostradoringerien una major quantitat del menjar ME, respecte a l'altre aliment aromatitzat presentat (MNE).

Un cop finalitzada cada sessió, es va calcular el percentatge de preferència pel menjar entrenat amb la següent fórmula $\left(\frac{ME}{ConsumTotal}\right) * 100$ obtenint d'aquesta manera el percentatge de preferència per a cada aliment. Aquesta mesura es considerava com a índex d'aprenentatge de la tasca de TSPA. També es va mesurar la quantitat total d'aliment ingerit ($ME + MNO$), a fi de controlar aspectes motivacionals.

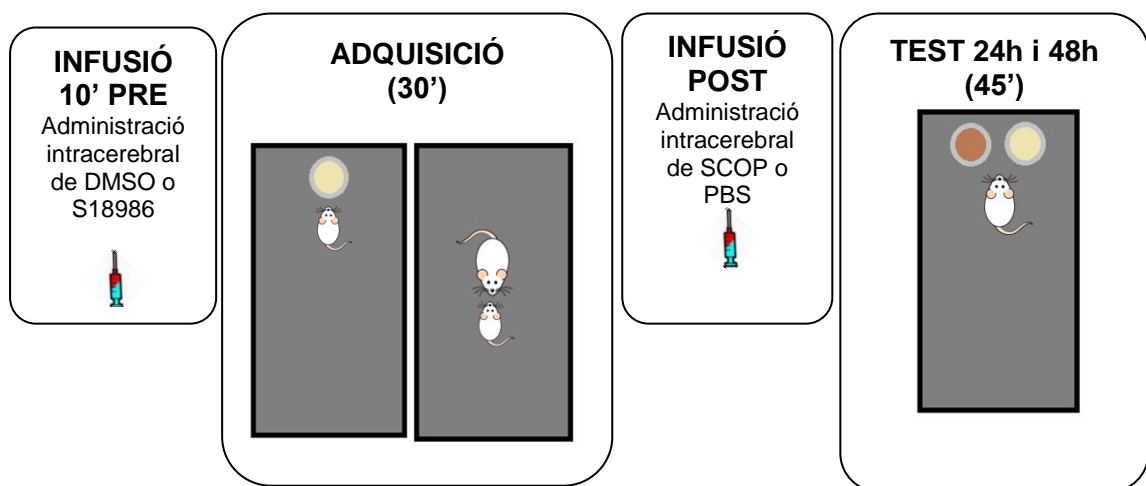


Figura 23: Representació esquemàtica de l'adquisició i els tests de la tasca TSPA.

Totes les sessions eren enregistrades en vídeo(JVC, Eveiro Model GZ-X900), amb la finalitat d'avaluar possibles efectes en la conducta exploratòria dels animals o en la seva activitat locomotriu.

D'altra banda, per controlar un possible efecte sobre la motivació per la ingesta, es va controlar el consum total del menjar en els diferents grups experimentals. Finalment, per tal d'avaluar una possible resposta neofòbica pel menjar aromatitzat es va comparar el consum total de menjar durant el test amb el consum total de l'última sessió d'habitució al menjar en pols, el qual no contenia cap aroma.

1.1.5 Test de percepció olfactiva

Per tal de controlar possibles efectes dels tractaments sobre la capacitat olfactiva dels animals, una setmanadesprés de les sessions de test es va realitzar una prova de percepció olfactiva.

Vint-i-quatre hores abans de la realització del test, les rates van ésser habituades a menjar unes galetes de mantega (Brambly Hedge, Dinamarca), col·locant un quart de galeta en les seves gàbies habituals. Deu minuts abans del test, es va realitzar una infusió de S18986 o DMSO, segons el grup. La infusió de SCOP i la de PBS van ser realitzades 24h abans del test, immediatament després de la sessió d'habitució a fi d'imitar les mateixes condicions dutes a terme en les tasques conductuals DSO i TSPA. La prova es va realitzar en caixes de plàstic de 50 x 22 x 14 cm amb un fons de flocs a sota dels quals es va amagar una galeta de mantega, a una de les cantonades. El test consistia en col·locar l'animal en la part oposada de la gàbia on es trobava la galeta i enregistrar el temps necessari per a trobar-la i desenterrar-la de sota els flocs (latència de resposta).

1.1.6 Prova de Camp obert

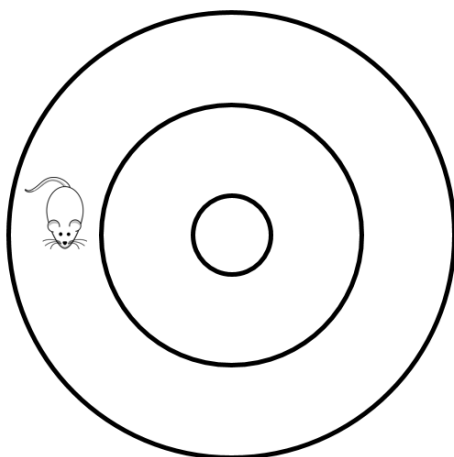


Figura 24: Representació esquemàtica del laberint de camp obert i les diferents zones en que se subdivideix.

A fi de descartar possibles efectes dels tractaments sobre la conducta motora dels animals, es va realitzar la prova de camp obert amb una mostra dels subjectes (figura 24).

Els subjectes van rebre una infusió de S18986 o DMSO en el CPL deu minuts abans de la realització de la prova, excepte la d'SCOP i la de PBS que van realitzar-se 24h abans de la sessió. Passats els deu minuts, es va introduir l'animal en una caixa

circular de fusta (50 cm x 50 cm x 35 cm) i es mesurava durant 10 minuts l'activitat motora de la rata mitjançant un sistema de monitorització de l'activitat motora (SMART, Letica, Barcelona, Spain).

El software utilitzat ens va permetre mesurar la distància total recorreguda, així com el número d'entrades a cadascuna de les zones que el componen (circumferència externa, interna i centre), la distància recorreguda i el percentatge de temps que els animals passaven en la zona central de la caixa, delimitada virtualment (22,5 cm x 22,5 cm).

1.1.7 Eutanàsia i Histologia

En acabar totes les tasques conductuals, els animals van ser anestesiats amb una sobredosi de Pentobarbital Sòdic (Dolethal 200mg/kg, Vetoquinol S.A., Madrid). Seguidament van ser sotmesos a una perfusió intracardíaca, utilitzant una bomba de perfusió (a 70 rpm amb un cabal aproximat de 40 ml/minut. J.P. Selecta, S.A. Barcelona) i administrant, primer, solució salina per netejar els vasos sanguinis i, en segon lloc, formalina (al 10%, 200 ml de c/u). Tot seguit, es va procedir a l'extracció de les cànules implantades i del cervell. Els cervells es van submergir en formalina i es van conservar a 4°C durant un mínim de 24 hores, abans de ser submergits en sucrosa al 30% durant tres dies més a 4°C.

Per cada subjecte, es van obtenir seccions coronals seriades de 40 µm de gruix a través d'un criòstat (Cryocut 1800, equipat amb un micròtom 2020, Reichert-Jung). Les làmines del cervell van ser posicionades en portaobjectes prèviament gelatinitzats i conservats a 4°C. Finalment va realitzar-se una tinció amb violeta de cresil 0,5%, per a la futura observació al microscopi (Olympus BX 41; Olympus Optical CO, LTD, Japó). Amb l'ajut de l'atles de Paxinos i Watson (1997) es van localitzar les cànules i es va comprovar la correcta seva correcta implantació al CPL.

1.1.8 Anàlisi de dades

Totes les dades han estat analitzades mitjançant el software estadístic SPSS v.20 (IBM). Per a l'anàlisi de la tasca DSO es va dur a terme l'anàlisi de la variància ANOVA per a cada sessió (adquisició, test a les 24 hores i test a les 48 hores) i la prova de contrastes *Post-Hoc* Tukey, on la variable independent és Grup, amb quatre categories i les variables dependents la latència a localitzar el reforç i el nombre d'errors.

En la tasca de TSPA el grup era la variable independent i la principal variable dependent va ser el percentatge d'ingesta de l'aliment entrenat en el test, la qual vam analitzar mitjançant l'anàlisi de la variància ANOVA i la posterior anàlisi *Post-hoc* Tukey. També vam analitzar de la mateixa manera les variables d'interacció social com són els contactes musell-musell; musell-cos i musell-anogenital així com les baralles i el *grooming* de la fase d'adquisició. En el cas de les dades obtingudes en les sessions de test, també va dur-se a terme un test-T per a una mostra contra el valor "50" a fi de determinar si hi havia diferències respecte al nivell d'atzar de record (50%). A més a més, a fi de determinar un possible efecte neofòbic fruit de la incorporació de l'aroma a l'aliment en el test es va realitzar una anàlisi de mesures repetides entre la sessió de rehabilitació i el test a les 24 hores. Finalment, es va realitzar un test de correlació de Pearson a fi de determinar la possible relació entre la ingesta de ME en els tests i els contactes d'interacció social en l'adquisició.

1.2 RESULTATS

1.2.1 Estat dels subjectes i mostra final

Es van excloure del experiment els subjectes que van patir complicacions durant el procés d'intervenció estereotàxica (n=8), durant l'administració intracerebral dels fàrmacs (n=3), per exemple obturació, i els que no van complir els criteris conductuals establerts a priori (n=7).

Un cop finalitzades les tasques conductuals, les mostres histològiques van ser analitzades per tres investigadors de forma independent a fi de comprovar la

correcta implantació de la cànula al CPL. El criteri que es va seguir per a considerar un subjecte com a vàlid va ser observar un senyal clar de les

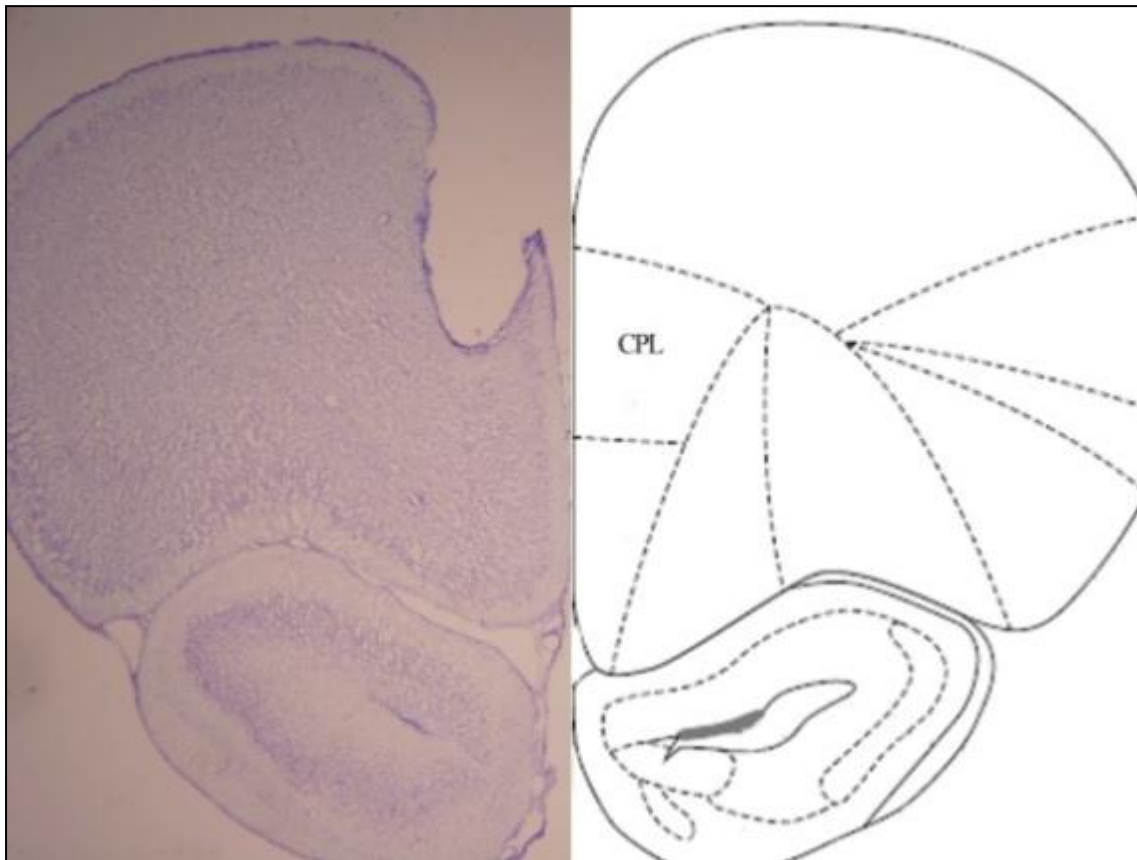


Figura 25: Microfotografia d'una secció coronal de cervell de rata tenyit amb violeta de cresil on s'aprecia la trajectòria de la cànula implantada al CPL (esquerra). Esquema extret de l'atles Paxinos & Watson (1997) de la secció coronal corresponent a AP= + 3,5mm L:±0,6mm P: - 2,9mm respecte a Bregma

cànules guia a la part superior adjacent al CPL , segons l'atles de Paxinos i Watson (1997). Tal i com es pot observar ala figura 25, l'anàlisi histològica va mostrar que la localització anteroposterior de la cànula guia de tots els subjectes variava entre 3,24 mm i 4,68 mm anterior a Bregma (Paxinos i Watson, 1997).

Els subjectes que presentaven la cànula i el microinjector implantats fora del CPL van ser exclosos de l'anàlisi de dades principal (n=13), així com aquells en els que el teixit estava malmès degut al procés de microinfusió (n=1). Així doncs, la mostra final de l'experiment, un cop aplicats els criteris histològics i d'exclusió, va constar de 29 subjectes per a la tasca DSO i de 32 subjectes per

a la tasca de TSPA (figura 26 i 27). A la taula 5 es resumeix la distribució dels subjectes experimentals.

DSO

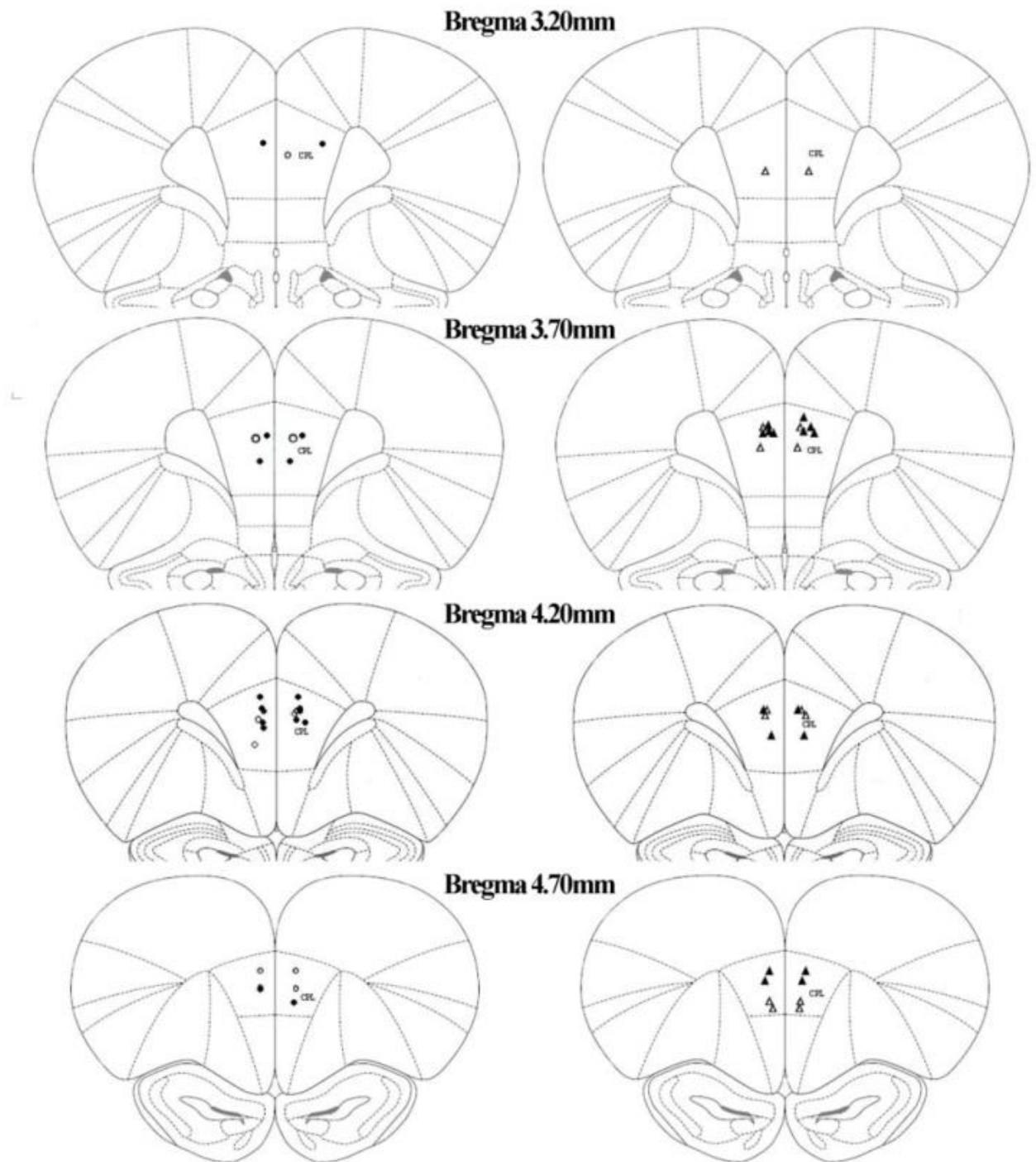


Figura 26: Localització de la punta del microinjectoren els subjectes vàlids per la tasca DSO. Cercle ple: S18986; Cercle buit: Control; Quadrat ple: S18986+Scop; Triangle ple: Scop

TSPA

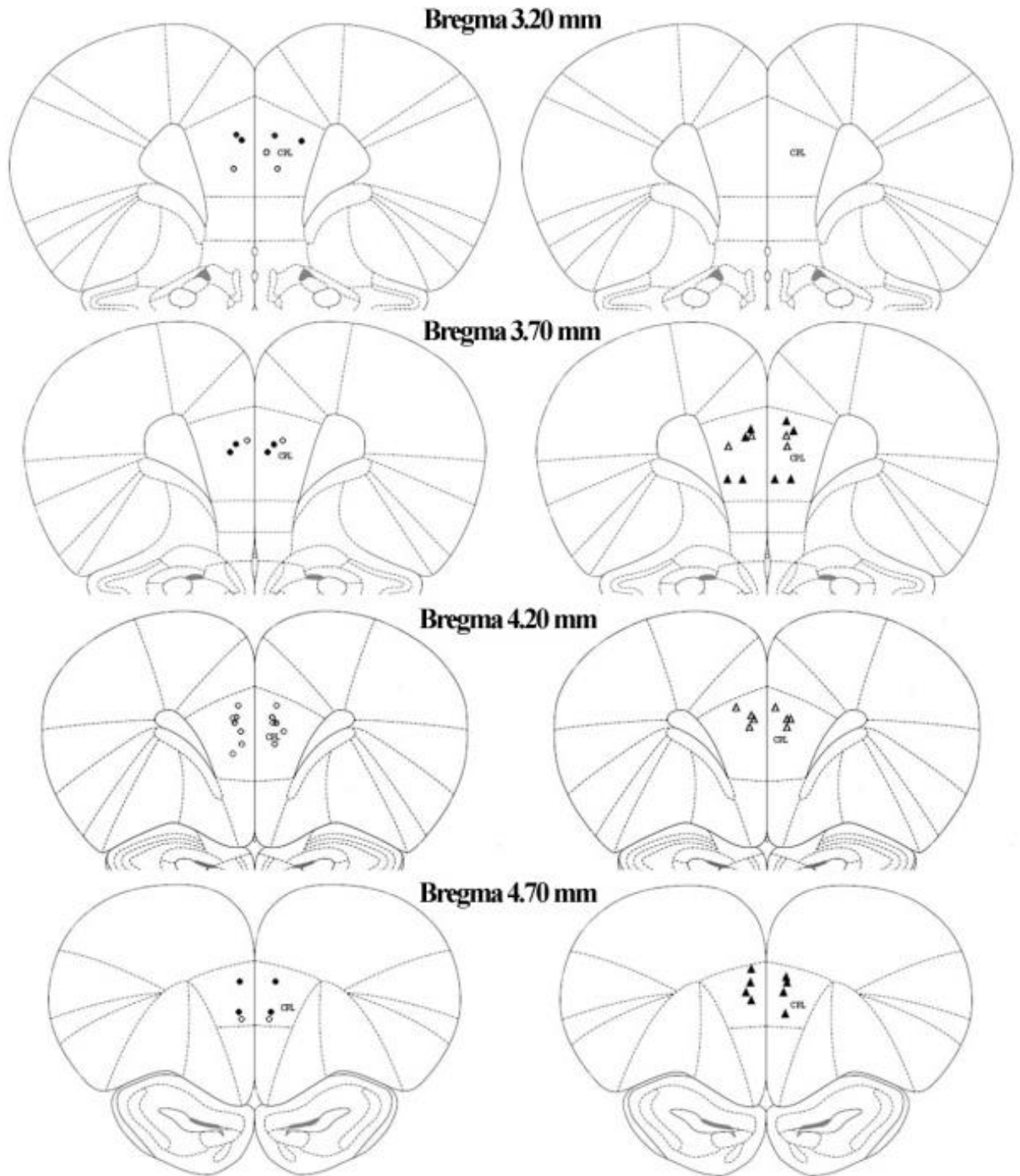


Figura 27: Localització de la punta del microinjectoren els subjectes vàlids per la tasca TSPA. Cercle ple: S18986; Cercle buit: Control; Quadrat ple: S18986+Scop; Triangle ple: Scop

Grup	Infusió Pre	Infusió Post	DSO	TSPA
S18986	S18986	PBS	N=8	N=7
CONTROL	DMSO	PBS	N=6	N=11
S18986+SCOP	S18986	SCOP	N=7	N=8
SCOP	DMSO	SCOP	N=8	N=6
			N=29	N=32

Taula 5: Distribució del nombre de subjectes per grup en l'experiment 1.

La mitjana d'edat i de pes dels subjectes al inici de l'experiment va ser de 89,3 dies (EE = $\pm 7,69$) i 351,1 grams (EE = $\pm 36,02$). A més a més, en la tasca TSPA es va utilitzar 23 animals demostradors juvenils amb una mitjana d'edat de 45,8 dies (EE= $\pm 3,27$) i 176,6 grams (EE= $\pm 22,89$) de pes .

En general, el pes dels animals va tendir a disminuir al llarg de tot el procés experimental degut a la restricció d'aliment aplicada per tal de potenciar la motivació per realitzar es tasques, que eren reforçades amb menjar. La disminució es va observant en els grups experimentals com en control. En la figura 28 podem veure el percentatge de pes respecte el pes de separació en algunes de les sessions destacades. Vàrem fer una anàlisi ANOVA per a cadascuna de les sessions representatives de les diferents fases dels experiments que ens va indicar que no existien diferències estadísticament significatives entre els diferents grups experimentals (Cirurgia, [$F_{(3,21)}=2,011$, $p=0,143$], adquisició DSO [$F_{(3,21)}=2,321$, $p=0,105$], test 24h DSO [$F_{(3,21)}=1,234$, $p=0,326$], test 48h DSO [$F_{(3,21)}=1,424$, $p=0,265$], adquisició TSPA [$F_{(3,21)}=0,270$, $p=0,846$], test 24h TSPA [$F_{(3,21)}=0,400$, $p=0,754$], test 48h TSPA [$F_{(3,21)}=0,226$, $p=0,877$]).

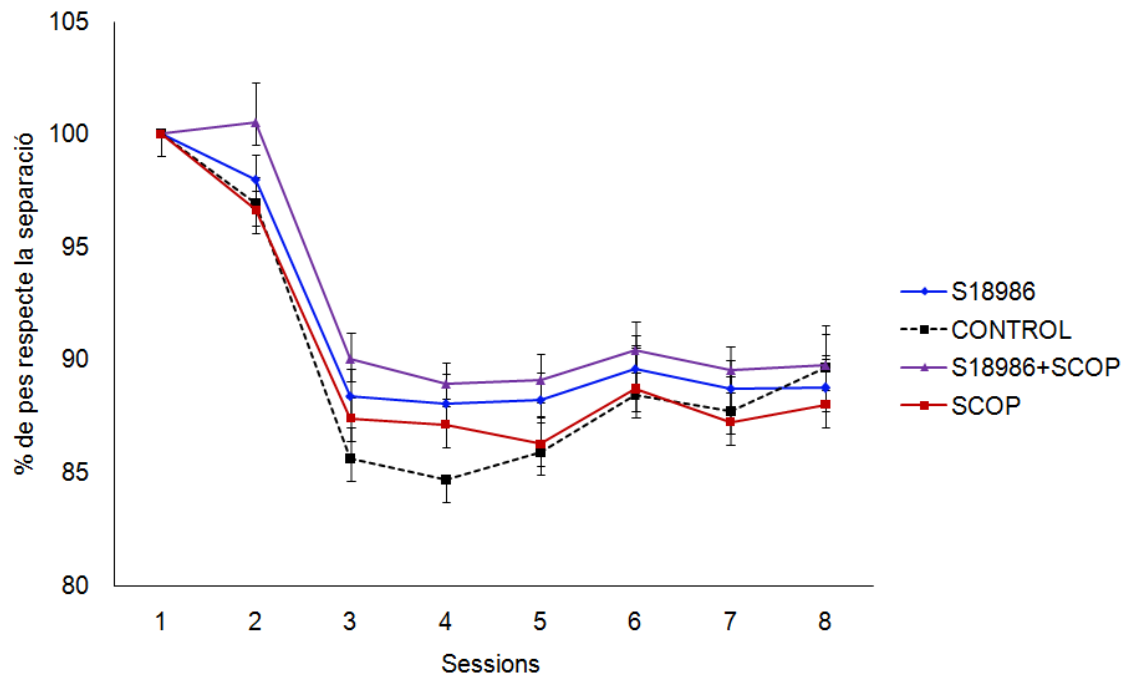


Figura 28: Mitjana del percentatge de pes respecte el pes de separació (100%), en diferents dies del període experimental: (1) dia de separació, (2) cirurgia, (3) adquisició DSO, (4) test DSO 24h, (5) test DSO 48h DSO, (6) interacció social TSPA, (7) test TSPA 24h i (8) test TSPA 48h.

1.2.2 Tasques conductuals

1.2.2.1 Discriminació Simple Olfactòria

Les variables dependents utilitzades per a l'anàlisi dels resultats conductuals en l'entrenament de la DSO, van ser la latència de resposta i el nombre d'errors totals en cadascun dels quatre assaigs de la sessió d'adquisició i en les sessions del test a les 24h i a les 48h.

En la figura 29 es representa la mitjana de la latència de resposta pel diferents grups, en les diferents sessions de DSO. L'anàlisi ANOVA per a cadascuna de les sessions DSO, va mostrar un efecte estadísticament significatiu en la latència de resposta correcta en el test a les 24h [$F(3,25) = 3,028$; $P = 0,048$], però no en l'adquisició ni el test a les 48 hores. L'anàlisi de contrastes *post hoc* de Tukey va indicar que el grup SCOP presentava un augment en la latència en trobar el reforç en comparació amb el grup CONTROL ($P = 0,047$), en el test a les 24h. Les latències del grup S18986 i del S18986+SCOP no es van diferenciar del grup CONTROL.

Pel que fa a la mitjana de la quantitat d'errors totals (figura 30), l'anàlisi ANOVA va mostrar diferències significatives en la fase d'adquisició [$F(3,25) = 4,095$; $P = 0,017$], però no en les sessions de tests a les 24 i 48h. L'anàlisi de contrast va indicar que el grup S18986 es diferenciava de forma significativa dels grups CONTROL i SCOP ($P = 0,048$; $p = 0,019$).

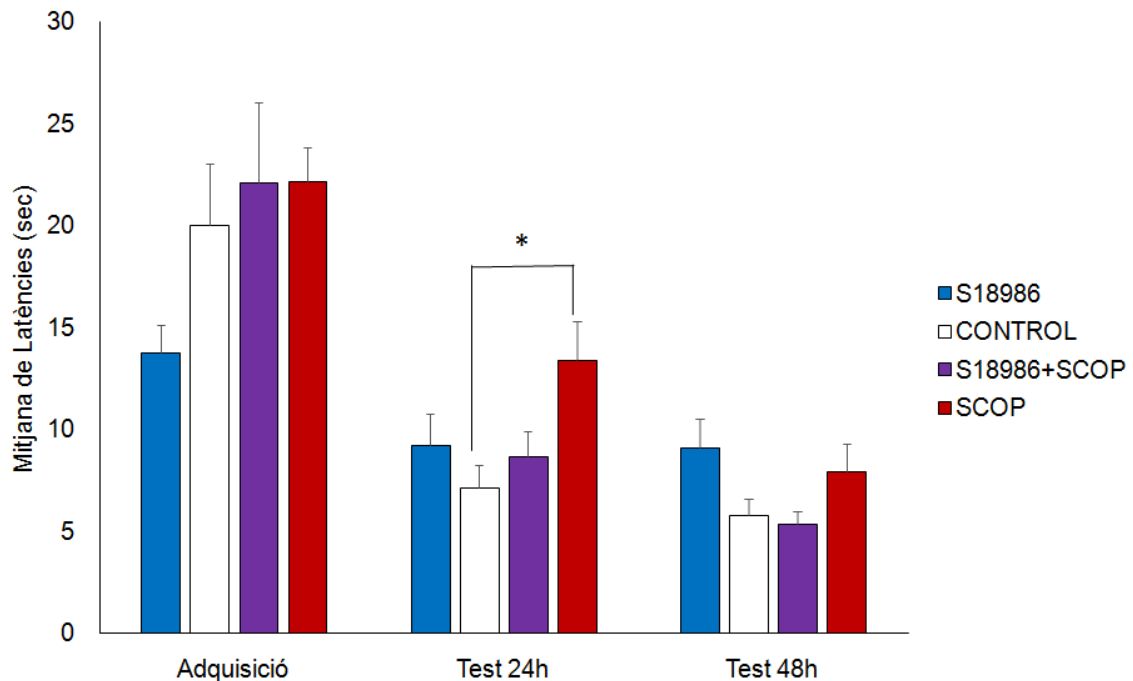


Figura 29: Latència mitjana ($\pm EE$) en l'adquisició i els dos tests de la tasca DSO. La substància S18986 i el seu vehicle (DMSO) van ser administrades 10 minuts abans de la sessió d'adquisició, pel que fa a l'SCOP i el seu vehicle (PBS) van administrar-se just acabar la sessió d'adquisició. * $p < 0.05$

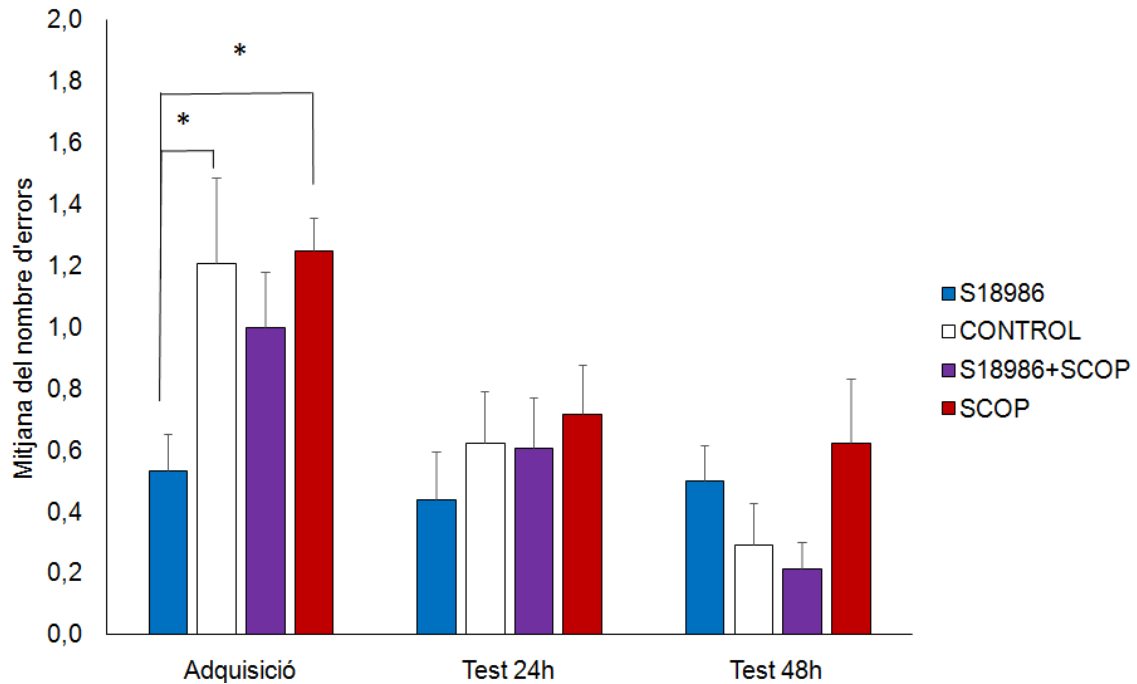


Figura 30: Mitjana del nombre d'errors ($\pm EE$) en l'adquisició i els dos tests de la tasca DSO. La substància S18986 i el seu vehicle (DMSO) van ser administrades 10 minuts abans de la sessió d'adquisició, pel que fa a l'SCOP i el seu vehicle (PBS) van administrar-se just acabar de la sessió d'adquisició. * $p < 0.05$

1.2.2.2 Transmissió Social de Preferències Alimentàries

L'anàlisi estadística de les dades obtingudes durant la fase d'adquisició de la TSPA consistia en avaluar els diferents nivells d'interacció social mostrats pels observadors i demostradors (figures 31 i 32). L'anàlisi de la variància no va mostrar diferències significatives entre grups en les variables contactes musell-musell [$F(3,26)=0,578;p=0,635$]; musell-cos [$F(3,26)=0,226;p=0,877$]; musell-anogenital [$F(3,26)=0,121;p=0,947$]. Tampoc es van observar diferències estadísticament significatives quan es van analitzar altres comportaments com són el temps dedicat al grooming [$F(3,26)=0,898;p=0,457$] i la incidència de baralles entre subjectes [$F(3,26)=1,264;p=0,310$] (Figures 31 i 32).

La variable que ens permetia determinar un correcte aprenentatge de la tasca era la preferència mostrada per l'aliment amb l'aroma entrenat. En la figura 33, es mostra el percentatge de preferència alimentària pel ME mostrat per cada grup experimental. L'anàlisi ANOVA no va mostrar diferències estadísticament significatives entre grups en la preferència pel ME, ni a les 24

[$F(3,28)=0,746;p=0,534$], ni a les 48 hores [$F(3,28)=1,251;p=0,310$] després de l'adquisició de l'aprenentatge.

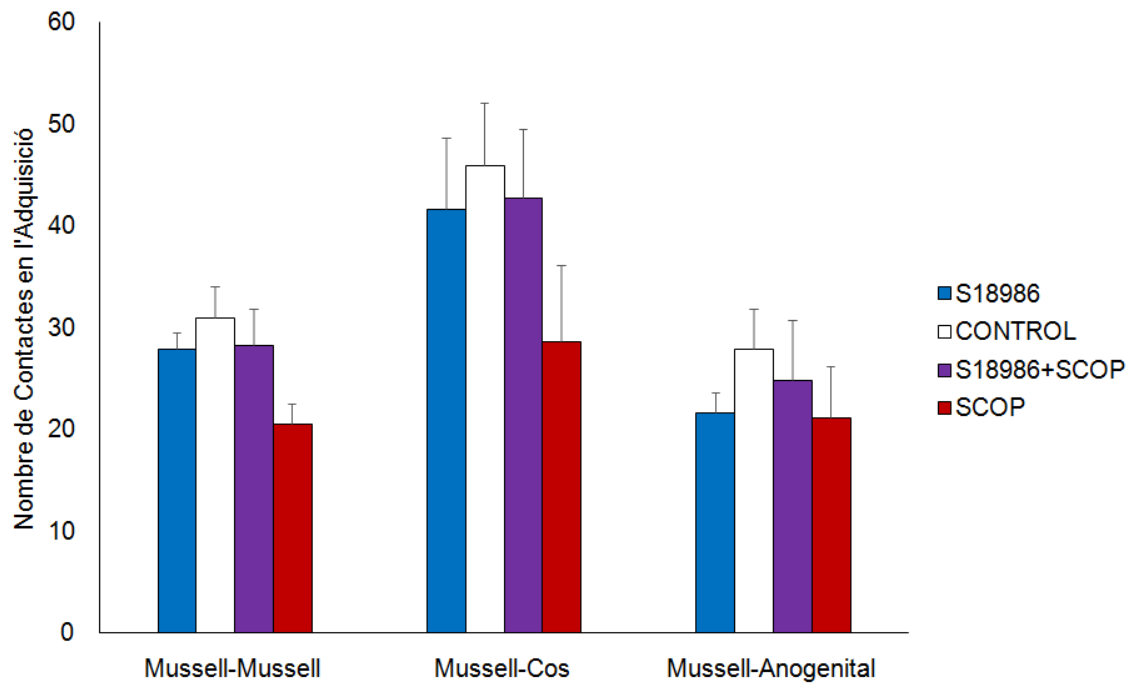


Figura 31: Mitjana ($\pm EE$) del nombre de contactes durant la sessió d'adquisició de la tasca TSPA.

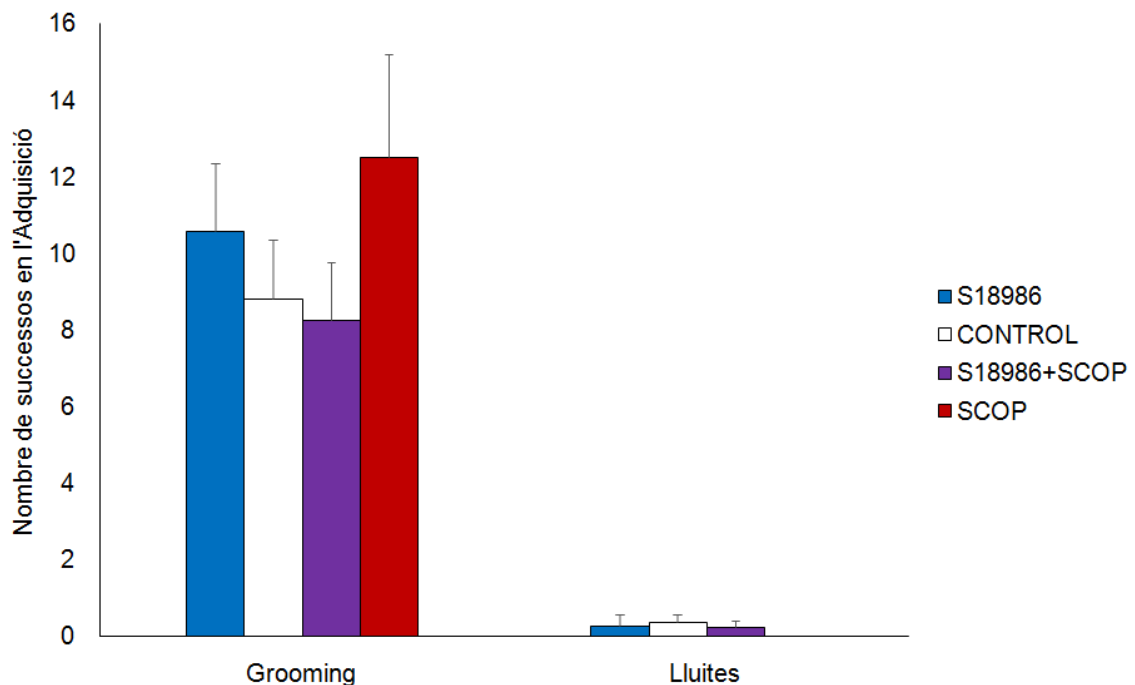


Figura 32: Mitjana ($\pm EE$) del nombre de groomings i lluites entre subjectes durant la sessió d'adquisició de la tasca TSPA.

La prova T (one-sample t-test) contra la constant de 50 es va efectuar per a determinar si el percentatge de preferència pel ME va ser similar a l'atzar (50%). Cap grup va mostrar un nivell de preferència pel menjar amb el ME diferent a aquest valor, el que indica un baix nivell d'aprenentatge en tots els grups (totes les $t < 1,325$ i tots els $p > 0,21$), si bé el grup control va mostra runa preferència superior al 60% en el primer test.

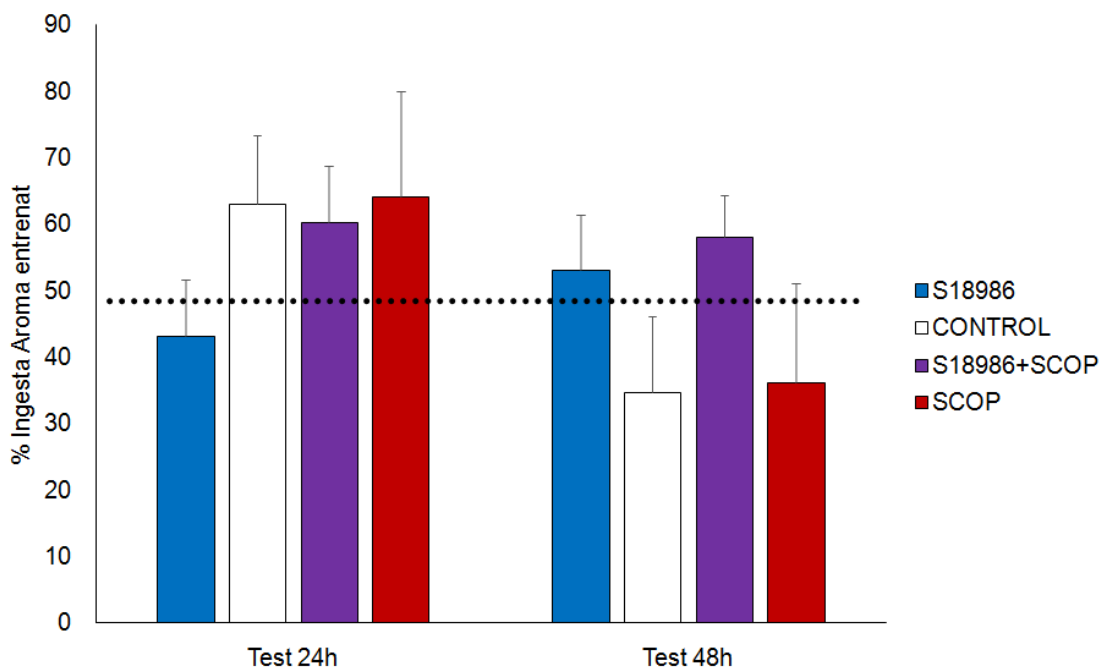


Figura 33: Mitjana del percentatge de preferència de l'aliment entrenat ($\pm EE$) respecte el total de menjar consumit en els tests de la tasca TSPA.

Un altra anàlisi que vàrem realitzar va ser un test de correlació de Pearson a fi de determinar la possible relació entre el percentatge d'ingesta de l'aliment entrenat en els tests i els contactes entre observadors i demostradors en la sessió d'interacció social. En cap de les sessions de test es detecten correlacions estadísticament significatives entre les variables analitzades (test 24h: musell: $r = -0,086$; cos: $-0,121$; ano-genital: $-0,233$; test 48h: $r = 0,226$; cos: $r = 0,384$; ano-genital: $r = 0,155$).

Per últim, vam voler descartar possibles efectes de neofòbia en incorporar el menjar aromatitzat, comparant la ingesta d'aliment durant l'última habituació (o rehabilitació) respecte la del primer test, mitjançant una anàlisi de la variànciade mesures repetides. Aquesta anàlisi va indicar un efecte estadísticament significatiu del factor quantitat de menjar [$F_{(1,28)}=29,857$; $p<0,001$] el qual ens indica una major ingesta en el test que en l'habitació 4, però les dades no ens mostren ni efecte del factor grup [$F_{(3,28)}=1,140$; $p=0,350$], ni interacció entre els factors grup i menjar [$F_{(3,28)}=0,652$; $p=0,589$]. Aquests resultats suggereixen que tot i la diferència en la ingesta d'aliment en una sessió o altra, el patró de consum va ser similar en tots els grups.

1.2.2.3 Test de percepció olfactiva

L'anàlisi estadística no va mostrar diferències estadísticament significatives entre grups [$F(3,35)=0,612$; $p=0,612$] en la latència de resposta en trobar la galeta olorosa amagada, descartant així cap efecte dels tractaments sobre la capacitat olfactiva dels subjectes (figura 34).

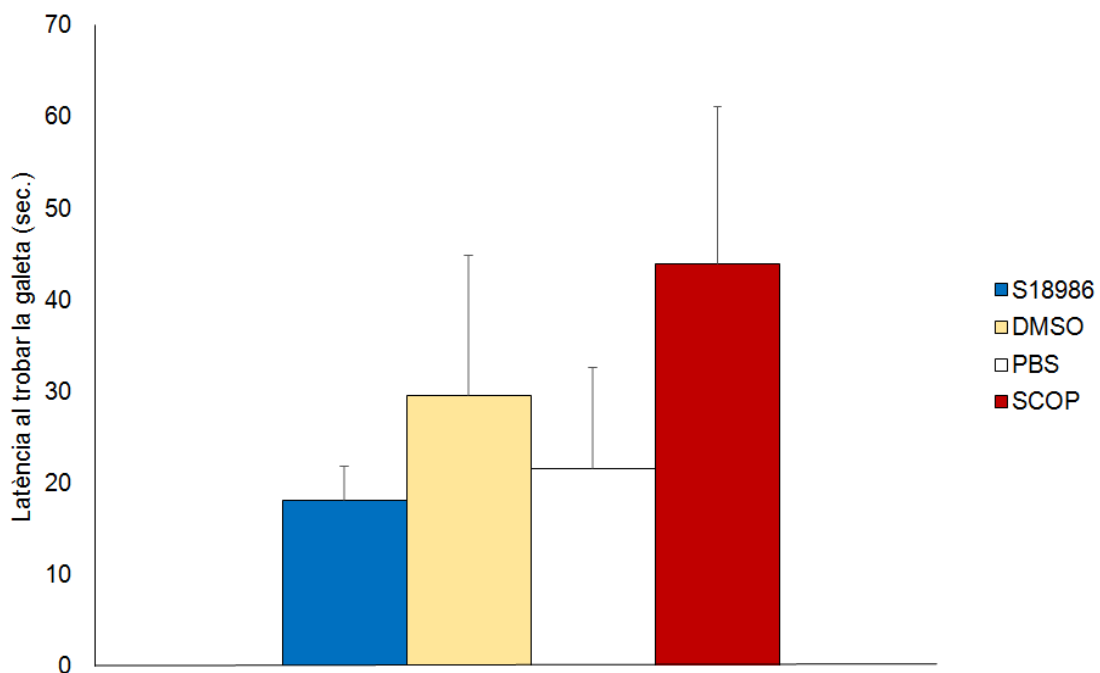


Figura 34: Mitjana ($\pm EE$) de la latència (sec.) en trobar la galeta amagada en la prova de percepció olfactiva.

1.2.2.4 Prova de Camp obert

En aquesta prova conductual es van analitzar diferents variables relacionades amb l'activitat motora, com són la distància recorreguda en les diferents regions del camp obert i la velocitat de locomoció. L'anàlisi estadística va mostrar diferències estadísticament significatives entre els grups, pel que fa al total de distància recorreguda al centre del laberint [$F_{(2,15)}=3,811;p=0,05$] l'anàlisi post-hoc va determinar que el grup SCOP es diferenciava significativament del grup CONTROL ($p=0,045$). Aquest resultat podria suggerir un possible efecte ansiolític de l'SCOP ja que va caminar més per les zones centrals que el grup CONTROL. En canvi, en la resta de variables analitzades no es van detectar diferències estadísticament significatives entre grups (velocitat mitjana a la perifèria [$F_{(2,15)}=2,022;p=0,172$]; distancia recorreguda a la perifèria [$F_{(2,15)}=2,552;p=0,116$]; velocitat mitjana al centre [$F_{(2,15)}=0,633;p=0,547$]).

EXPERIMENT 2: Efectes de l'administració de muscimol al PFn i d'S18986 al CPL en les tasques DSO i TSPA

El present experiment tenia com a principal objectiu investigar si la infusió bilateral de S18986 alCPL podia revertir els possibles dèficits induïts per la infusió bilateral de muscimol al PFn del tàlem en dues tasques olfactives: DSO i TSPA. Ambdues es consideren tasques apetitives de memòria olfactiva i han demostrat ser sensibles a la funció del CPL i PFn (Figura 35).

2.1 MATERIALS I MÈTODES

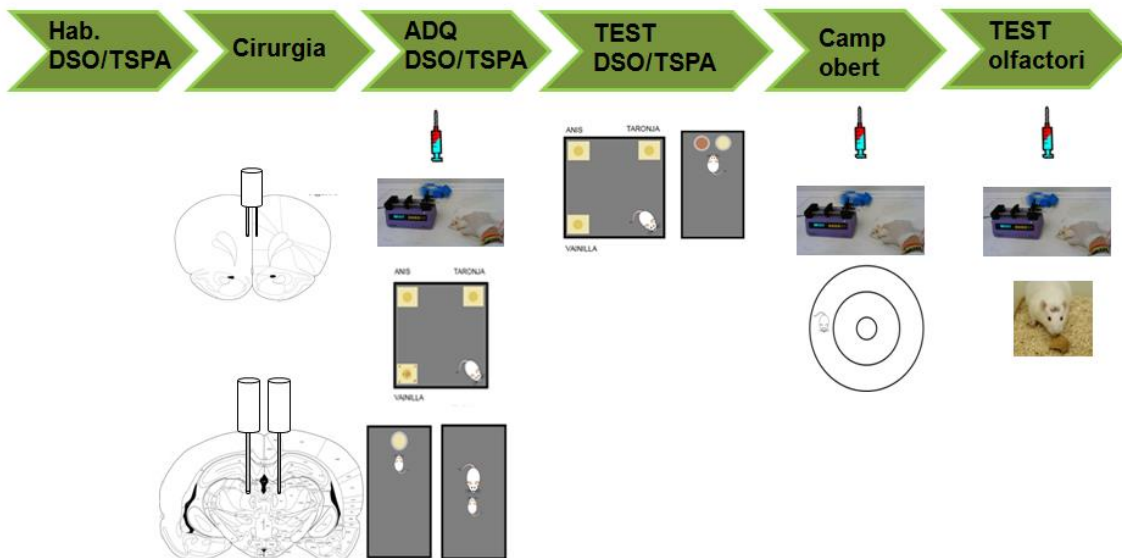


Figura 35: Esquema resum de les fases del experiment 2.

2.1.1 Cirurgia estereotàctica:

Al igual que a l'experiment 1, els animals de l'experiment 2 eren intervinguts un cop completades les tres sessions d'habituar a les tasques DSO o TSPA i les tasques comportamentals eren contrabalancejades. Per a la realització de l'experiment 2 es van utilitzar els mateixos procediments descrits en l'experiment 1 (apartat 1.1.1), però amb algunes variacions.

Utilitzant el mateix aparell d'estereotàxia, en aquest experiment van implantar-se dues cànules bilaterals (PlasticsOne, Bilaney Consultants GmbH, Düsseldorf, Germany): una al CPL (coordenades AP:+3.5mm respecte Bregma, ± 0.6 respecte la cissura medial i -2.9mm respecte la superfície del crani) i una altra al PFn (-4.1mm respecte Bregma, ± 1.0 mm respecte la cissura medial i -6.5mm respecte la superfície del crani) (Paxinos & Waison, 1997). Dins de cadascuna de les cànules, s'hi va col·locar el *dummysylet* abans de enroscar-hi el tap corresponent. Després de la cirurgia es va suturar la incisió i va aplicar-s'hi antisèptic (Topionic®, Esteve, Barcelona, Spain).

Després de la intervenció, els animals es retornaven a la seva gàbia, la qual estava col·locada sobre una manta elèctrica. Un cop desperts, els animals tornaven a l'estabulari on disposaven de menjar i aigua *ad libitum* i entraven en un període post-operatori de 5 dies. Un cop finalitzat aquest període es reiniciava la privació d'aliment i es prosseguia amb les proves conductuals, rehabilitació, habituació a la microinfusió i adquisició i tests de les tasques DSO o TSPA.

2.1.2 Microinfusions

Com en el cas de l'experiment 1, en aquest estudi s'injectaven diferents substàncies a través de les cànules, tot i que en aquest cas ambdues administracions es realitzaven pre-entrenament. Deu minuts abans de la sessió d'adquisició de DSO i TSPA s'administrava al CPL una dosi de 6 μ g de la substància S18986 per 1000 μ l de DMSO o d'aquesta mateixa quantitat de DMSO, en el cas del grup control. I cinc minuts abans de la sessió d'adquisició s'administrava al PFn una dosi de 0,09 μ g de muscimol per 0,3 μ l de PBS o aquesta mateixa quantitat de PBS pel grup control. Tant la concentració com el volum de muscimol, PBS, DMSO i S18986 es va establir a partir d'estudis previs (Brown et al., 2010).

2.1.3 Fase conductual: DSO, TSPA, test de camp obert i prova de percepció olfactiva

Els paradigmes conductuals i les habituacions prèvies pels que van passar les rates són els mateixos que en l'experiment 1 de la present tesi doctoral. De la mateixa manera que en l'experiment anterior, es restringia l'aliment fins el 85-90% respecte el seu pes inicial durant tot l'experiment excepte durant el període postoperatori.

Respecte a la TSPA, els animals demostradors utilitzats van ser els mateixos que per l'experiment 1.

2.1.4 Anàlisi de dades

El tractament de les dades per aquest experiment va ser exactament el mateix que per a l'experiment 1. (Veure apartat 1.1.8).

2.2 RESULTATS

2.2.1 Estat dels subjectes i mostra final

Un cop finalitzades les tasques conductuals i realitzats el procediments de perfusió i histologia, les mostres recollides en el criòstat van ser analitzades per tres investigadors de forma independent a fi de comprovar la correcta implantació de les cànules al CPL i al PFn. Segons l'atles de Paxinos i Watson (1997), les regions d'interès comprenen des de Bregma +3,24 mm a +4,68mm pel que fa al CPL i des de -3,8 a -4,52 respecte Bregma pel que fa al PF (Figura 36). Aquells subjectes que presentaven la cànula fora d'aquest rang van ser eliminats de l'experiment (n=7), així com aquells que no van complir els criteris conductuals fixats (veure apartat 1.1.3.2) (n=2 en la tasca DSO) o van presentar problemes en la cirurgia (n=6) (figures 37 i 38).

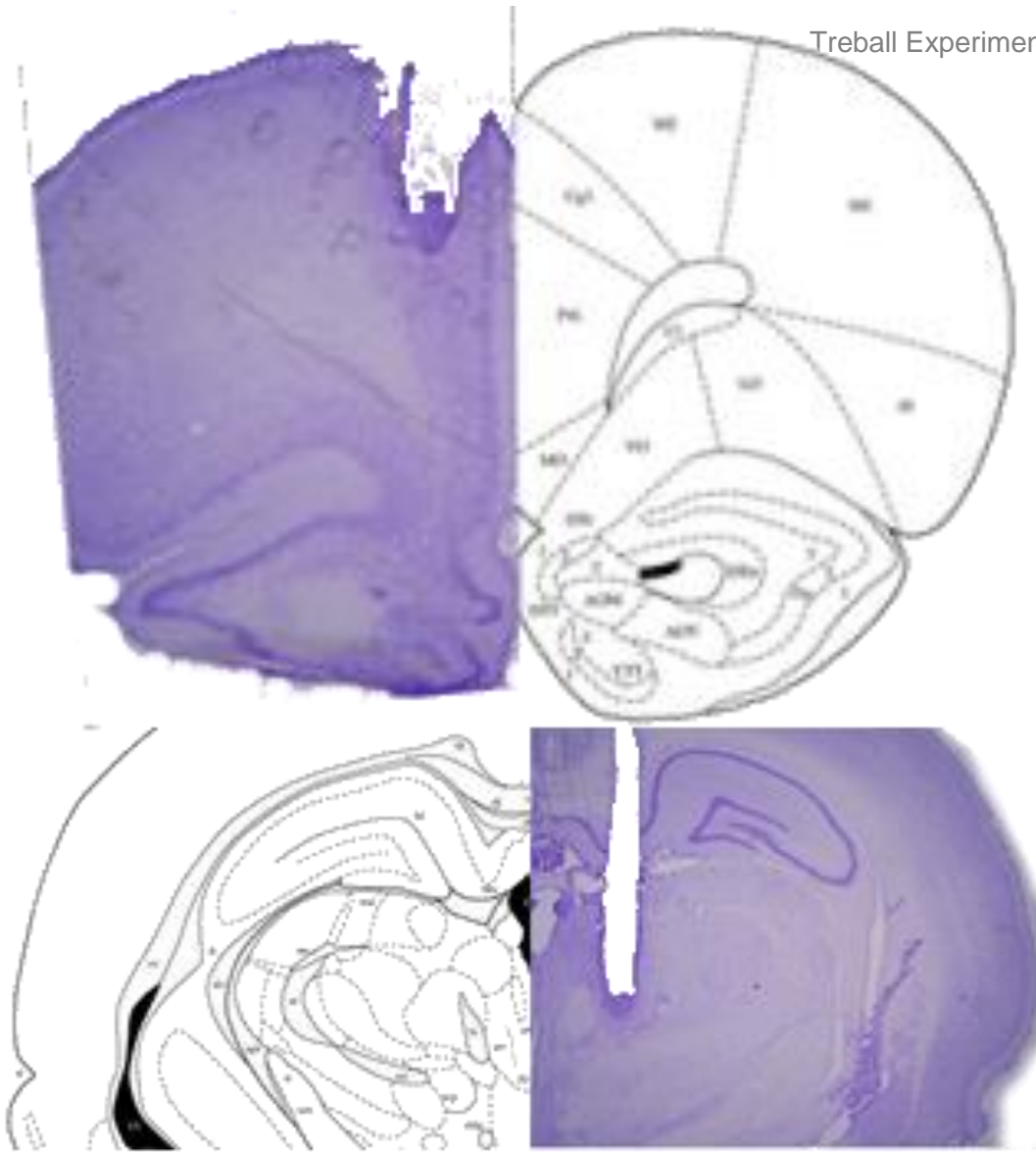
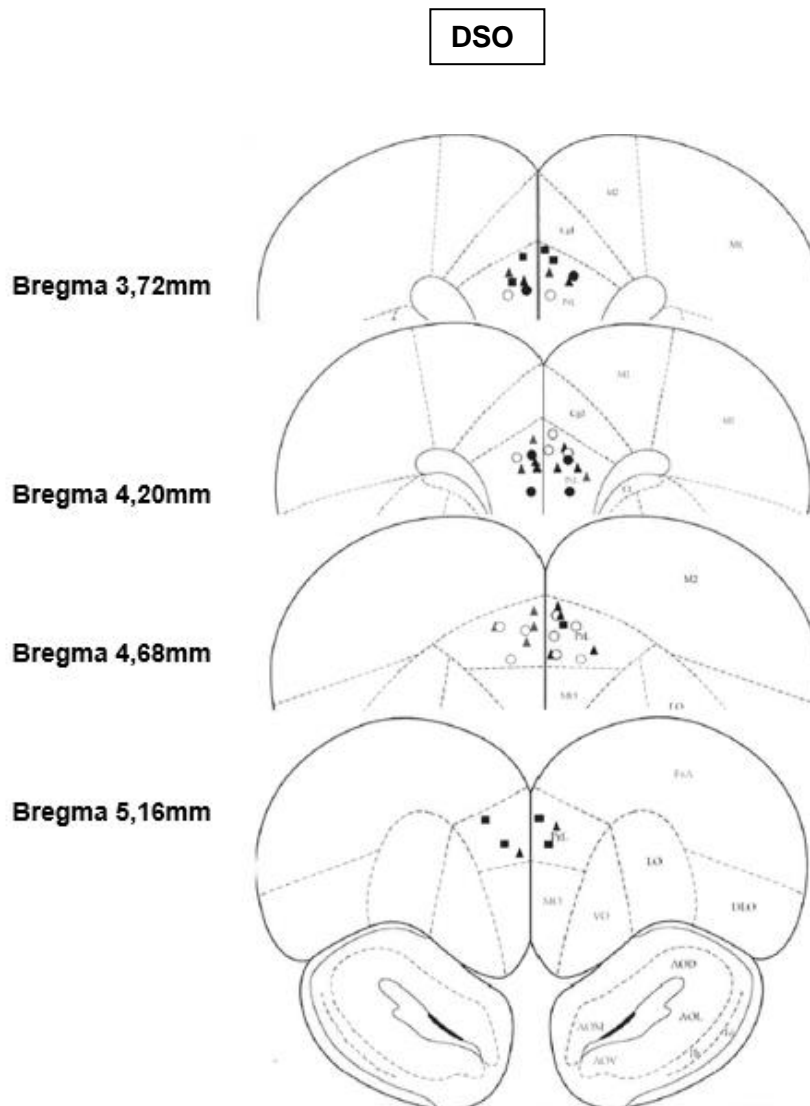


Figura 36: Microfotografia d'una secció coronal tenyida amb violeta de Cresil on s'observa la trajectòria i punta de la cànula implantada al CPL (esquerra) i al nucli PF (dreta), en una representació esquemàtica extreta de l'atles Paxinos & Watson (1997).

Així doncs, en la taula 6 es resumeix la mostra final de subjectes per acadascuna de les tasques.

GRUP	Infusió Pre (10')	Infusió PRE (5')	DSO	TSPA
EXPERIMENTAL				
S18986	S18986	PBS	N=9	N=12
CONTROL	DMSO	PBS	N=7	N=10
S18986+MUSC	S18986	MUSC	N=9	N=5
MUSC	DMSO	MUSC	N=12	N=12
			N=37	N=39

Taula 6: Mostra final per a l'experiment 2



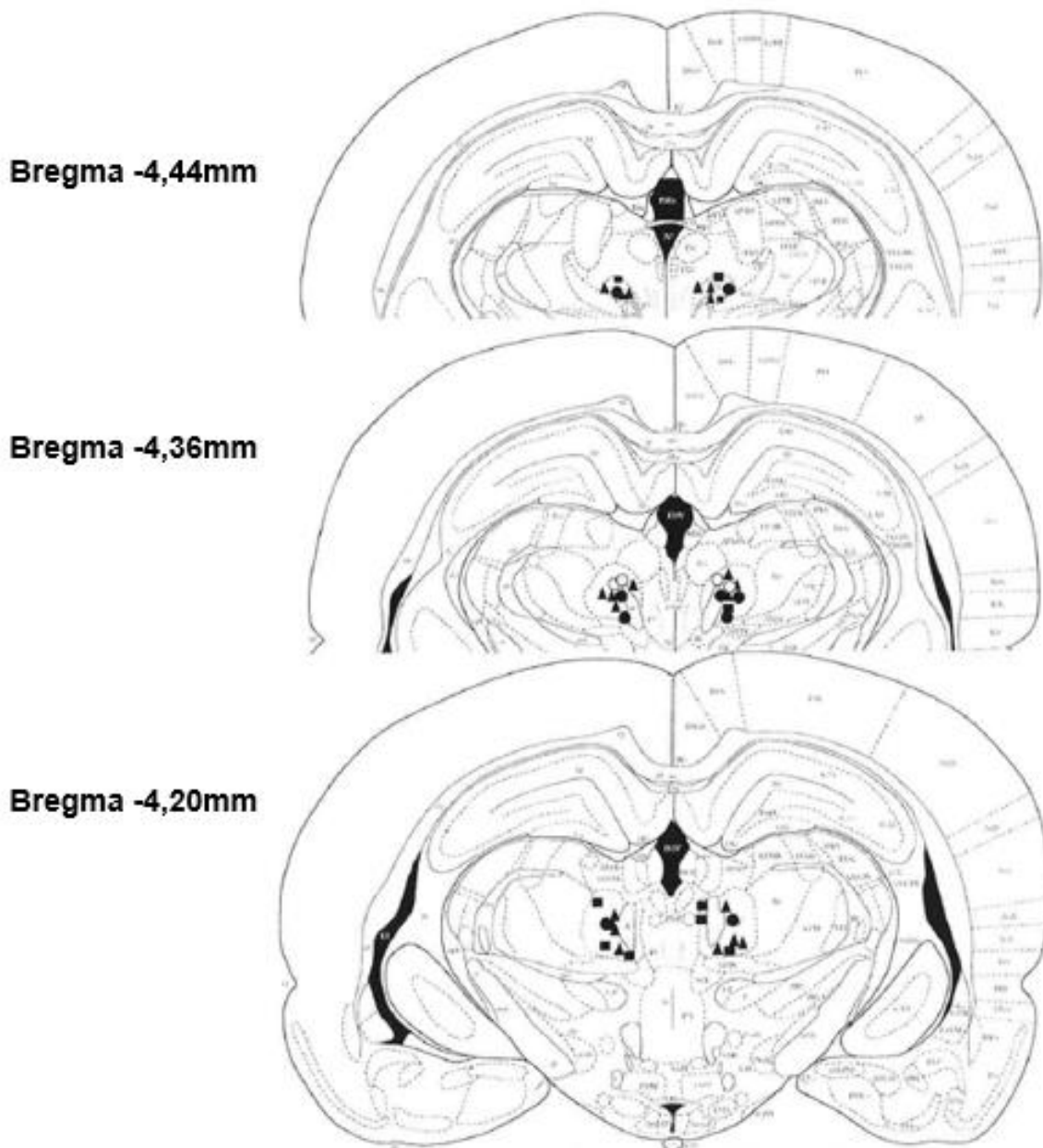
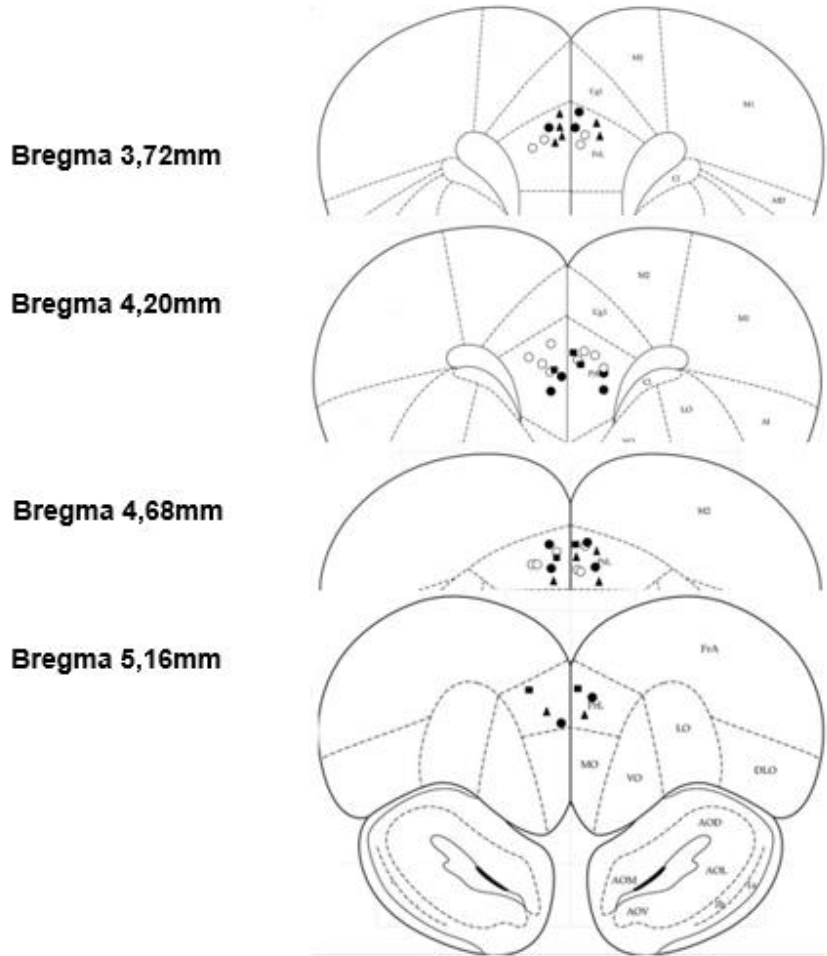


Figura 37: Representació esquemàtica de la localització de la punta del microinjector al CPL i PFn per als subjectes vàlids per a la tasca DSO. Cercle ple: S18986; Cercle buit: Control; Quadrat ple: S18986+Muscimol; Triangle ple: Muscimol

TSPA



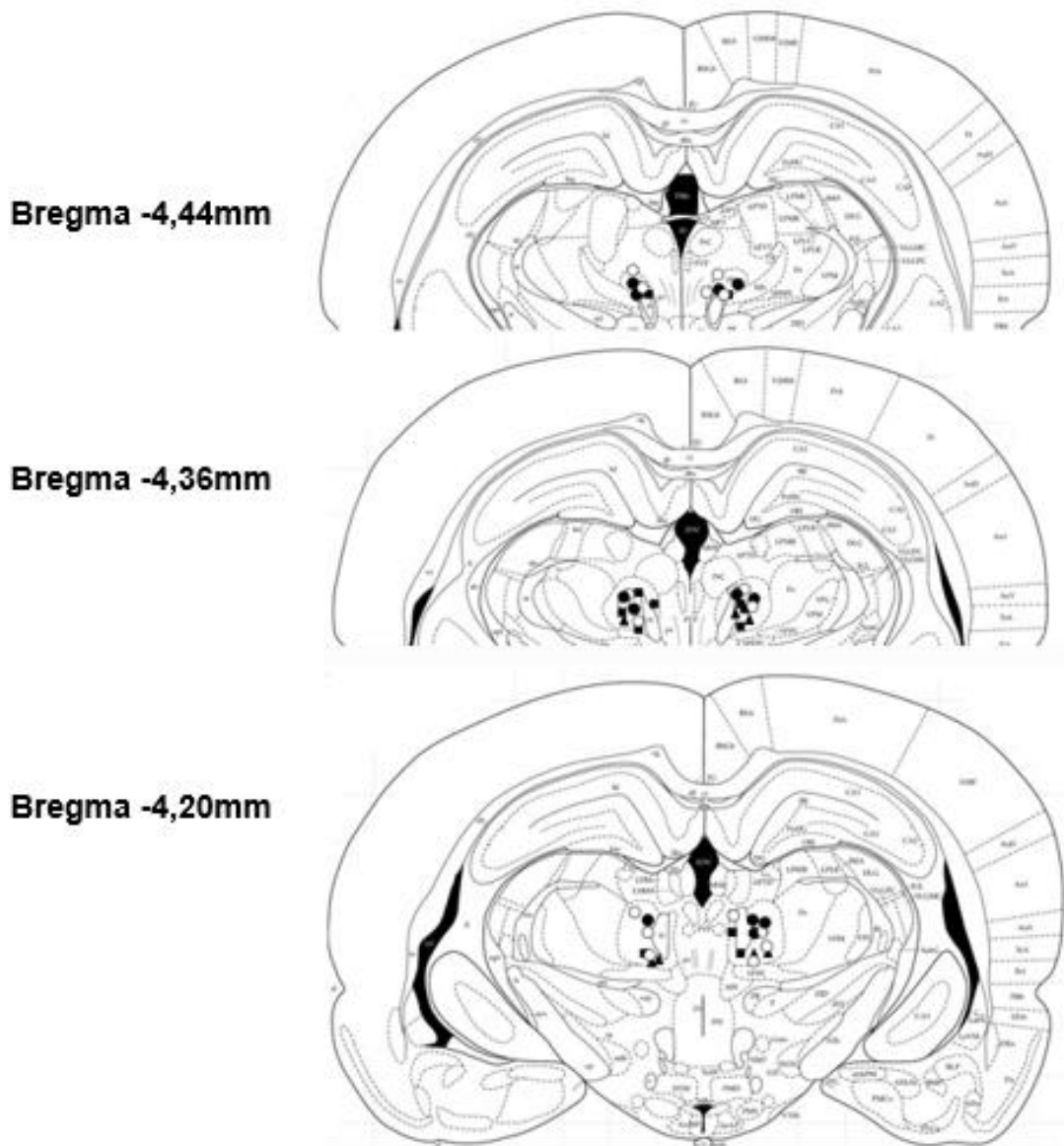


Figura 38: Representació esquemàtica de la localització de la punta del microinjector al CPL i PFn per als subjectes vàlids per a la tasca TSPA. Cercle ple: S18986; Cercle buit: Control; Quadrat ple: S18986+Muscimol; Triangle ple: Muscimol

Els animals utilitzats en aquest experiment tenien una mitjana de 87,4 dies d'edat ($EE=\pm 14,46$) i 341,7 gr de mitjana de pes ($EE=\pm 28,37$).

En general, com en el cas de l'experiment 1, el pes dels animals va tendir a disminuir al llarg de tot el procés experimental degut a la restricció d'aliment. Els resultats no mostren cap diferència estadísticament significativa entre els grups, excepte en el dia de la cirurgia, i per tant podem descartar un efecte de

la motivació per la ingesta en els resultats conductuals [$F(3,33)=3,574$, $p=0,024$], [$F(3,33)=1,221$, $p=0,318$] [$F(3,33)=2,072$, $p=0,123$], [$F(3,33)=0,978$, $p=0,415$], [$F(3,33)=0,389$, $p=0,762$], [$F(3,33)=0,348$, $p=0,791$], [$F(3,33)=0,206$, $p=0,891$] (veure figura 39).

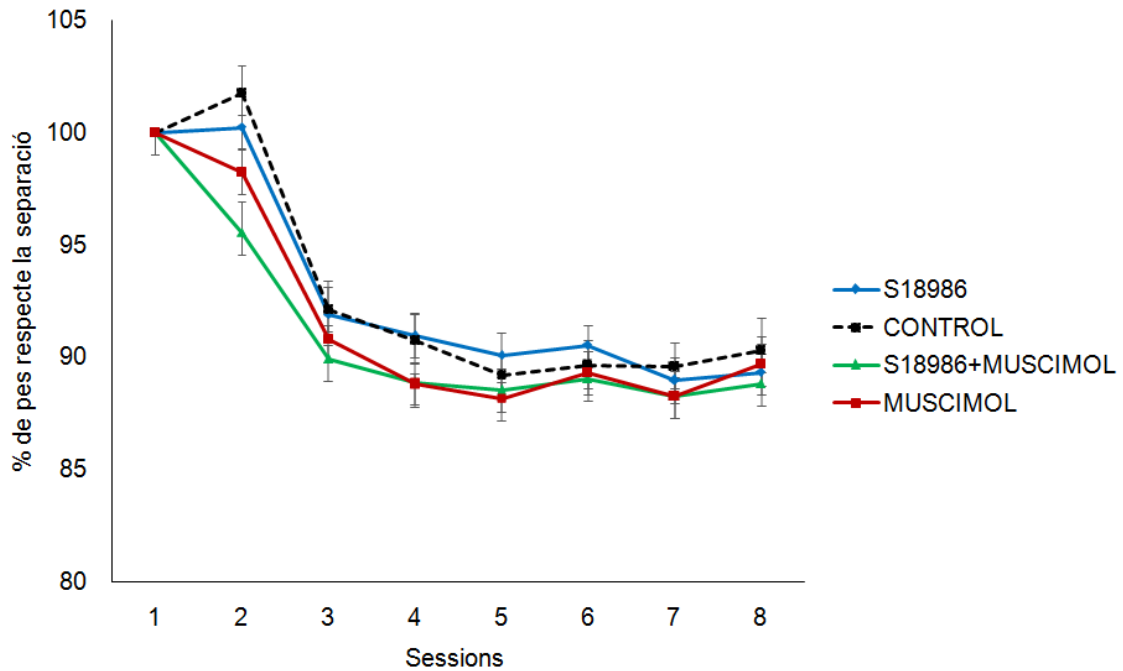


Figura 39: Mitjana del percentatge de pes respecte el pes de separació (100%), en diferents dies del període experimental: (1) dia de separació, (2) cirurgia, (3) adquisició DSO, (4) test DSO 24h, (5) test DSO 48h DSO, (6) interacció social TSPA, (7) test TSPA 24h i (8) test TSPA 48h.

2.2.2 Tasca DSO

Aligual que en l'experiment anterior, les variables a analitzar en aquesta tasca eren les latències a trobar el reforç dins de l'esponja reforçada i el nombre total d'errors comesos en les fases d'adquisició i en les dues sessions de test (figures 40 i 41).

L'anàlisi ANOVA mostra diferències significatives entre grups en la mitjana de les latències de resposta dels quatre assajos de l'adquisició, [$F_{(3,33)}=3,609;P=0,023$]. L'anàlisi de contrastos *post hoc* ens mostra que concretament els grups que es diferenciaven eren el grup muscimol respecte al grup S18986 ($p=0,035$); així com també es va detectar una tendència a la significació estadística entre els grups muscimol i CONTROL ($p=0,059$). Pel que fa al nombre d'errors mesurats en la sessió d'adquisició, l'anàlisi estadística no va indicar l'existència d'un efecte del factor GRUP en la sessió d'adquisició de la DSO.

Pel que fa a les sessions de test a les 24 i a les 48h, l'ANOVA no va mostrar diferències estadísticament significatives en les latències de respostes dels diferents grups [$F(3,33)=0,132;p=0,940$]; [$F(3,33)=0,816;p=0,494$], ni tampoc en el nombre d'errors comesos en ambdues sessions [$F(3,33)=0,314;p=0,815$]; [$F(3,3)=0,161;p=0,922$].

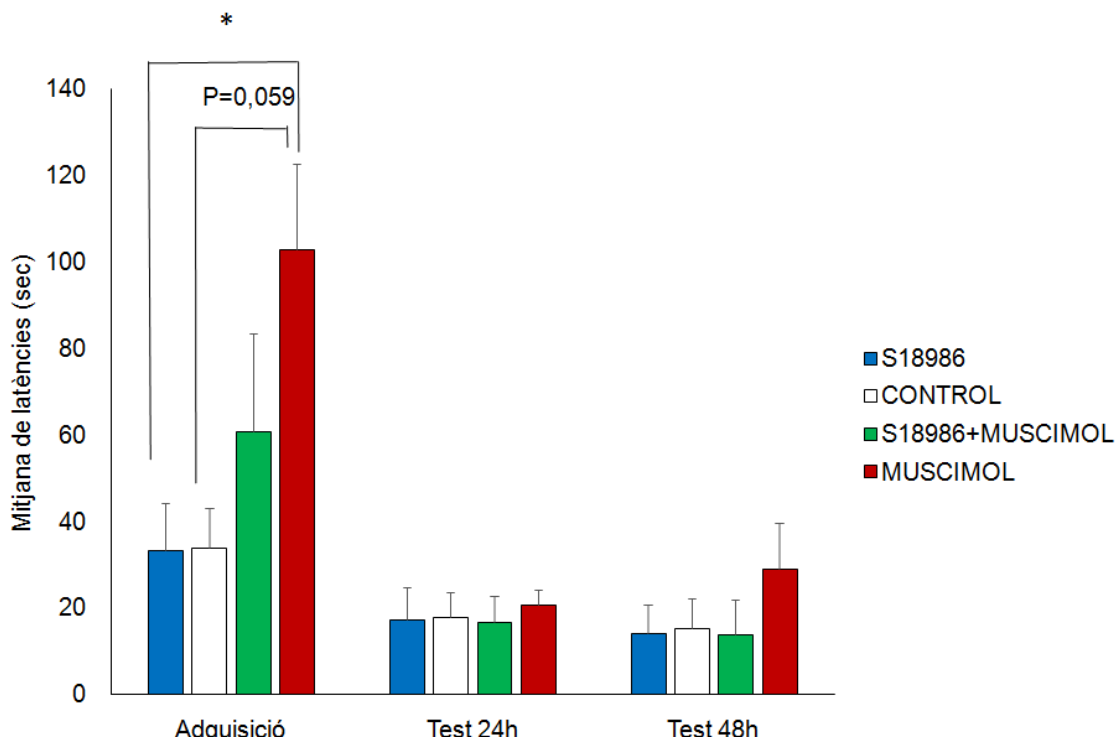


Figura 40: Latència mitjana ($\pm EE$) en l'adquisició i els dos tests de la tasca DSO. La substància S18986 i el seu vehicle (DMSO) van ser administrades 10 minuts abans de la sessió d'adquisició, pel que fa al muscimol i el seu vehicle (PBS) van administrar-se 5 minuts abans de la sessió d'adquisició. * $p < 0.05$

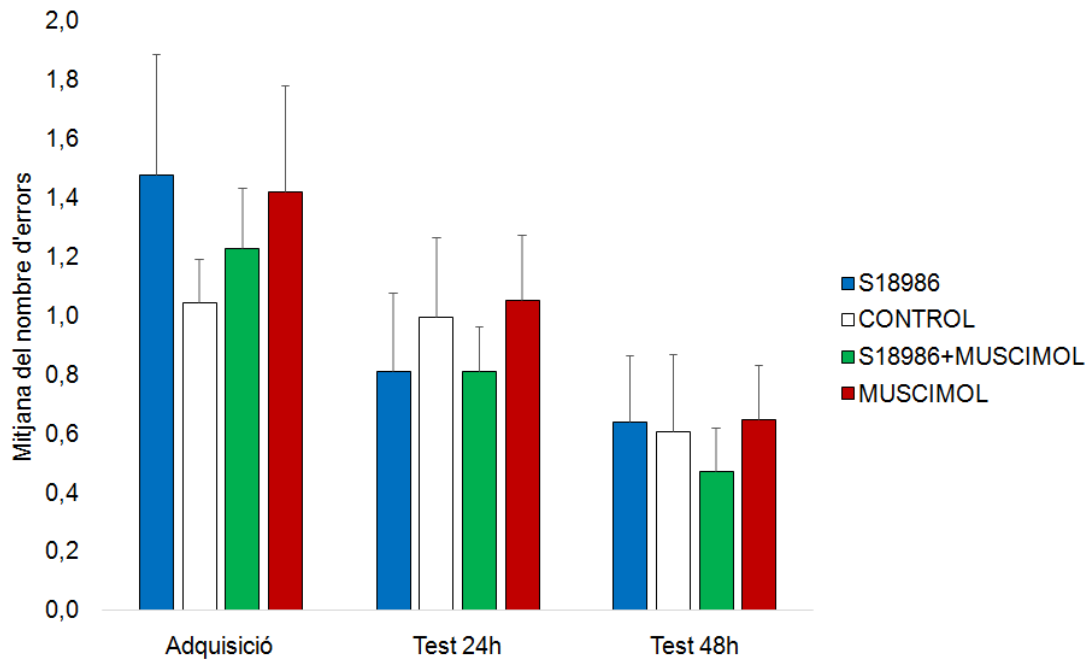


Figura 41: Mitjana del nombre d'errors ($\pm EE$) en l'adquisició i els dos tests de la tasca DSO. La substància S18986 i el seu vehicle (DMSO) van ser administrades 10 minuts abans de la sessió d'adquisició, pel que fa al muscimol i el seu vehicle (PBS) van administrar-se 5 minuts abans de la sessió d'adquisició. * $p < 0.05$

2.2.3 Tasca TSPA

Al igual que en l'experiment anterior, l'anàlisi estadística en aquesta tasca consistia, d'una banda, en avaluar la interacció social mostrada pels observadors i demostradors durant l'adquisició i, d'altra banda, en avaluar possibles diferències pel que fa al percentatge de preferència de ME respecte MNE .

L'anàlisi de la variància no va mostrar diferències significatives entre grups en les variables contactes musell-musell [$F(3,31)=0,437;p=0,728$]; musell-cos [$F(3,31)=0,326;p=0,807$]; musell-anogenital [$F(3,31)=0,512;p=0,677$]. Tampoc es van observar diferències estadísticament significatives quan es va analitzar altres comportaments com són el temps dedicat al grooming [$F(3,31)=1,099;p=0,364$] i la incidència de baralles entre el demostrador i l'observador [$F(3,28)=0,388;p=0,763$] (veure figures 42 i 43).

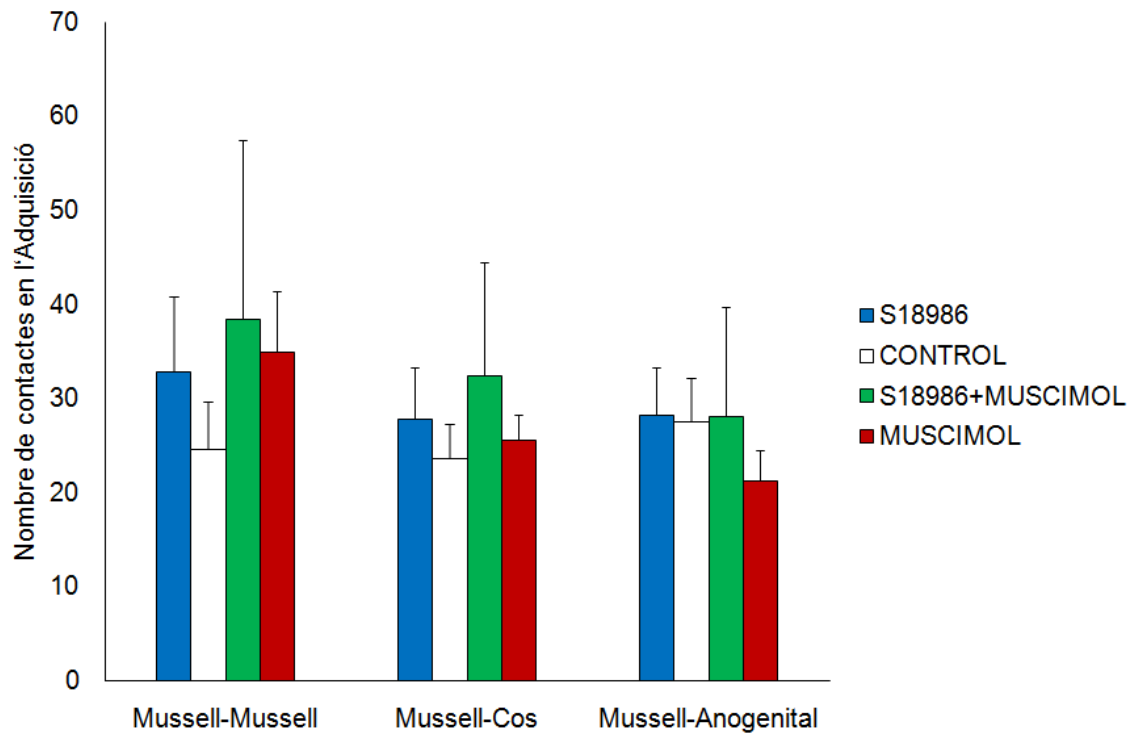


Figura 42: Mitjana ($\pm EE$) del nombre de contactes durant la sessió d'adquisició de la tasca TSPA. (C) Mitjana ($\pm EE$) del nombre de groomings i lluites entre subjectes durant la sessió d'adquisició de la tasca TSPA. * $p < 0.05$

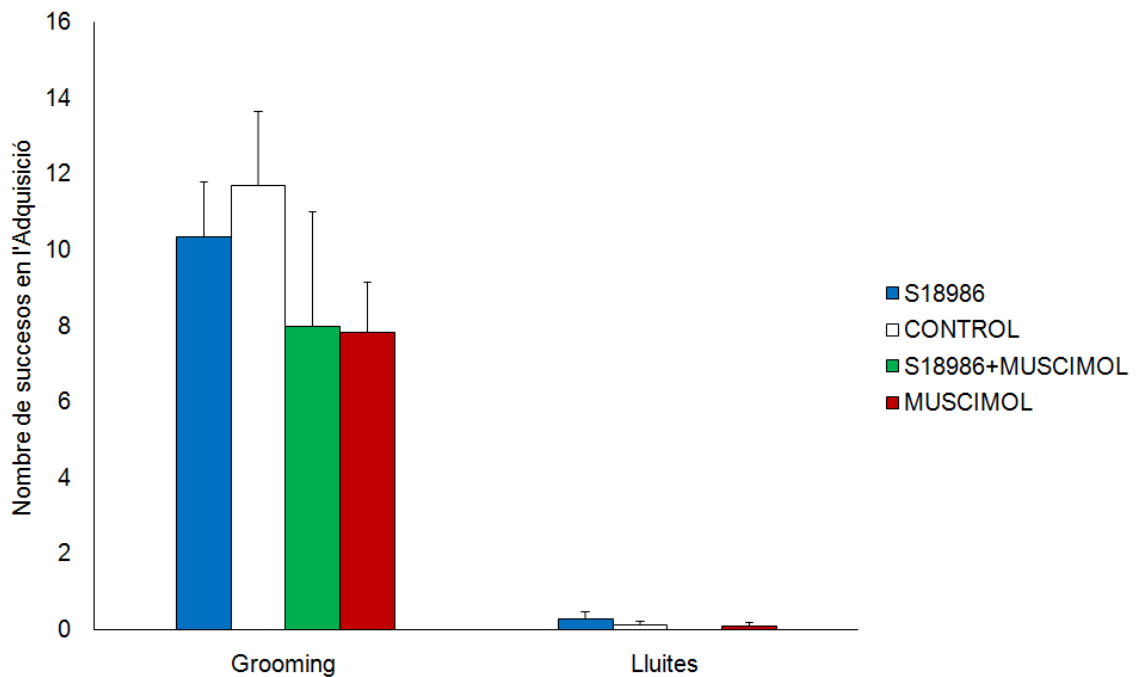


Figura 43: Mitjana ($\pm EE$) del nombre de groomings i lluites entre subjectes durant la sessió d'adquisició de la tasca TSPA. * $p < 0.05$

A la figura 44, es mostra el percentatge de preferència alimentària pel menjar entrenat en les dues sessions de test de la TSPA. L'anàlisi estadística no va mostrar diferències estadísticament significatives entre grups en la preferència per l'aliment entrenat a les 24 hores [$F_{(3,35)}=0,151; p=0,928$], però si a les 48 hores [$F_{(3,35)}=5,474; p=0,003$]. L'anàlisi de contrastos *post-hoc* va mostrar que el grup CONTROL mostrava diferències significatives respecte al muscimol ($p=0,013$) i respecte al grup que ha rebut muscimol i S18986 ($p=0,006$).

La prova T (one-sample t-test) contra la constant de 50 es va efectuar per a determinar si el percentatge de preferència pel ME va ser similar a l'atzar (50%). Només un grup, el control, va mostrar un nivell de preferència pel menjar amb l'aroma entrenat diferent al nivell d'atzar durant el test a les 48 hores ($t(9)=9,600; p < 0,001$). La resta de grups i també el grup control en el test a les 24 hores no van menjar un percentatge d'aliment entrenat superior al nivell d'atzar, així sembla ser que les dades ens mostren un baix nivell d'aprenentatge en tots els grups al igual que va passar en l'experiment 1 (totes les $t < 1,166$ i tots els $p > 0,141$).

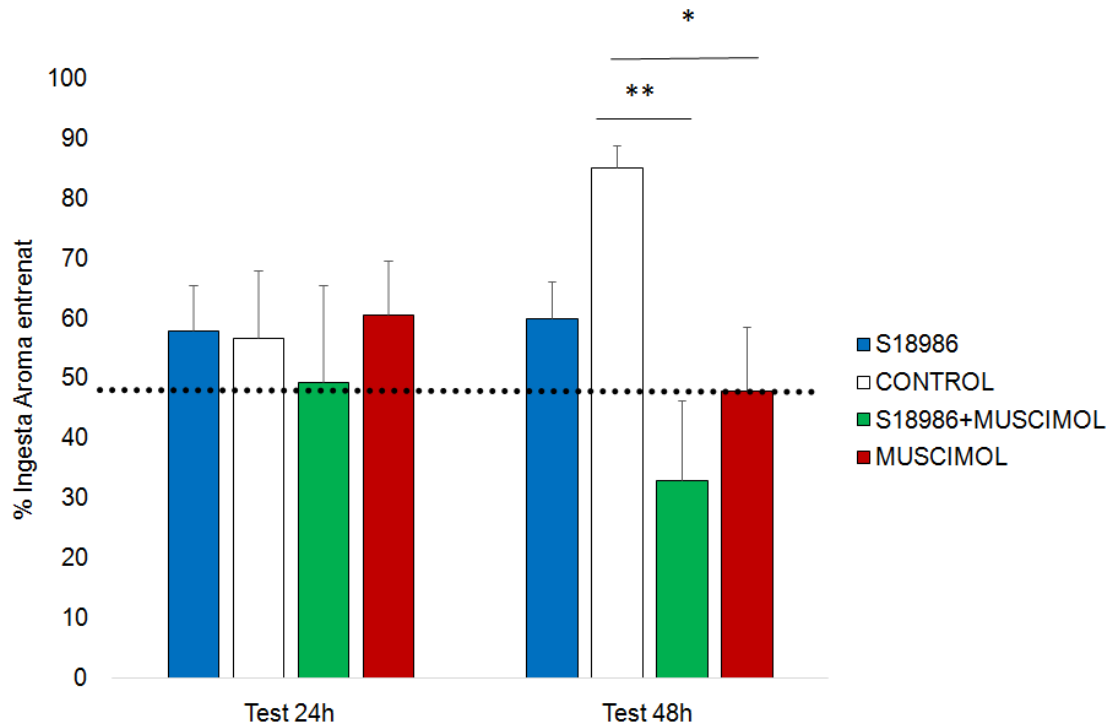


Figura 44: Mitjana del percentatge de preferència de l'aliment entrenat ($\pm EE$) respecte el total de menjar consumit en els tests de la tasca TSPA. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

A fi de determinar la possible relació entre la interacció social de la sessió d'adquisició de la TSPA i el nivell d'aprenentatge, es va analitzar la correlació entre els diferents comportaments d'interacció enregistrats i la preferència alimentària mostrada en les sessions de test a les 24 i a les 48h. En cap test es va detectar cap correlació estadísticament significativa entre la ingesta i la interacció social (musell: $r=0,188$; cos: $0,040$; ano-genital: $0,076$) i en el test a les 48h $r=-0,045$; cos: $r=-0,116$; ano-genital: $r=0,065$).

Finalment es va realitzar una anàlisi de la variància amb mesures repetides per avaluar la possible neofòbia al aliment aromatitzat. Els resultats indiquen un efecte estadísticament significatiu del factor quantitat de menjar [$F_{(1,35)}=23,912$; $p < 0,001$], el qual ens indica una major ingesta en el test que en l'habituaació 4. Pel que fa al factor grup i, a diferència del'experiment anterior, en es demostra estadísticament significatiu [$F_{(3,35)}=3,289$; $p=0,032$], però no la interacció grup X menjar [$F_{(3,35)}=1,248$; $p=0,307$]. Aquests resultats semblen indicar que no hi ha neofòbia al menjar en cap dels grups experimentals, ja que tots els grups van

consumir més aliment en el test que a l'última habituació. No obstant, els grups S18986 i S18986+muscimol van menjar encara més que els grups CONTROL i muscimol, tant en l'habituació com en el test. Es pot descartar, però, un efecte del fàrmac S18986 ja que els subjectes no van rebre l'administració fins després de l'habituació 4, el que suggereix una diferència atzarosa.

2.2.4 Prova de Camp obert

L'anàlisi de la variància no va mostrar diferències estadísticament significatives entre els diferents grups, en cap de les variables enregistrades en el camp obert: distància recorreguda a la perifèria [$F_{(3,22)}=1,394;p=0,275$]; distància recorreguda al centre [$F_{(3,22)}=0,401;p=0,754$]; distància total recorreguda [$F_{(3,22)}=1,370;p=0,282$]; mitjana de velocitat a la perifèria [$F_{(3,22)}=2,055;p=0,140$]; mitjana de velocitat al centre [$F_{(3,22)}=1,272;p=0,312$] i mitjana de velocitat al centre [$F_{(3,22)}=2,030;p=0,144$].

2.2.5 Prova de percepció olfactiva

L'anàlisi estadística per la latència de resposta mesurada en aquesta prova no va mostrar diferències estadísticament significatives entre grups [$F_{(5,37)}=0,804;p=0,555$], fet que permet descartar un efecte dels tractaments administrats sobre la percepció olfactiva (figura 35).

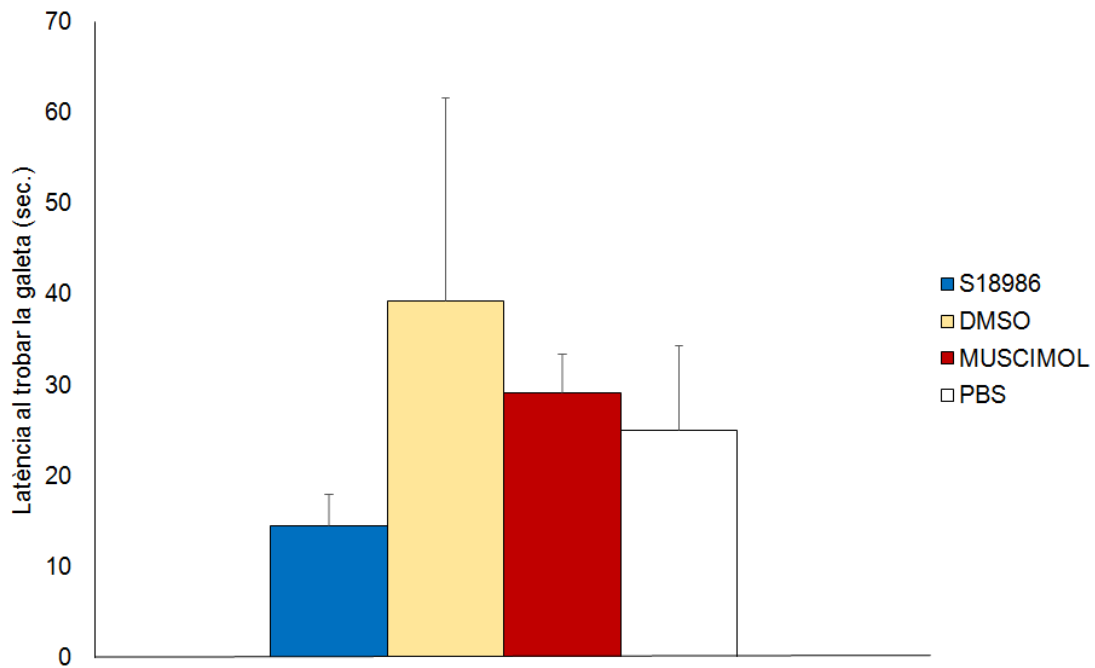


Figura 45: Mitjana de latència de resposta en segons (+EE) en la prova de percepció olfactiva dels 4 grups experimentals.

EXPERIMENT 3: Efectes de l'administració de DCS a l'escorça prefrontal sobre la memòria de treball en animals envellits i joves.

En el present experiment es va avaluar si l'administració de DCS, un agonista parcial que s'uneix al lloc d'unió de la glicina en els receptors NMDA, era capaç de millorar la MT, la flexibilitat cognitiva i la memòria a curt i a llarg termini en rates adultes (3 mesos) i velles (24 mesos), utilitzant els paradigmes DMTP i la seva reversió DNMT, en gàbia de condicionament equipada amb palanques retràctils i estímuls visuals i auditius, i el laberint en Y (figura 46).

			Durada límit	Criteri de superació
Habitacions			-	-
Aprenentatges 1 i 2			-	100 <i>pellets</i>
----- Cirurgia -----				
	Mostra	Demora	Elecció	
MTP		0 sec.		23/65
DMTP		4, 8, 16, 24, 32 sec.		25/29
NMTP		0 sec.		25/29
DNMTTP		4, 8, 16, 24, 32 sec.		23/65
Test Y-Maze			-	-
Prova de respostes alternes			40	80% RC en 2 sessions consecutives

80% de respostes correctes (RC) en 2 sessions consecutives

Figura: 46: Esquema resum de les fases de l'experiment 3. (Durada límit en sessions).

El procediment bàsic del protocol DMTP començava presentant a l'animal experimental una de les dues palanques retràctils amb que s'equipava la gàbia de condicionament, la palanca o element "mostra". A continuació, i després d'uns determinats intervals de demora, es presentaven dues palanques a la vegada i l'animal havia de prémer la palancamostra per tal d'obtenir el reforç (*pellet* de sacarosa). En la versió DNMTTP, la resposta correcta consistia en prémer la palanca diferent a la mostra.

Prèviament, es va realitzar una prova pilot a fi de validar el correcte funcionament metodològic i optimitzar els protocols experimentals a utilitzar (DMTP, DNMTTP). Es pretenia també establir uns criteris conductuals de superació i d'exclusió.

3.1 Prova Pilot

3.1.1 MATERIALS I MÈTODES

3.1.1.1 Subjectes

En aquest estudi pilot, es van utilitzar 8 rates mascle Wistar de 92 dies de mitjana d'edat ($EE \pm 1,07$) i 430 grams de mitjana de pes ($EE \pm 35,14$ gr) procedents de l'estabulari de Psicobiologia de la UAB i estabulades en gàbies de plàstic transparent homologades (veure apartat III.II). Les condicions ambientals, tal i com en els experiments anteriors, constaven d'un cicle de llum artificial de 12 hores, una temperatura entre els 20°C i els 23°C i una humitat entre el 40% i el 70%.

3.1.1.2 Gàbies de Condicionament

El desenvolupament de les tasques conductual es va realitzar mitjançant gàbies de condicionament (Panlab.I.u., HarvardApparatus, Espanya) les quals estaven controlades mitjançant el software Packwin v2.0.03 que permetia la programació dels diferents protocols i l'enregistrament de les dades obtingudes. Les caixes de condicionament estaven ubicades a l'interior d'una caixa insonoritzada (65cm X 55cm X 50cm) amb una llum ambiental i un circuit de ventilació. Les caixes de condicionament (26cm x 26cm x 26cm) disposaven de diferents tipus d'estímuls (palanques, llums i sons), els quals podien ser programats de forma diferencial segons el protocol a utilitzar.

En la figura 47 s'indiquen els principals elements de la gàbia utilitzats en les sessions de MT. Com es pot observar, en una de les parets de la gàbia hi ha dues palanques, una a cada extrem, i dos llums a la part central (*Home Light* i Llum de Palanca). A la banda oposada de la gàbia, a la part central, hi ha un llum (Llum de Menjadora) i l'obertura on es dispensava el menjar.

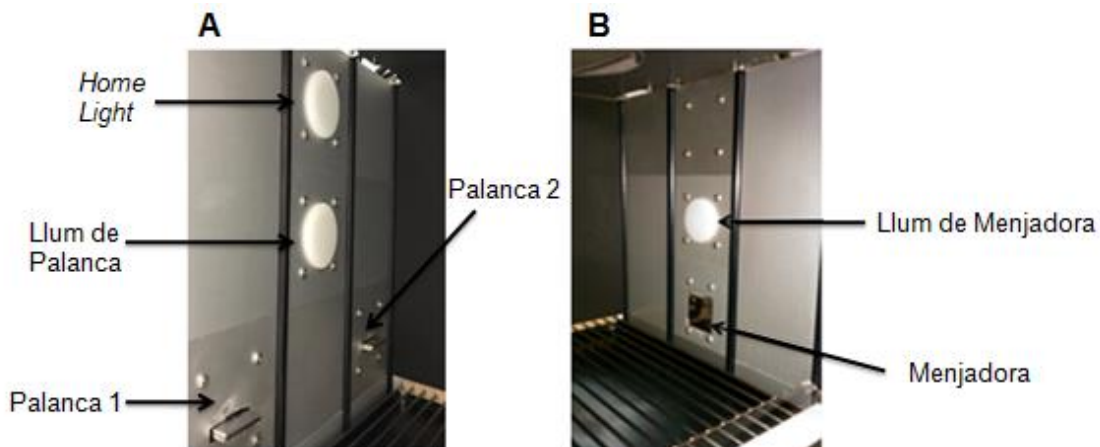


Figura 47: Fotografia de la caixa de condicionament i els diferents ítems que la componen. (A) palanques retràctils, Home Light i Llum de palanca. (B) llum de menjadora i menjadora.

3.1.1.3 Habitució

Durant la primera setmana es va sotmetre els animals a sessions diàries de *handlings* suau de 10 minuts. Durant aquest, els animals disposaven de beguda i aliment *ad libitum* (maintenance pellets, Harlan Laboratories).

Un cop aquest període havia conclòs, va iniciar-se una privació d'aliment progressiva a fi de reduir el pes de l'animal fins el 85-90% respecte el seu pes de separació, per així facilitar el condicionament operant a posteriori. Després d'una setmana de privació d'aliment, els animals van ser habituats al reforç que s'utilitzaria en la tasca de MT, *pellets* ensucrats (Dustless Precision Pellets 45 mg, Bio-Serv). Aquesta habituació es feia en dos dies diferents, i durant el primer dia es van col·locar 25 *pellets* a l'interior d'una placa de petri i aquesta va situar-se a l'interior de pròpia gàbia de l'animal. Durant aquesta habituació a l'aliment no hi havia un límit de temps establert, l'únic requisit era el consum de la totalitat dels *pellets*.

El dia següent, les rates van ser habituades a les gàbies experimentals on es realitzaria la tasca de MT. Aquesta sessió d'habitució va consistir en col·locar una placa de petri amb 25 *pellets* a l'interior de la gàbia de condicionament, el més a prop possible del dispensador d'aliment de la mateixa. Durant aquesta

sessió tots els elements de la gàbia (senyals lluminoses, auditives, palanques, etc., estaven apagats o no disponibles. Només estava encesa la *home light*, una llum a l'interior de la gàbia que indica l'experiment està en marxa. Aquesta llum s'apagava automàticament al cap d'una hora, indicant així la finalització de la sessió i, per tant, també del temps màxim del que disposava l'animal per a ingerir l'aliment.

3.1.1.4 Adquisició de la resposta condicionada

Les primeres sessions a la gàbia de condicionament van ser diferenciades sota el nom d'Aprenentatge 1 (AP1) i Aprenentatge 2 (AP2). La fase AP1, tenia com a objectiu que l'animal associés la palanca al reforç. En aquesta sessió, una de les dues palanques que s'utilitzarien en la tasca de MT, es presentava aleatòriament i es mantenia disponible fins que l'animal la premia. La durada límit de la sessió era de tres hores, i es considerava superada si l'animal ingeria 100 *pellets*. En cas de no ser superada i exhaurir-se el temps, la sessió es repetia a les 24h.

La sessió AP2 s'iniciava 24h després del dia d'assoliment de la sessió AP1. Durant aquesta fase AP2, l'animal havia d'aprendre que per a accedir a les palanques, abans calia introduir el musell a la menjadora (resposta de *nose-poke*). Un cop l'animal feia *nose-poke*, una de les dues palanques es presentava de forma aleatòria i es mantenia disponible fins a ser premuda. Un cop premia la palanca, es dispensava el reforç. La durada límit d'aquesta sessió era de tres hores o bé s'havien de realitzar 100 respostes de prémer la palanca. El criteri de consecució màxim es va establir en 4 sessions. Si no es superava la fase AP2, l'animal era exclòs de l'experiment.

3.1.1.5 Protocol MTP (Matching to Position)

Aquesta fase experimental s'iniciava amb la presentació aleatòria d'una de les dues palanques que exercia una la funció de mostra. Un cop premuda, activava la llum de menjadora, la qual era un estímul per a indicar a l'animal que es dirigís cap a la menjadora i fes *nose-poke*. Només en aquest cas, s'entrava en

la fase de disponibilitat d'ambdues palanques i del reforç, sempre i quan es premés la palanca que prèviament s'havia mostrat. El fet d'haver de fer *nose-poke* per tal d'activar les palanques, evitava que l'animal pogués assolir la tasca utilitzant estratègies no relacionades amb la MT. Si es premia la mateixa palanca que s'havia presentat d'inici es rebia un *pellet*, en cas contrari s'entrava en un període de *timeout* de 5 segons en el qual tots els elements de la gàbia eren desactivats momentàniament. La demora entre la retirada de la palanca mostra i l'aparició de les dues palanques depenia del temps que el subjecte trigués en fer el *nose-poke*. Passat el període de *timeout* després d'una resposta correcta, es donava un període de 5 segons com a temps entre assaigs. Un cop finalitzat aquest temps es repetia novament tot el procés.

En resum, aquesta tasca constava de dues fases, la de *mostra* on apareixia una única palanca, i la de *elecció*, on el subjecte havia d'escollir entre les dues palanques (figura 48). Si s'escollia la palanca que prèviament havia aparegut com a mostra, s'administrava un *pellet*, en cas contrari s'aplicava el període de *timeout*.

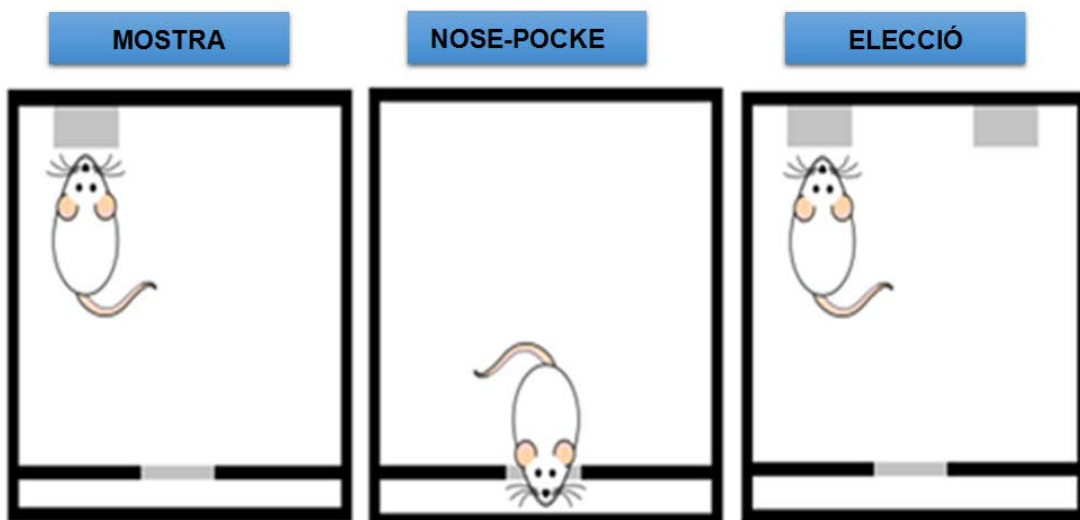


Figura 48: Esquema de les diferents fases dels paradigmes MTP i NMTP. A la fase de "mostra" l'animal prem una palanca no reforçada, seguidament ha de introduir el musell a la menjadora i finalment a la fase d' "elecció" ha de triar entre les dues palanques disponibles. En la tasca MTP la resposta correcta és prémer la mateixa palanca que ha sigut presentada anteriorment mentre que a la tasca NMTP la palanca que s'ha de prémer es la contrària a la mostra. Les respostes correctes impliquen el reforç d'un pellet ensucrat i les incorrectes un timeout de 5 segons.

Aquestes sessions d'entrenament tenien una durada de 60minuts i es repetien diàriament. Al finalitzar cada sessió MTP, es calculava el percentatge de respostes s i si aquest era del 80% o superior en dues sessions consecutives es considerava que l'animal havia superat aquesta fase experimental.

3.1.1.6 Protocol DMTP (Delayedmatching to position)

El factor que diferencia els protocols DMTP iMTP és la incorporació d'una demora entre les fases de *mostra* i *elecció*. Així doncs, un cop fet el *nose-poke* a la menjadora després de prémerla palanca en la fase de *mostra*, no es presentaven les dues palanques de forma immediata sinó que s'aplicaven uns intervals variables de demora. Així doncs, era necessari recordar durant un període de temps quina era la palanca mostra, per a així poder respondre correctament durant la fase *elecció* (veure figura 50). Aquesta demora és la que va permetre avaluar la MT, tenint en compte que quant més llarga fos la demora, més es dificultaria el record (Blockland et al., 2004).

Durant aquesta prova pilot vam utilitzar quatre demores: 4, 8, 16 i 32 segons, que es presentaven en aquest mateix ordre a mesura que els subjectes mostraven un correcte aprenentatge. Aquests intervals van ser seleccionats en funció dels resultats obtinguts en d'altres estudis científics (Blockland et al., 2004; Mcquail et al., 2016).

El criteri conductual que permetia passar d'una demora a la següent es va fixar en un mínim de 80% de respostes correctes en dues sessions consecutives. D'aquesta manera, es va anar incrementant la dificultat de la tasca progressivament a fi d'examinar com evolucionava la corba d'aprenentatge (veure figura 49) i d'observar quin era el grau de dificultat dels intervals escollits. La penalització en cas d'error, novament, era un *timeout* de 5 segons. Per altra banda, si la resposta era correcta el subjecte rebia un reforç d'un *pellet*.

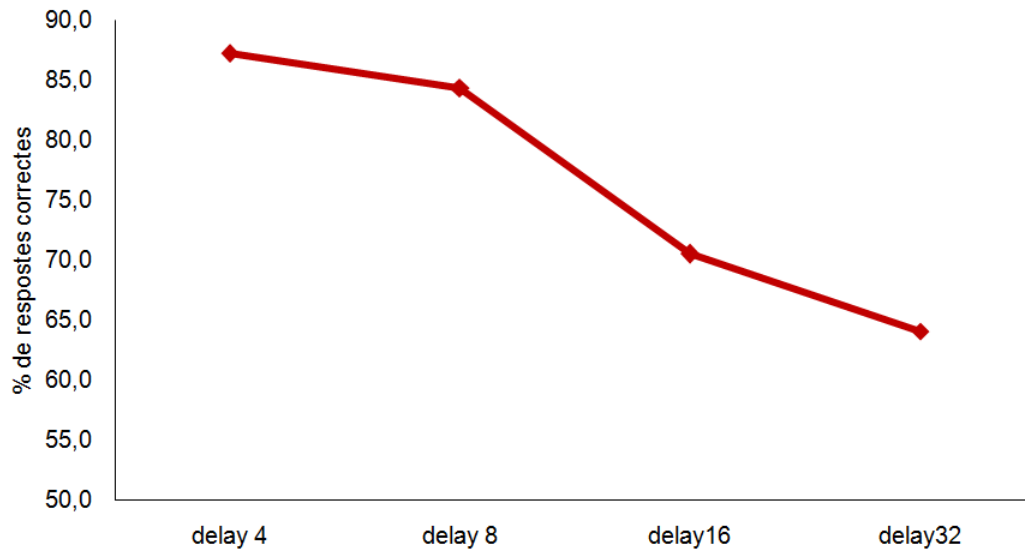


Figura 49: Exemple de la corba d'aprenentatge d'un dels subjectes de la prova pilot. Com més llarg és l'interval de demora, més baix és el percentatge de respostes correctes.

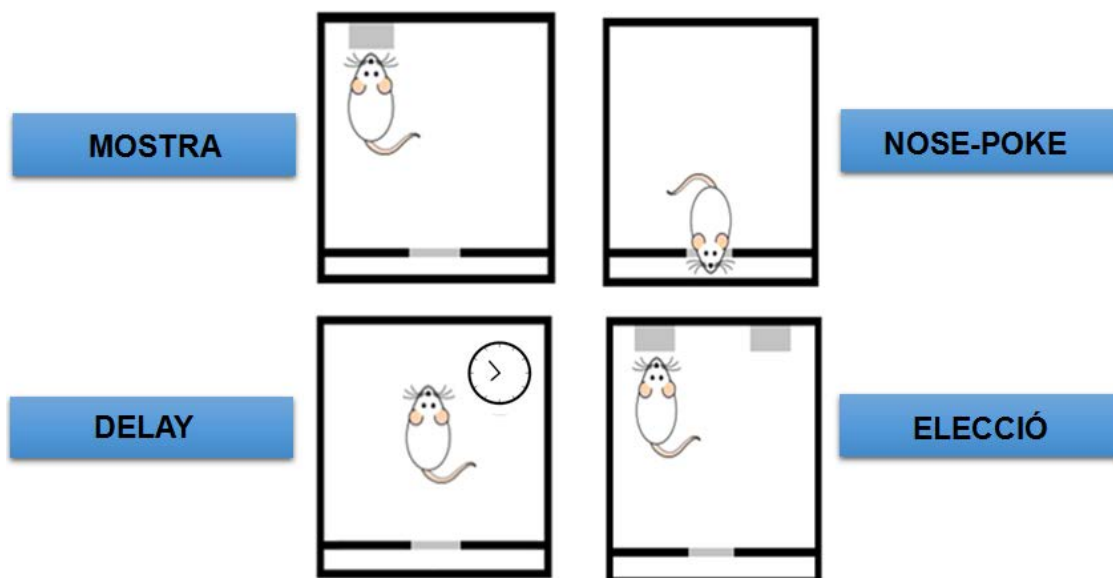


Figura 50: Esquema de les tasques DMTP i DNMTT. La diferència amb les fases MTP i NMTP radica en la incorporació de la Fase "demora", que s'inicia un cop l'animal introdueix el musell a la menjadora. Aquesta demora aplicada era d'entre 4 i 32 segons i tot seguit es presentaven les dues palanques (fase elecció). La resposta correcta en la DMTP i la MTP és en ambdós casos la mateixa, prémer la palanca presentada inicialment.

3.1.1.7 Anàlisi estadística

En aquest experiment, vam dissenyar un protocol en el qual els animals canviaven d'un paradigma (una demora determinada) a un altre quan assolien un criteri establert. Com a resultat, per a cada sessió experimental la quantitat

de subjectes variava. Per aquesta raó, es van avaluar els efectes dels tractaments administrats al CPL sobre la MT i la flexibilitat cognitiva mitjançant l'anàlisi de supervivència Kaplan-Meier. Aquesta prova ens va permetre realitzar una comparació entre grups pel que fa a la quantitat de sessions necessàries per assolir el criteri d'aprenentatge.

3.1.2 Resultats

3.1.2.1 Tasca MTP

Un dels objectius d'aquest estudi pilot era determinar la corba d'aprenentatge, segons els paràmetres establerts, i avaluar el nombre mínim de sessions requerides per assolir la tasca abans de començar l'experiment d'administració dels fàrmacs.

La figura 51 ens mostra, a partir de l'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier, les sessions requerides pels subjectes d'aquest experiment per assolir el criteri d'aprenentatge (80% respostes correctes en dues sessions consecutives). En aquesta gràfica podem observar que un dels vuit subjectes participants en aquest estudi pilot, va superar la tasca en només 5 sessions, mentre que el 75% dels subjectes la van superar en 36 sessions. En qualsevol cas, la mitjana de sessions que es van necessitar va ser de 18,3 ($\pm 10,4$). Dos subjectes d'aquest estudi van necessitar 57 sessions, i vam decidir retirar-los de l'experiment ja que no mostraven cap indicatiu de millora en la seva execució.

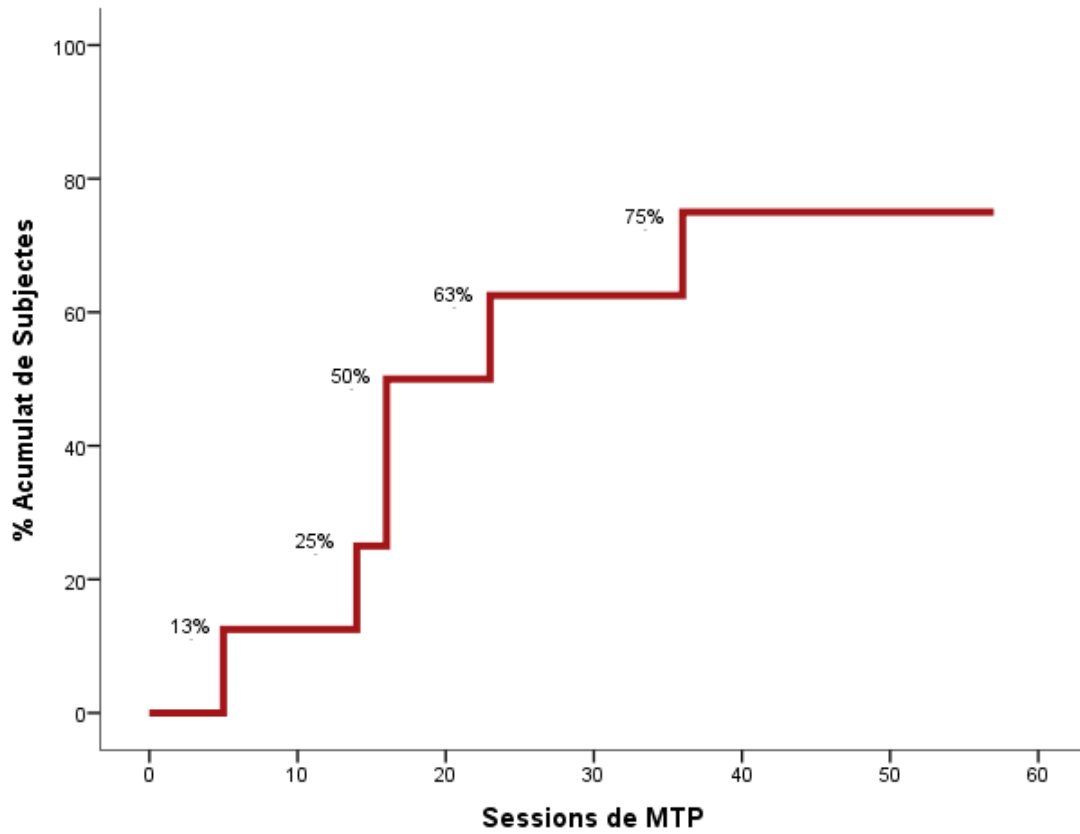
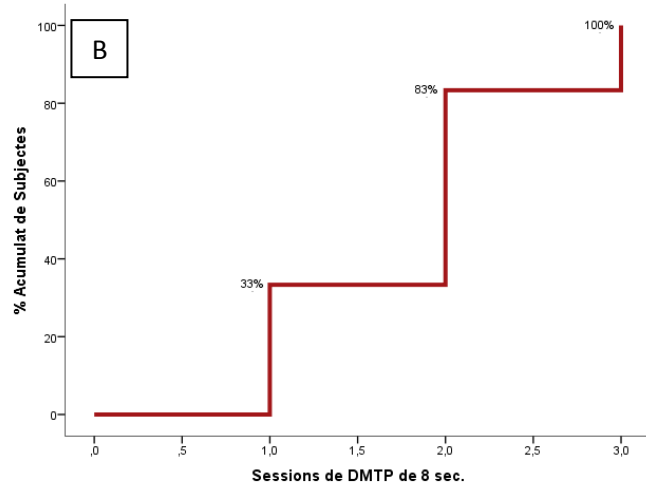
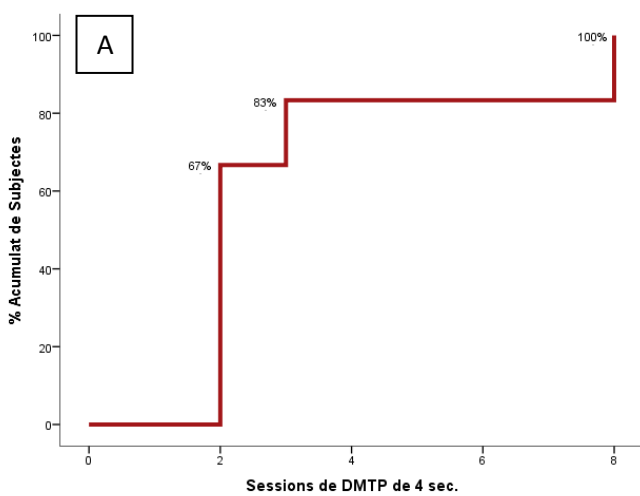


Figura 51: Corba de supervivència que representa la proporció acumulada de subjectes queen cada sessió d'entrenament havien aconseguit el criteri d'aprenentatge. L'eix de les X mostra el nombre de sessions de la tasca MTP, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que van superar la tasca MTP.

3.1.2.2 Protocol Delayed Matching To Position



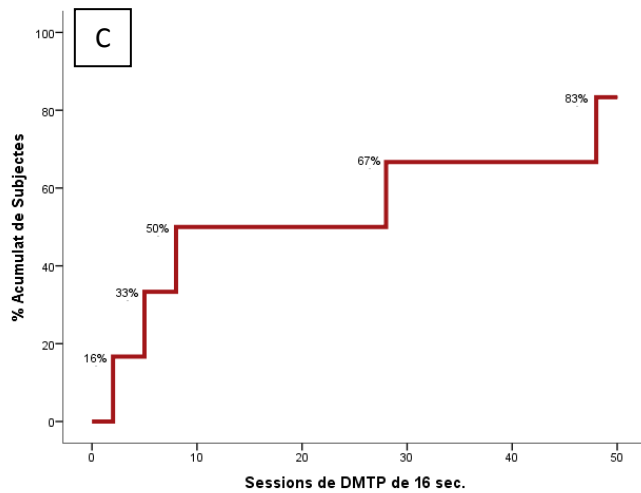


Figura 52: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier per a la tasca DMTP. (A) El 100% dels subjectes superen la tasca quan s'estableixen 4 segons de demora (B) El 100% dels subjectes superen la tasca quan s'estableixen 8 segons de demora.(C) El 83% dels subjectes superen la prova quan la demora és de 16 segons.

L'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier (figura 52) ens indica que amb 8 sessions el 100% dels subjectes assolien el criteri d'aprenentatge quan s'aplicava una demora de 4 segons entre les fases *mostra* i *elecció*. La mitjana de sessions

necessàries per a superar aquesta tasca, va ser de 3,17 sessions ($\pm 2,4$). Quan la demora va ser de 8 segons, el 100% dels subjectes van

requerir de només 3 sessions per assolir el criteri d'aprenentatge, amb una mitjana de 1,83 sessions ($\pm 0,75$). El següent interval de demora a aplicar va ser el de 16 segons i amb aquest increment els animals van començar a baixar el seu rendiment. En aquest cas, només el 50% dels subjectes van superar la tasca en 8 sessions. En global, la mitjana va ser de 18,2 sessions ($\pm 19,5$). Malgrat que la durada de la tasca va ser fins a 50 sessions, no tots els subjectes van assolir el criteri d'aprenentatge ($n=2$). Finalment va fer-se un últim increment en la dificultat augmentant la demora fins als 32 segons, on es va evidenciar l'alta demanda de MT ja que cap dels subjectes la va superar.

Aquest estudi pilot ens va mostrar que, lògicament, es donava un empitjorament en l'execució de la tasca com més gran era la demora entre les fases *mostra* i *elecció*. En qualsevol cas, ja que el nostre objectiu posterior consistia en provar l'efectivitat de l'administració de substàncies capaces de facilitar la tasca, interessava mantenir demores que suposessin una d'alta dificultat, entre el 16 i el 32 segons.

3.2 EXPERIMENT 3

3.2.1 MATERIALS I MÈTODES

3.2.1.1 Subjectes

Per a la realització de l'experiment 3 es va utilitzar un total de 52 rates mascle de la soca Wistar, 24 d'elles adultes de 90 dies de mitjana d'edat ($EE=\pm 10,6$) i 410,1 grams de mitjana de pes ($EE=\pm 50,75$) i 28 rates velles de 748,7 dies de mitjana d'edat ($EE=\pm 24,58$) i 543,6 grams de mitjana de pes ($EE=\pm 53,13$). Els animals van ser estabulats sota les mateixes condicions ambientals ja descrites en els experiments anteriors (veure apartat III.I).

Per tal de garantir motivació per a la tasca reforçada amb menjar, els subjectes joves van rebre una restricció d'aliment, a partir de completar la setmana inicial de *handling*, fins a assolir un percentatge de 85-90% respecte el seu pes de separació. La restricció d'aliment dels animals vells va ser lleugerament superior, entre el 80-85% ja que algunes dades apunten que amb l'edat es tendeix a menjar menys i a trobar el menjar menys apetitiu (Giezenaar et al., 2016) i, per tant, cal augmentar la restricció per augmentar la motivació. D'altra banda, els animals vells havien rebut una dieta des dels 4 mesos d'edat de 15 grams de menjar diari per tal d'evitar problemes de salut en anar envellit (Morgan et al., 2017).

3.2.1.2 Habitució i aprenentatge de la resposta condicionada (AP1, AP2)

Tal com s'ha descrit en l'experiment pilot, els subjectes van ser habituats al contacte amb l'experimentador mitjançant les sessions de *handling* d'habitució al reforç, així com a la caixa de condicionament. També es van realitzar els entrenaments en les fases prèvies AP1 i AP2, mantenint els mateixos criteris que en la prova pilot. L'únic canvi introduït va ser la possibilitat de modelar manualment (reforçar conductes d'aproximació a la palanca) l'aprenentatge dels subjectes durant l'AP1, en el cas que tinguessin dificultat per associar la palanca amb l'obtenció del reforç. Aquest fet es va observar principalment en el cas dels animals envellits degut a que mostraven una

conducta menys activa, i es va considerar la fase AP1 superada quan el subjecte obtenia 100 *pellets* sense moldejament..

3.2.1.3 Cirurgia Estereotàxica

Un cop superats els aprenentatges AP1 i AP2, els subjectes tenien accés *ad libitum* a l'aliment durant els dies necessaris per recuperar el 90- 95% del seu pes respecte la separació, a fi de d'evitar possibles complicacions durant la intervenció degudes a una excessiva pèrdua de pes.

Els procediments quirúrgics d'implantació de la cànula bilateral al CPF van ser exactament iguals als explicats en l'experiment 1 (veure apartat 1.1.1), (coordenades AP +3.5mm respecte Bregma, ML \pm 0.6 respecte la cissura medial i P -2.9mm respecte la superfície del crani).

3.2.1.4 Tasca MTP

Cinc dies després de la intervenció estereotàxica, es va reiniciar el procés de privació i un cop assolit de nou es va sotmetre als subjectes a un nou paradigma de treball, la tasca MTP. En aquesta tasca no vam incorporar cap canvi substancial respecte a la utilitzada en la prova pilot (veure apartat 3.1.1.5), vam establir com a criteri una durada màxima de la tasca de 23 sessions, en el cas dels animals joves, i de 65 sessions pels animals vells. El criteri conductual d'aprenentatge va ser d'un 80% de respostes correctes durant dues sessions consecutives.

3.2.1.5 Microinfusió

Durant la fase MTP, en cada sessió que els animals assolien un 80% de respostes correctes se'ls habituava al procés de microinfusió. Aquest procediment consistia en immobilitzar la rata amb l'ajuda d'un drap i posicionar-la al costat de la bomba d'infusió per retirar-li el tap de la cànula. Durant aquest procediment s'engegava la bomba i es movia el *dummy stylet* a fi de simular el procediment que es realitzaria per infundir DCS.

3.2.1.6 Tasca DMTP

A la tasca DMTP és on es comença a mesurar la MT gràcies a la incorporació de les demores entre la presentació de la palanca de mostra i la resposta d'elecció. Una de les diferències que vam incorporar respecte a la prova pilot fou la presentació dels diferents *delays* de forma semialeatòria, així com la incorporació d'una demora de 24 segons. Les demores podien ser de 4, 8, 16, 24 i 32 segons. La probabilitat d'aparició de les demores era del 32% per la de 4 segons, 24% per 8 segons, 20% per 16 segons, 18% per 24 segons i 10% per la de 32 segons. D'aquesta manera podíem obtenir dades de les demores més assumibles durant tota la tasca i impedir que els falsos negatius tinguessin com a resultat la millora de la MT en demores més llargues. Això va ser especialment rellevant degut a que estudis previs havien mostrat una dessensibilització després de la pre-exposició crònica a la DCS (Werner-Seidler & Richardson, 2007; Parnas, Weber, & Richardson, 2005). A més a més, havíem detectat que els animals que van arribar a la demora de 32 segons durant la prova pilot mostraven signes d'estrès observables a través de conducta agressiva així com de canvis en l'estat del pelatge. El fet de combinar totes les demores va reduir l'estrès en els subjectes. Es va limitar el nombre de sessions màximes a 25 sessions per als grups d'animals adults i 29 sessions per als vells en base als resultats observats en el pilot.

Vint minuts abans de cada sessió DMTP als animals se'ls administrava una infusió bilateral de 20µg de DCS per 1000µl de PBS o, en el cas dels controls, 1000µl de PBS al CPL .

3.2.1.7 Reversió de la tasca: NMTP i DNMTP

A fi d'avaluar els efectes de la DCS sobre la flexibilitat cognitiva vam incorporar uns nous protocols de reversió de la resposta: NMTP (*Non-matching-to-position*) i DNMTP (*Delayed-non-matching to position*). El procediment i criteris del protocol NMTP eren similars als de la fase MTP, a diferència que en el NMTP la palanca reforçada era la contrària a la palanca mostra. Aquest canvi

en les contingències permetia avaluar la flexibilitat cognitiva ja que en el mateix context canviaven les contingències de resposta.

El criteri de conductual de resposta correcta seguia essent d'un 80% de respostes correctes en dues sessions consecutives. Un cop superada la fase NMTP, l'animal podia accedir a la tasca DNMT, on novament s'introduïen les demores semialeatòries de 4, 8, 16, 24 i 32 segons entre la fase *mostra* i la fase *elecció*.

3.2.1.8. Prova de Camp Obert

Un cop finalitzades les tasques de DMTP i DNMT es va procedir a descartar possibles efectes del tractament d'administració de DCS sobre la conducta motora. La durada de la tasca, el laberint i les variables a analitzar foren les mateixes que en els anteriors experiments (punts 1.1.6). La DCS o el PBS (mateixes dosis i volums que en les fases anteriors, veure apartat 1.1.2) s'administraven al CPL 20 minuts abans del test.

3.2.1.9 Laberint Y-Maze

A fi d'avaluar la memòria a curt termini de tipus espacial vàrem realitzar una tasca de reconeixement del braç en laberint en Y (figura 53). Vint minuts abans d'aquesta prova experimental, es procedia a l'administració bilateral al CPL de la DCS o PBS, segons el grup experimental.

L'aparell consistia en un laberint negre de 3 braços en forma de Y (45x15x40cm cada braç) amb una àrea central triangular equilàtera. La prova del laberint en Y consistia en dues sessions separades per 30 minuts. La primera sessió o adquisició, tenia una durada de 15 minuts. L'animal era col·locat mirant cap a la paret en un dels braços anomenat braç inicial, aquest era el braç per on començaven la prova tots els subjectes. Un cop en el laberint l'animal podia deambular lliurement pel braç inicial i per un altre dels 3 braços del laberint seleccionat a l'atzar. El tercer braç es mantenia tancat amb una porta guillotina que impedia que l'animal hi accedís. Transcorreguts 15 minuts es

retirava el subjecte del laberint i se'l deixava a la seva gàbia durant 30 minuts mentre es netejava les superfícies. Després es procedia al test, on escol·locava novament a l'animal en el mateix braç inicial i novament tenia 15 minuts per a moure's lliurement pel laberint. En aquest cas però s'havia retirat la porta guillotina del braç anteriorment blocat i el subjecte podia accedir a qualsevol dels 3 braços del laberint. Les rates solen mostrar atracció per allò nou i per tant el que esperàvem era que en la sessió test anessin primer al braç nou i que hi passessin més temps en comparació amb els braços familiars (Dellu et al., 1992).

Per a la monitorització dels subjectes i el càlcul de les dades obtingudes es va emprar el software informàtic *SMART* i una càmera de vídeo (JVC, Eveiro Model GZ-X900). Es van comptabilitzar el nombre d'entrades a cada braç (quan l'animal hi introduïa les extremitats posteriors completament), el percentatge de temps passat a cada part del laberint i l'elecció del primer braç al qual entrava en la sessió test.

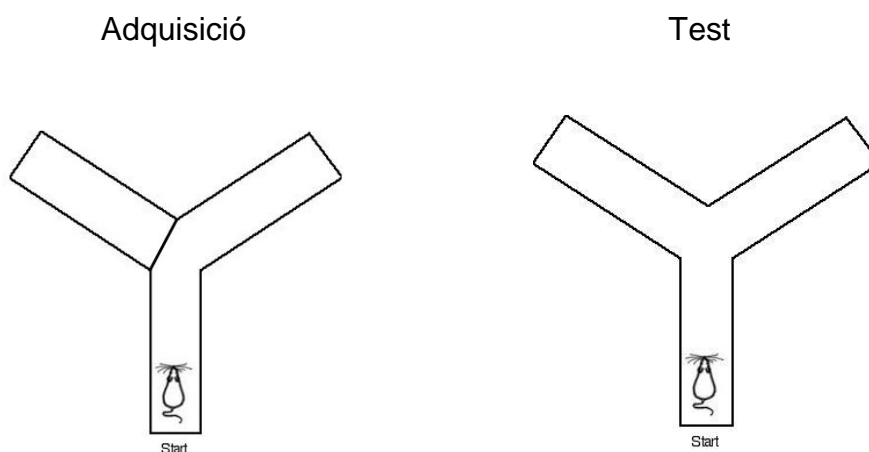


Figura 53: El laberint en Y té tres braços idèntics i un espai central triangular. Un d'aquests braços (inicial) és pel qual la rata es introduïda al laberint. A la fase d'adquisició un d'aquests braços es troba tancat, mentre que a la fase test es permet l'accés a qualsevol dels 3 braços. Fase d'adquisició (esquerra) i de test (dreta).

3.2.1.10 Prova de respostes alternes

Amb la finalitat d'analitzar els efectes de la DCS sobre la memòria a llarg termini d'una tasca dependent de CPF vam elaborar un paradigma de respostes alternes en gàbia de condicionament. Aquesta tasca es dividia en dues fases: 1) adquisició, amb un màxim 40 sessions de 30minuts cadascuna (1 diària) i 2) test de memòria consistent en una única sessió de 30 minuts que es realitzava 7 dies després de l'última sessió d'adquisició (figura 54). Al igual que en les anteriors proves s'administrava el fàrmac corresponent (DCS o PBS) al CPL 20 minuts abans de cada sessió d'adquisició. En el test no s'administrava cap substància ni tampoc els dies anteriors.

La sessió d'adquisició s'iniciava sempre amb la presentació d'una única palanca (dreta o esquerra, de forma contrabalancejada) que un cop s'havia premutsempre comportava l'aparició del reforç. Un cop obtingut el reforç, es presentaven dues palanques. La correcta execució d'aquesta tasca consistia en anar alternant la resposta de prémer cadascuna de les dues palanques disponibles per tal de rebre el reforç. Com en els casos anteriors, en realitzar un 80% de respostes correctesen dues sessions consecutives es donava per adquirida la tasca. Un cop superada l'adquisició, als 7 dies es feia un assaig de test de la memòria. El test es considerava superat si s'assolia el criteri de 80% de respostes correctes.

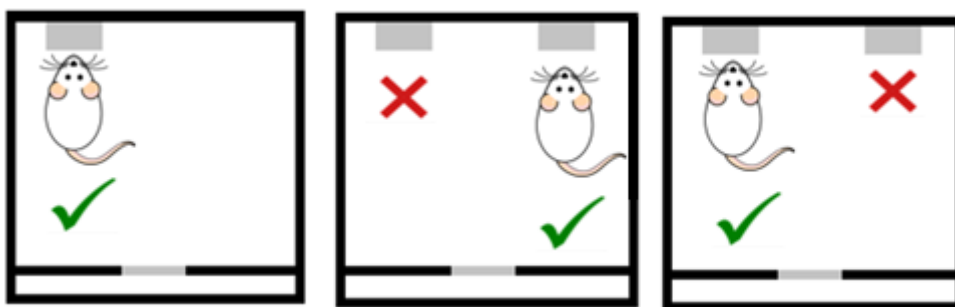


Figura 54: Representació esquemàtica de la tasca de respostes alternes

3.2.1.11 Eutanàsia i Histologia

Al concloure totes les tasques conductuals, els subjectes experimentals van rebreintrapèritonealment una sobredosi de pentobarbital sòdic. Seguidament es

va realitzar una perfusió intracardíaca amb formalina al 4% a fi de recollir mostres de teixit cerebral que posteriorment serien utilitzades per a verificar la correcta implantació de la cànula al CPL.

3.2.1.12 Anàlisi Estadística

Tal i com a la prova pilot, donades les circumstàncies similars vam utilitzar novament l'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. El percentatge de respostes correctes totals en la tasca i el percentatge de respostes correctes en cada demora de MT també es van utilitzar com a indicador de rendiment i van ser avaluats a través d'anàlisis ANOVA. Un altre dels anàlisis que va realitzar-se fou la prova T vs el 50% a fi d'avaluar l'existència de diferències significatives entre l'execució de la tasca i el nivell d'atzar (50%).

Finalment, va utilitzar-se ANOVAs per avaluar les possibles diferències entre grups en les mesures de camp obert (distància total recorreguda, velocitat mitjana, entrades al centre, entrades a la perifèria i el temps invertit en cada àrea del camp obert) i en el percentatge de pes corporal durant el procediment.

Pel que fa al test de memòria espacial a curt termini avaluada en el laberint en Y, es va utilitzar l'anàlisi de la variància ANOVA per a analitzar el percentatge de temps que el subjecte restava en cada zona del laberint durant l'adquisició i el test. Finalment va analitzar-se quin havia sigut el primer braç on havia entrat el subjecte en la sessió del test; aquesta variable va ser analitzada amb l'ANOVA, però també amb una prova T-student versus el nivell d'atzar (50%). Totes les dades experimentals es van analitzar utilitzant el programari SPSS versió 20 (IBM, Espanya) i un nivell de significació d' $\alpha \leq 0,05$.

3.2.2 Resultats

Concloso els procediments conductuals, i com en els experiments anteriors, va recollir-se mostres de teixit amb un criòstat i van ser visualitzades en el microscopi i analitzades per tres diferents investigadors de forma independent a fi de comprovar la correcta implantació de la cànula al CPL. Novament, aquells

subjectes que presentaven la cànula fora del CPLvan ser eliminats (n=8) de l'anàlisi estadística. També es van haver de descartar aquells animals amb complicacions durant la cirurgia (n=3) o com a conseqüència de l'edat (n=3), així com aquells que no van assolir els criteris de superació de la fase MTP (n=5). La mostra final va ser de 34 subjectes distribuïts de la següent manera (veure taula 7 i figura 55):

Grup	Infusió	Subjectes
VEH young	PBS	N=8
DCS young	DCS	N=9
VEH old	PBS	N=10
DCS old	DCS	N=7
		N=34

Taula 7:Mostra final per a l'experiment 3.

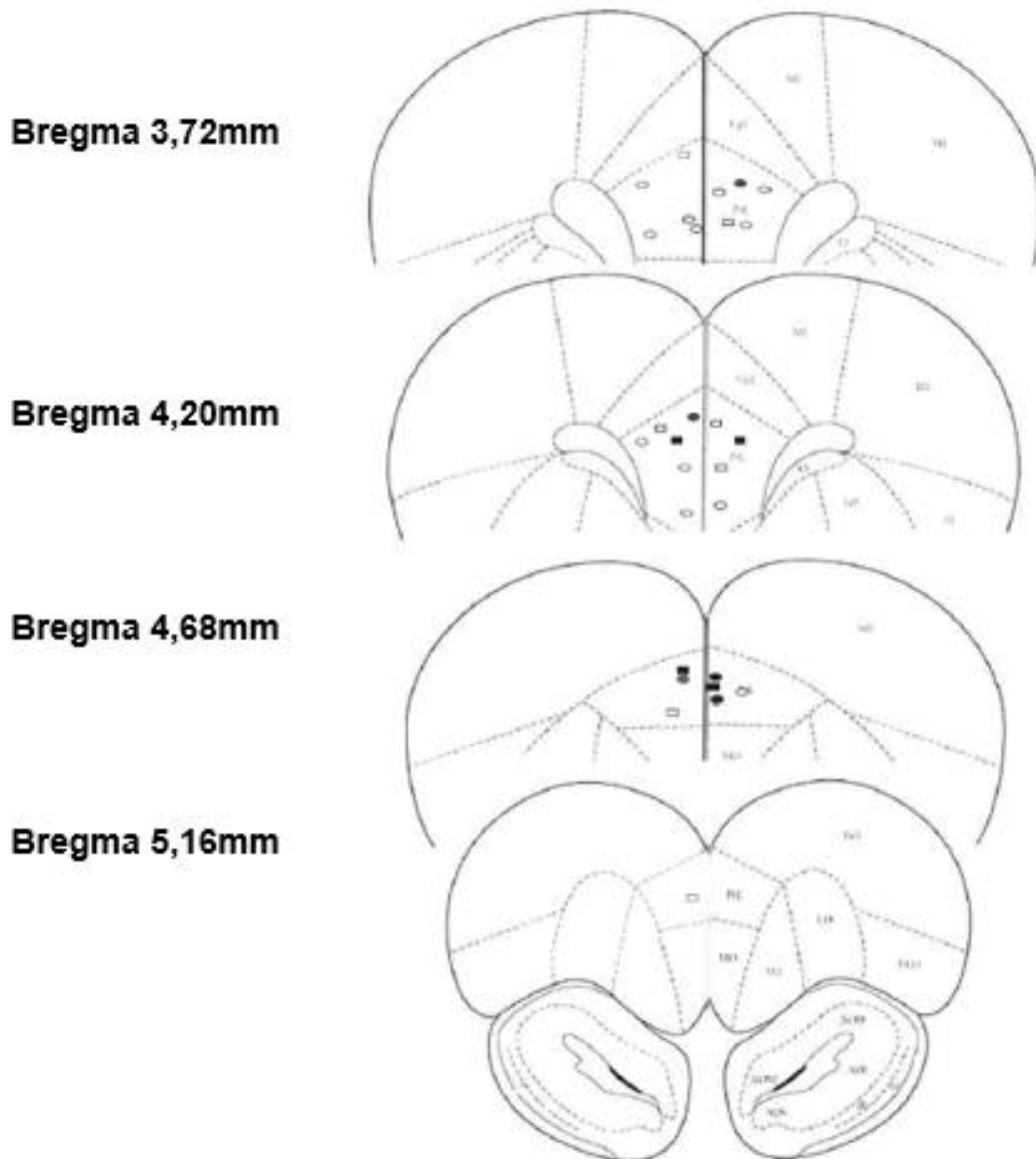


Figura 55: Representació esquemàtica de la localització de la punta del microinjector implantada en el CPL dels subjectes vàlids de cada grup experimental. Cercle buit: VEH Young; Cercle ple: DCS Young; Quadrat buit: VEH Old; Quadrat ple: DCS Old.

3.2.2.1 Control del Pes

Com en anteriors experiments, per tal de descartar possibles efectes de la restricció d'aliment i/o els tractaments aplicats sobre els resultats conductuals es van analitzar els pesos dels animals durant les diferents fases experimentals (figura 56). Es van comparar els grups d'edat per separat donat que el percentatge de privació era diferent en funció de l'edat (veure apartat 3.2.1.1). Les anàlisis dutes a terme a través de la prova T d'Student no ens mostren diferències entre els grups en la majoria de les sessions analitzades.

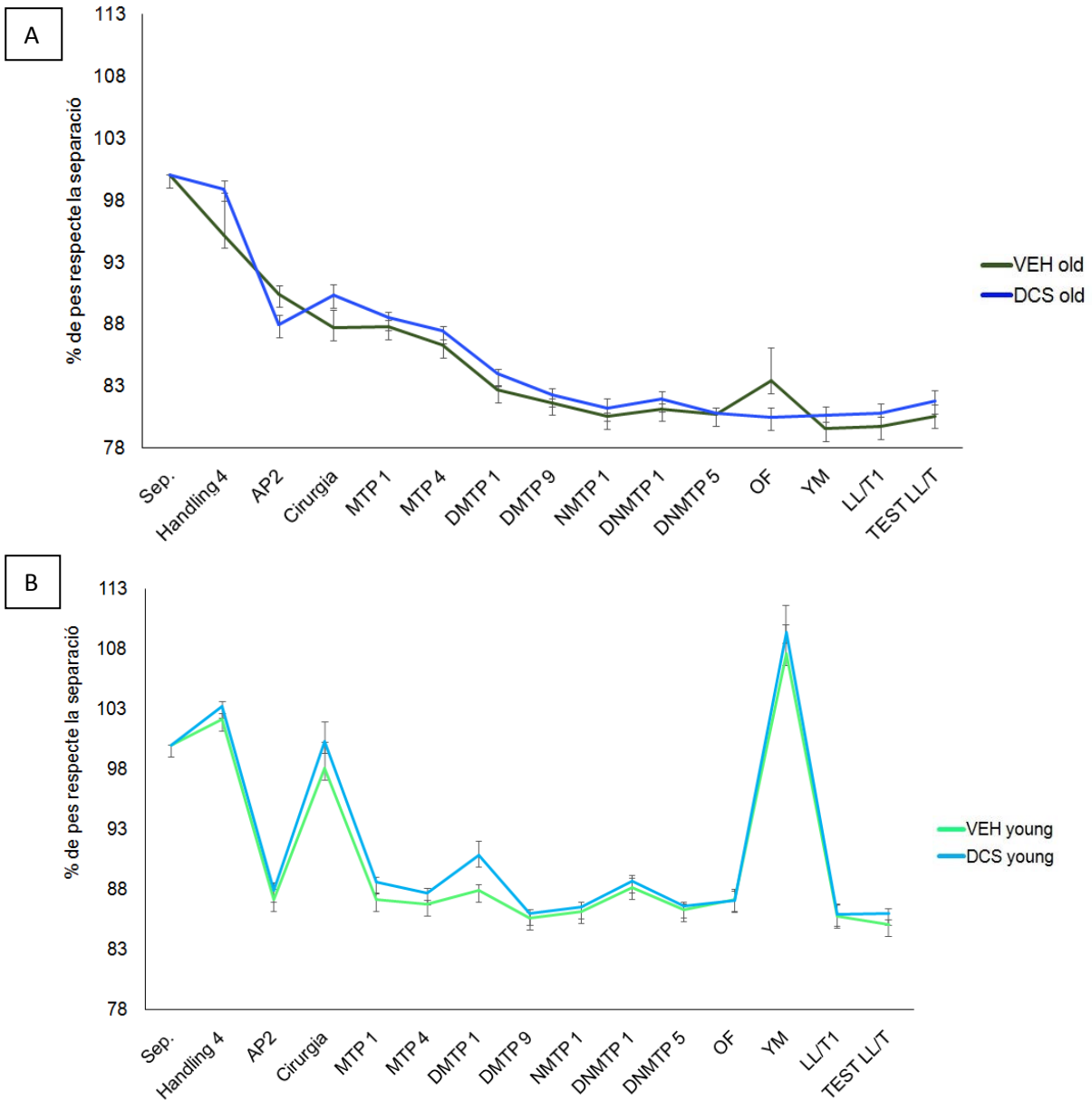


Figura 56: Mitjana del percentatge de pesos respecte el pes de separació (100%) en diferents sessions destacades de l'experiment. Sep.: Separació, AP2: Aprenentatge 2, MTP: sessió de MTP, DMTP: sessió de DMTP, NMTP 1: primera sessió de NMTP, DNMTP: sessió DNMTP, OF: Test de camp obert, YM: test de laberint en Y, LL/T1: primera sessió de la tasca de palanques alternes, TEST LL/T: test de memòria a llarg termini. A: grups de rates velles, B: grups de rates adultes.

Subjectes vells: $t(15)=-0.890;p=0,388$; $t(15)=2,254;p=0,040$; $t(15)=-997;p=0,204$; $t(15)=-0,997;p=0,334$; $t(15)=-1,742;p=0,102$; $t(15)=-1,742;p=0,102$; $t(15)=-2,159;p=0,05$; $t(15)=-1,178;p=0,261$; $t(13)=-0.949;p=0,360$; $t(9)=-1,174;p=0,271$; $t(9)=-0,62;p=0,952$; $t(13)=0,872;p=0,399$;

$t(13)=-1,257;p=0,231$; $t(10)=-1,008;p=0,337$; $t(10)=-0,900;p=0,389$. Subjectes adults: $t(15)=-1,745;p=0,101$; $t(15)=-0,708;p=0,490$; $t(15)=-0,848;p=0,410$; $t(15)=-2,149;p=0,048$; $t(15)=-1,621;p=0,126$; $t(15)=-2,279;p=0,038$; $t(15)=-1,731;p=0,476$; $t(15)=-0,620;p=0,544$; $t(15)=-0,572;p=0,576$; $t(15)=-0,671;p=0,512$; $t(15)=-0,058;p=0,954$; $t(9)=-0,545;p=0,599$; $t(15)=-0,135;p=0,894$; $t(15)=-1,510;p=0,152$.

3.2.2.2 Tasca DMTP

En primer lloc, pel que fa al correcte aprenentatge de la tasca, tots els grups van mostrar un percentatge de respostes correctes diferent estadísticament del nivell d'atzar (50%) ($p < 0.05$) (veure figura 57). Pel que fa a les diferències entre grups en la tasca DMTP, l'anàlisi estadística del percentatge de respostes correctes indica un efecte significatiu facilitador del tractament amb DCS en els subjectes envellits, ja que el grup d'animals vells tractats presenta uns resultats similars al grup d'animals joves sense tractament i significativament superiors al grup control d'animals vells. D'altra banda, la DCS no sembla exercir cap efecte rellevant en els animals joves ja que no es troben diferències estadísticament significatives entre els grups DCS young i VEH young.

Així, doncs, el factor grup, tant si el considerem de forma general sense analitzar particularment cada demora ($[F_{(3,29)}=4,051;p=0,016]$; VEH OLD vs DCS OLD $p=0,012$), com si avaluem cada demora presentada per separat es detecten diferències estadísticament significatives entre els grups DCS OLD i VEH OLD en les mitjanes de percentatge de respostes correctes en totes les demores aplicades exceptuant en la demora de 32 segons. En canvi, el grup DCS OLD no es diferencia de forma estadísticament significativa dels grups VEH Youngen cap de les demores presentades. En la taula 8 es mostren els efectes de la DCS en els animals envellits sobre l'execució de la tasca DMTP en cadascuna de les demores aplicades i en global. Hi podem veure la comparació VS el grup control d'animals vells i respecte al grup control d'animals joves.

Demora Aplicada	P Global	DCS OLD vs VEH OLD	DCS OLD vs VEH young
4 s.	[F _(3,29) =3,120;p=0,041]	P=0,044	P=N.S.
8 s.	[F _(3,29) =3,511;p=0,028]	P=0,031	P=N.S.
16 s.	[F _(3,29) =4,646;p=0,009]	P=0,017	P=N.S.
24 s.	[F _(3,29) =4,670;p=0,009]	P=0,01	P=N.S.
32 s.	[F _(3,29) =3,696;p=0,023]	P=0,108	P=N.S.

Taula 8: Resultats globals de l'ANOVA per a la tasca DMTP entre els dos grups d'animals vells i entre els grups VEH YOUNG i DCS OLD en les diferents demores aplicades.

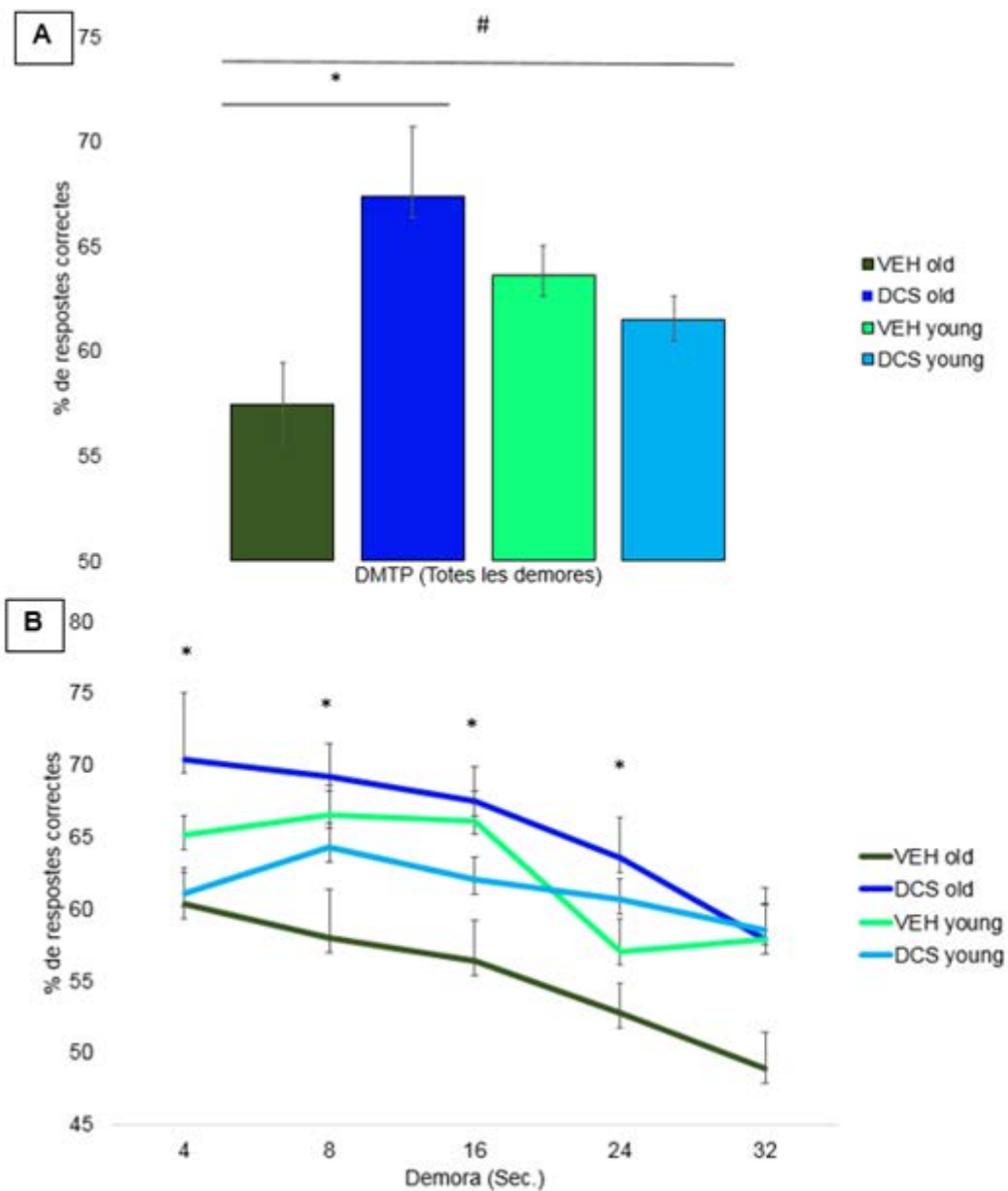


Figura 57: Mitjana del percentatge de respostes correctes \pm EE per al global de la tasca DMTP (A) i considerant les diferents demores aplicades per separat (B). * $p < 0.05$; # $p < 0.05$ vs nivell d'atzar (50%)

A fi d'avaluar el percentatge acumulat de subjectes capaços d'assolir la tasca DMTP i el nombre de sessions necessàries per a arribar al criteri d'assoliment de la tasca, vam dur a terme l'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier (figura 58) que no ens va indicar diferències estadísticament significatives entre grups ($\text{LogRank}\chi^2(3)=2,861$; $p=0,414$). No obstant, s'observa com els subjectes del grup DCS old assolixen el criteri de superació a un ritme més ràpid que els del grup VEH old igualant-se a la velocitat d'aprenentatge dels animals adults.

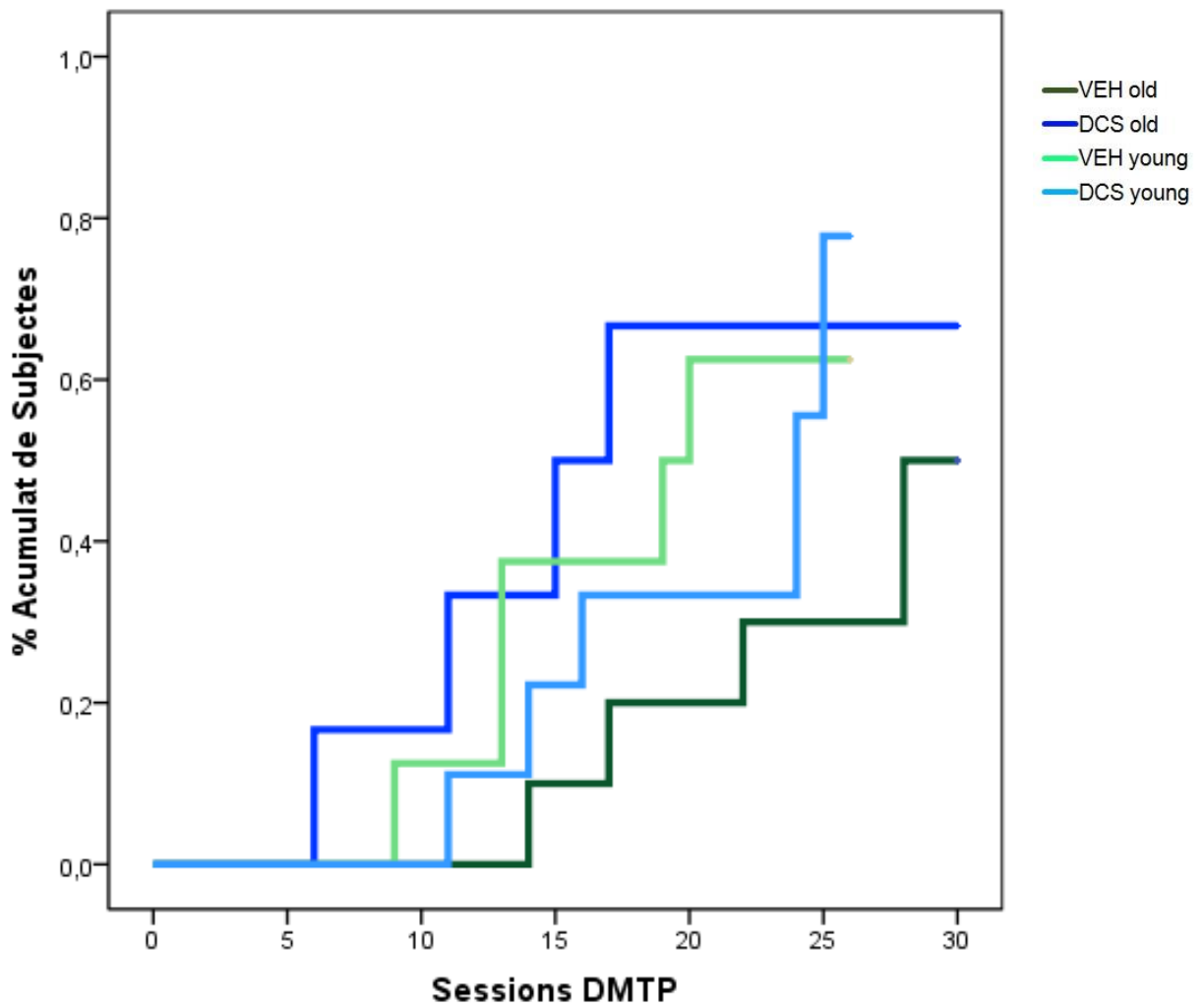


Figura 58: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. L'eix de les X mostra el nombre de sessions de la tasca DMTP, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que han superat la tasca DMTP. En blau fosc= DCS OLD, en blau cel= DCS YOUNG, en verd fosc= VEH OLD i en verd clar= VEH YOUNG.

3.2.2.3 Tasca NMTP

Pel que fa a la tasca NMTP, on s'avaluava la flexibilitat cognitiva, l'anàlisi ANOVA ens indica diferències estadísticament significatives entre grups pel que fa percentatge de respostes correctes [$F(3,29)=1,700;p<0,0001$]. L'anàlisi de contrastos ens mostra un efecte de l'edat sobre la flexibilitat cognitiva dels subjectes ja que com podem veure, les diferències entre grups d'animals de la mateixa edat són inexistents (veure taula 9 i figura 59). Tot i les diferències entre els diferents grups, novament, tal i com s'observava a la tasca DMTP, tots els grups van mostrar un correcte aprenentatge de la tasca ($p<0.05$ vs 50%).

Anàlisi Post Hoc

VEH old	DCS old	N.S.
	DCS young	$P<0,0001$
	VEH young	$P<0,0001$
DCS old	VEH young	$P=0,01$
	DCS young	$P=0,007$
VEH young	DCS young	N.S.

Taula 9: Anàlisi Post Hoc de Tukey de l'ANOVA de la mitjana del percentatge de respostes correctes a la tasca NMTP.

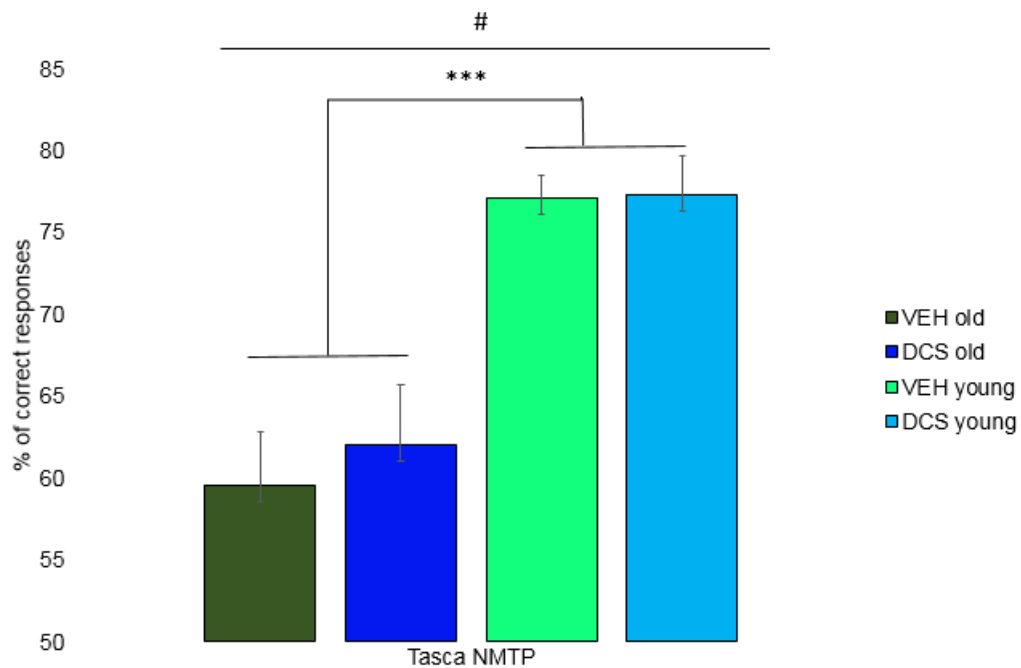


Figura 59: Mitjana del percentatge de respostes correctes ($\pm EE$) en la tasca NMTP. *** $p<0.001$; # $p<0.05$ vs nivell d'atzar (50%).

Quan s'avaluen les sessions necessàries per assolir la tasca amb l'anàlisi de la supervivència (figura 60) trobem unes diferències estadísticament significatives entre grups [LogRank $X^2(3)=27,449$; $p<0,0001$], que es deuen a l'efecte de l'edat i no de la DCS (DCS old vs VEH old $X^2(1)=0,517$; $p=0,472$; DCS young vs VEH young $X^2(1)=0,259$; $p=0,611$).

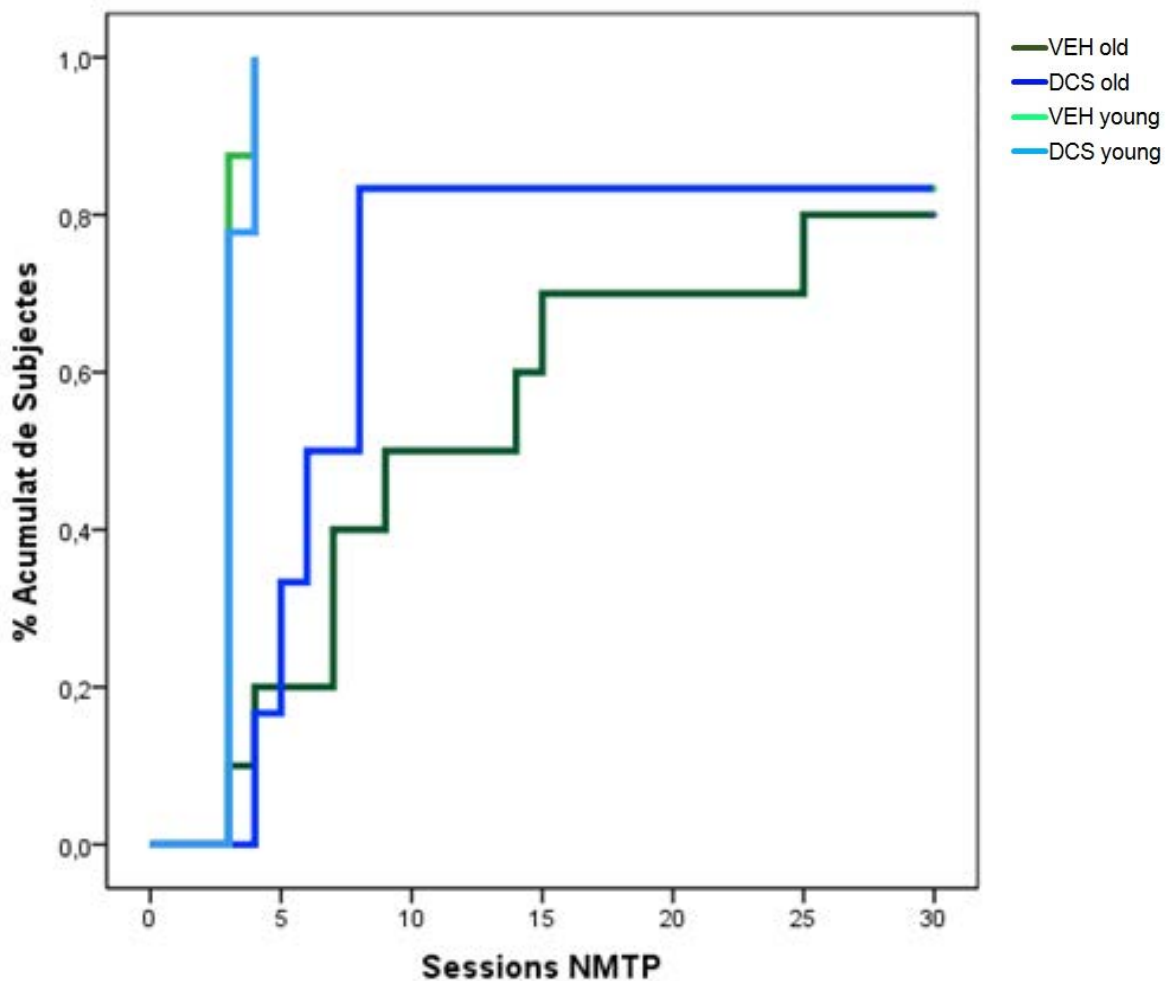


Figura 60: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. L'eix de les X mostra el nombre de sessions de la tasca NMTP, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que han superat la tasca NMTP.

3.2.2.4 Tasca DNMTTP

A l'hora d'analitzar la tasca DNMTTP, l'anàlisi de la variànciano vaindicar diferències significatives entre grups ni en el global de la tasca ni tampoc en

l'anàlisi per separat de cadascuna de les demores, amb l'excepció de la demora de 24 segons [$F(3,28)=3,333;p=0,034$] on les diferències radiquen entre els grups DCS OLD vs VEH YOUNG $p=0,033$ i on també s'observa una tendència a la significació entre els grups DCS OLD vs DCS YOUNG $p=0,054$.

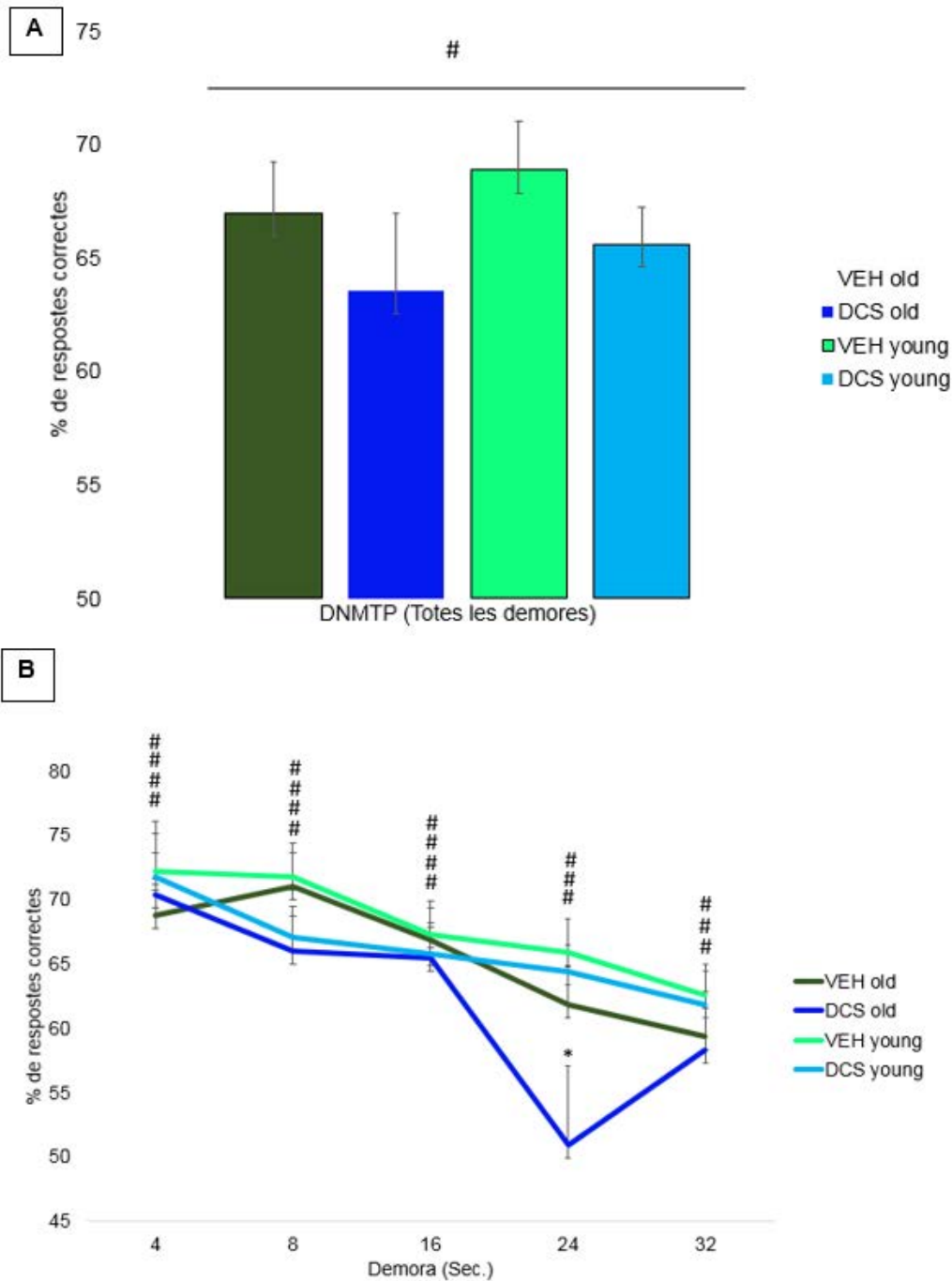


Figura 61: Mitjana del percentatge de respostes correctes \pm EE per al global de la tasca DMTP (A) i considerant les diferents demores aplicades per separat (B). * $p < 0.05$; # $p < 0.05$ vs nivell d'atzar (50%)

L'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier tampoc indica cap diferència entre els quatre grups $X^2(3)=6,238;p=0,101$. (Figura 62).

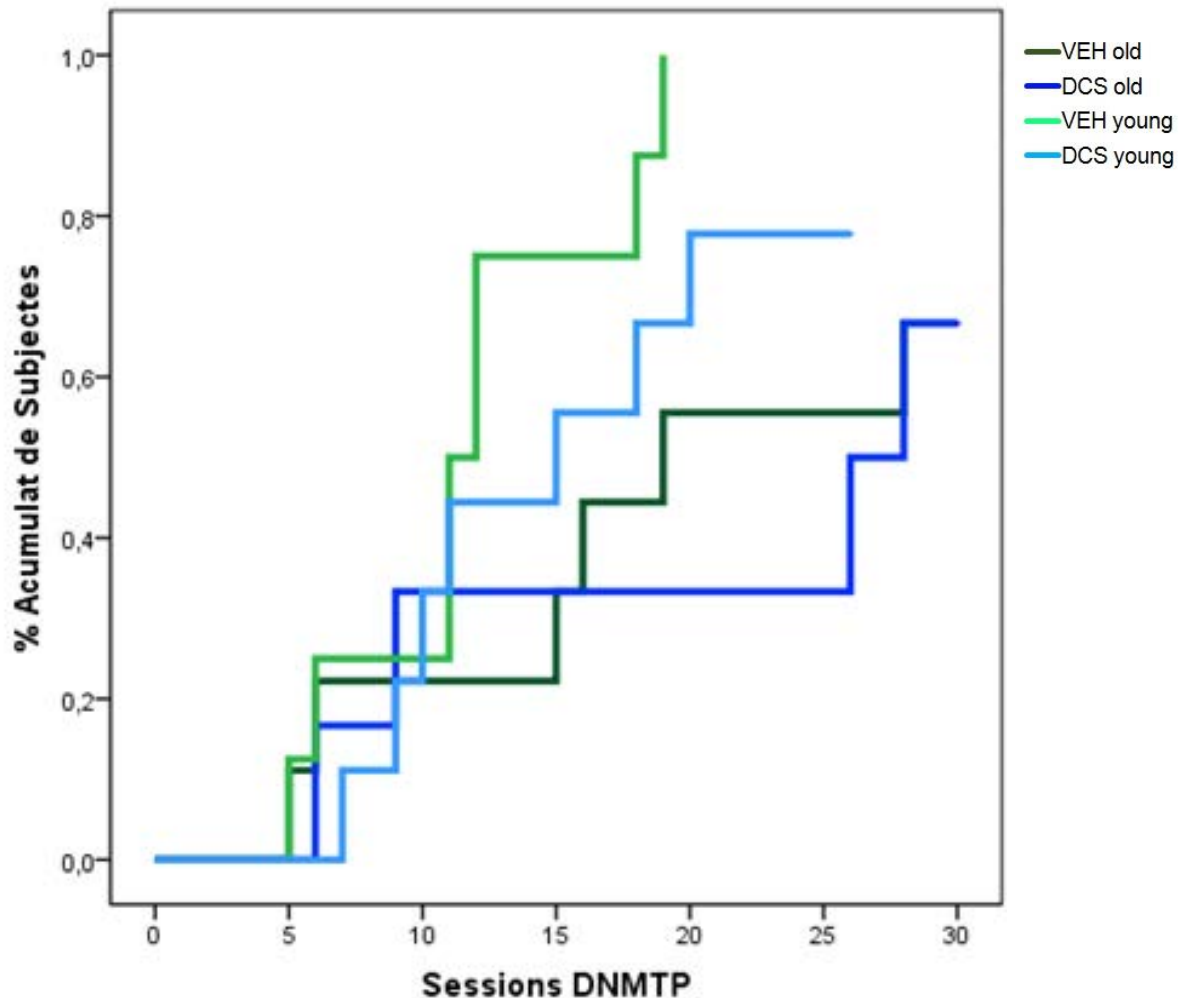


Figura 62: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. L'eix de les X mostra el nombre de sessions de la tasca DNMT, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que han superat la tasca DNMT. En blau fosc= DCS OLD, en blau cel= DCS YOUNG, en verd fosc= VEH OLD i en verd clar= VEH YOUNG

3.2.2.5 Prova de camp obert

Un cop realitzades totes les tasques cognitives a la gàbia de condicionament, vam analitzar els possibles efectes de la DCS sobre la conducta motora a través a la prova de lliure deambulació en el camp obert. L'anàlisi ANOVA no va mostrar diferències estadísticament significatives entre els grups en cap de les variables analitzades: distància recorreguda en zona

externa [$F_{(3,22)}=1,394;p=0,275$]; distància recorreguda en zones internes [$F_{(3,22)}=0,401;p=0,754$]; total de distància recorreguda [$F_{(3,22)}=1,370;p=0,282$]; mitjana de velocitat en zones externes [$F_{(3,22)}=2,055;p=0,140$]; mitjana de velocitat en zones internes [$F_{(3,22)}=1,272;p=0,312$]; mitjana de velocitat total [$F_{(3,22)}=2,030;p=0,144$]. Així doncs es descarta un possible efecte del fàrmac sobre la conducta motora dels animals.

3.2.2.6 Y-Maze

L'anàlisi ANOVA per a la tasca de memòria a curt termini avaluada en el laberint en Y no va mostrar diferències estadísticament significatives ni en la fase d'adquisició (figura 63a): percentatge de temps en el braç 1 [$F_{(3,20)}=1,585;p=0,230$]; en el braç 2 [$F_{(3,20)}=1,095;p=0,378$]; en el plat central [$F_{(3,20)}=0,932;p=0,447$], ni en la fase de test (figura 63b) percentatge de temps en el braç 1 [$F_{(3,20)}=0,445;p=0,724$]; en el braç 2 [$F_{(3,20)}=0,860;p=0,481$]; en el braç nou [$F_{(3,20)}=0,355;p=0,786$] i en el plat central [$F_{(3,20)}=0,402;p=0,753$]. En la fase test també va analitzar-se el nombre d'entrades a cada braç sense mostrar novament diferències entre els grups experimentals. Entrades en el braç 1 [$F_{(3,19)}=1,592;p=0,230$]; entrades en el braç 2 [$F_{(3,19)}=1,152;p=0,359$] i entrades en el braç nou [$F_{(3,19)}=0,731;p=0,548$] (figura 64a)

Una de les variables que se sol analitzar en aquest tipus de test és el primer braç al que ha entrat l'animal (figura 64b). L'ANOVA no mostra diferències estadísticament significatives entre grups [$F_{(3,16)}=0,510;p=0,681$], tot i que si es comparen els resultats per separat de cadascun dels grups *versus* el nivell d'atzar (vs 50%) podem comprovar que cap dels quatre grups ha assolit la prova de forma rellevant. VEH OLD [$t(2)=0,500;p=0,667$]; DCS OLD [$t(4)=1,500;p=0,208$]; VEH YOUNG [$t(4)=0,408;p=0,704$] i DCS YOUNG [$t(6)=-0,354;p=0,736$].

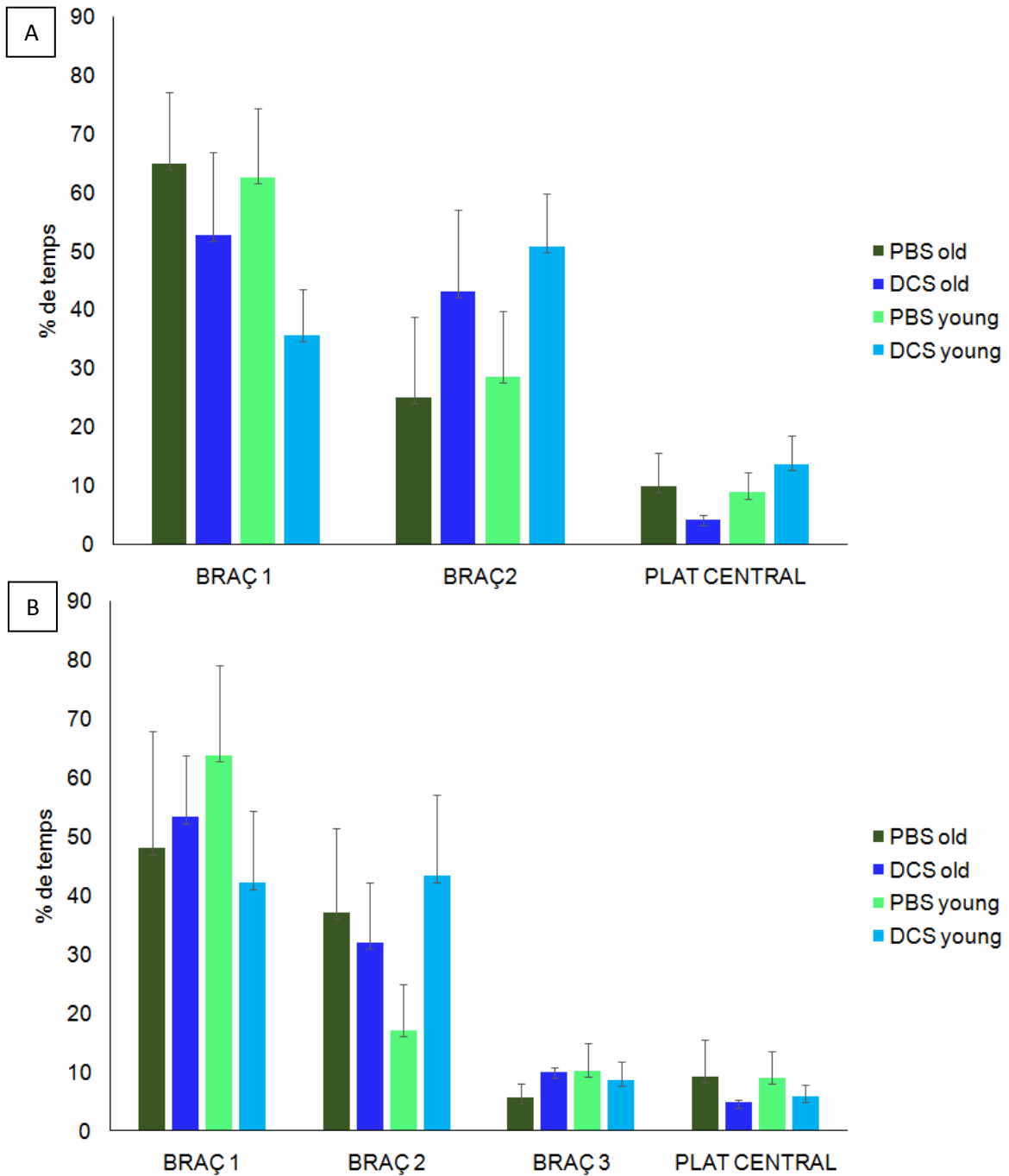


Figura 63: (A) Mitjana del percentatge de temps ($\pm EE$) que l'animal resta en cadascuna de les zones del laberint en Y durant l'adquisició. (B) Mitjana del percentatge de temps ($\pm EE$) que l'animal resta en cadascuna de les zones del laberint en Y durant el test als 30 minuts.

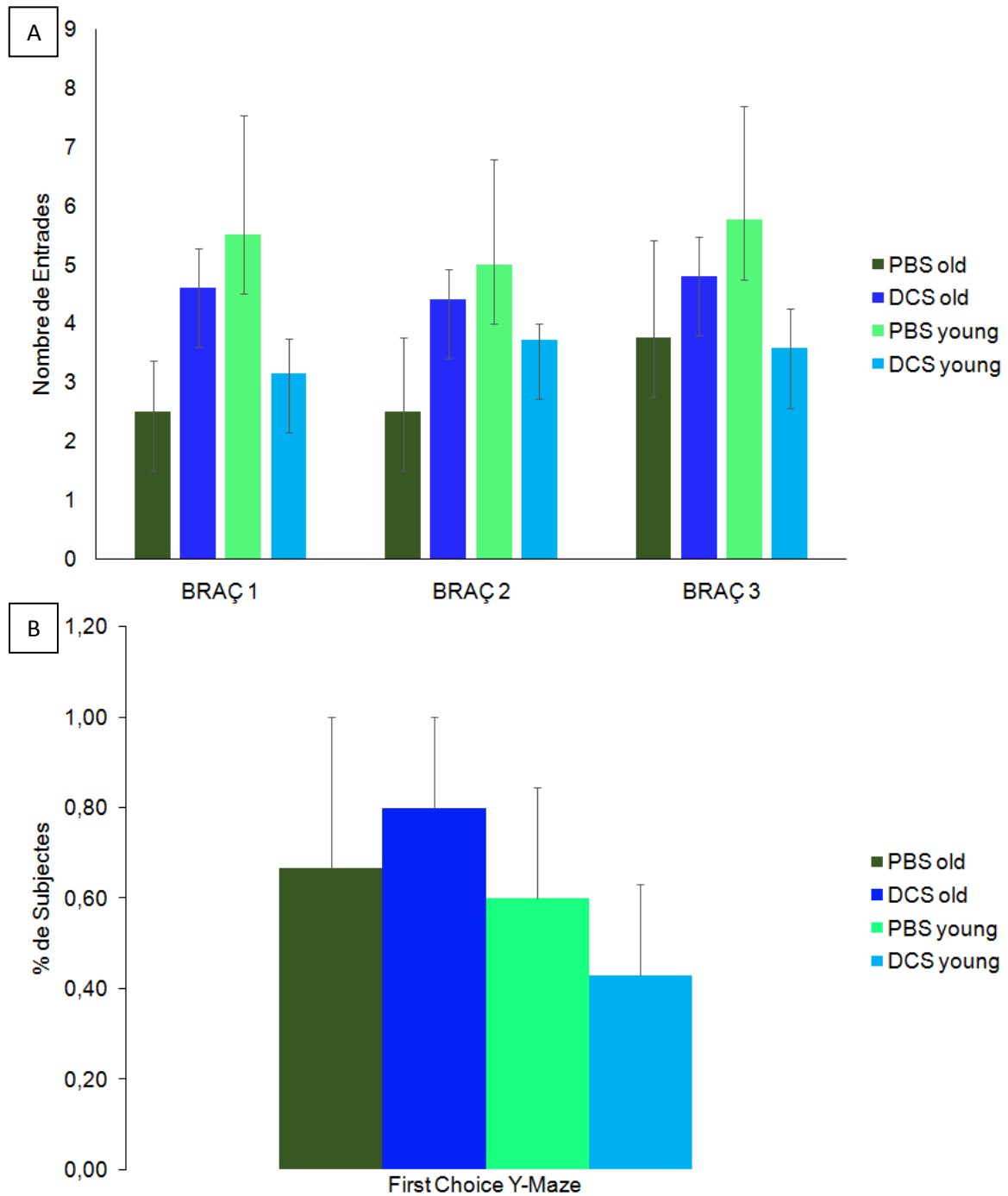


Figura 64: (A) Nombre d'entrades a cada braç durant el test als 30 minuts. (B) Percentatge de subjectes ($\pm EE$) que han entrat com a primera elecció en el braç nou.

3.2.2.7 Prova de Respostes alternes

L'anàlisi ANOVA del percentatge de respostes correctes en la fase d'adquisició, no mostra diferències estadísticament significatives entre els diferents grups experimentals. En canvi, en la sessió de test als 7 dies es troben diferències

significatives ($F_{(3,28)}=3,888;p=0,022$) (figura 65). L'anàlisi Post Hoc de Tukey ens mostra que les diferències observades corresponen al grup VEH old, el qual es diferencia dels grups VEH young ($p=0,03$) i DCS young ($p=0,04$). En canvi, el grup DCS OLD no es diferencia ni del seu control VEH old ($p=0,623$), ni tampoc dels grups d'animals joves (VEH young $p=0,373$; DCS young $p=0,455$). L'anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier en la fase d'adquisició no va indicar diferències estadísticament significatives entre grups ($X^2(3)=5,484;p=0,140$) en la fase d'adquisició. En qualsevol cas, en la figura 66, on es mostra la proporció acumulada de subjectes que assoleix el criteri d'aprenentatge (80% de respostes correctes en dues sessions consecutives), s'observa com els grups VEH, tant d'animals joves com vells, necessiten més sessions per assolir el criteri d'aprenentatge. Pel que fa a la fase test (figura 67), l'anàlisi de la supervivència novament no ens mostra que hi hagi diferències entre els grups ($X^2(3)=4,882;p=0,181$).

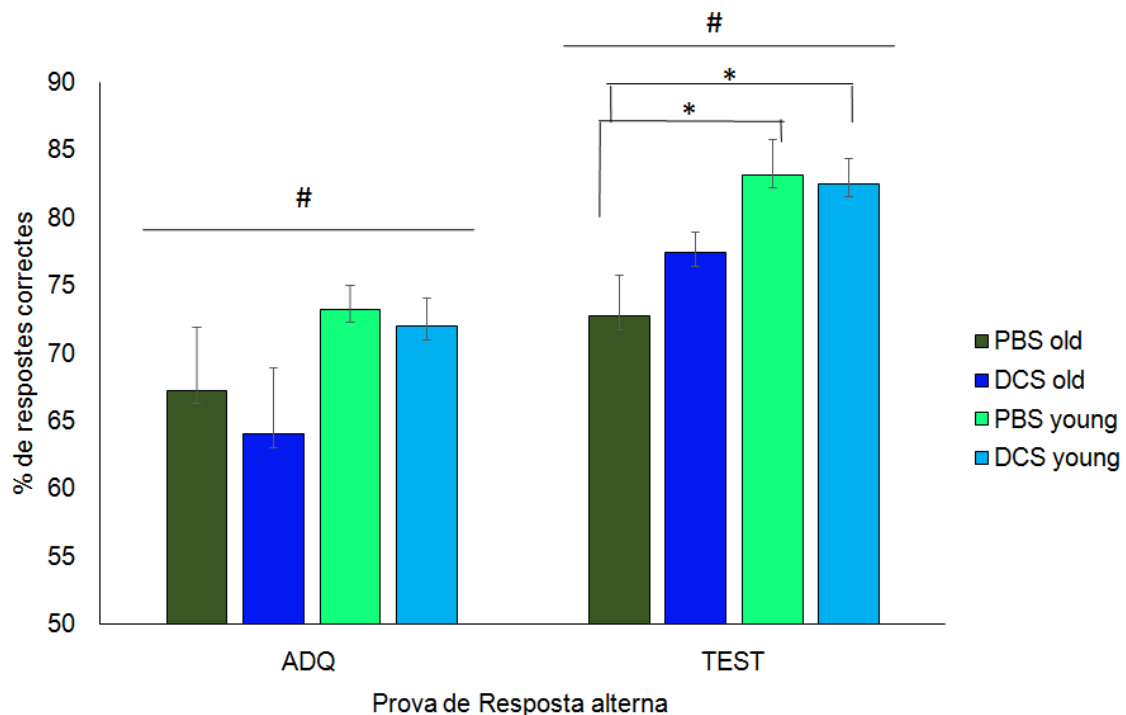


Figura 65: Mitjana del percentatge de respostes correctes ($\pm EE$) en les sessions d'adquisició de la tasca de palanques alternes (Esquerra) i Percentatge de respostes correctes ($\pm EE$) en el test de memòria a llarg termini, 7 dies després de l'adquisició. * $p < 0.05$; # $p < 0.05$ vs nivell d'atzar (50%).

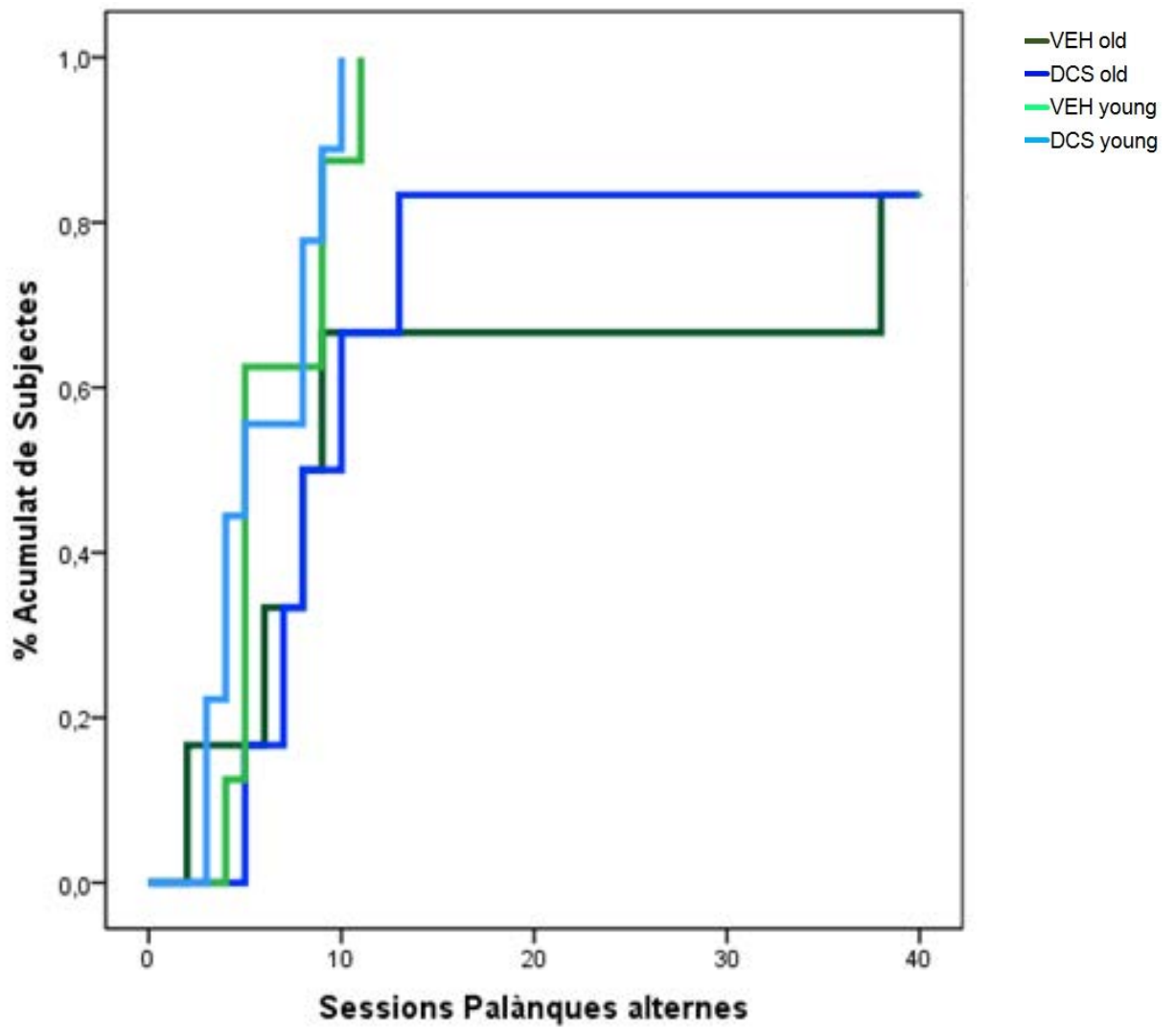


Figura 66: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. L'eix de les X mostra el nombre de sessions d'adquisició de la tasca de palànques alternes, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que han adquirit l'aprenentatge.

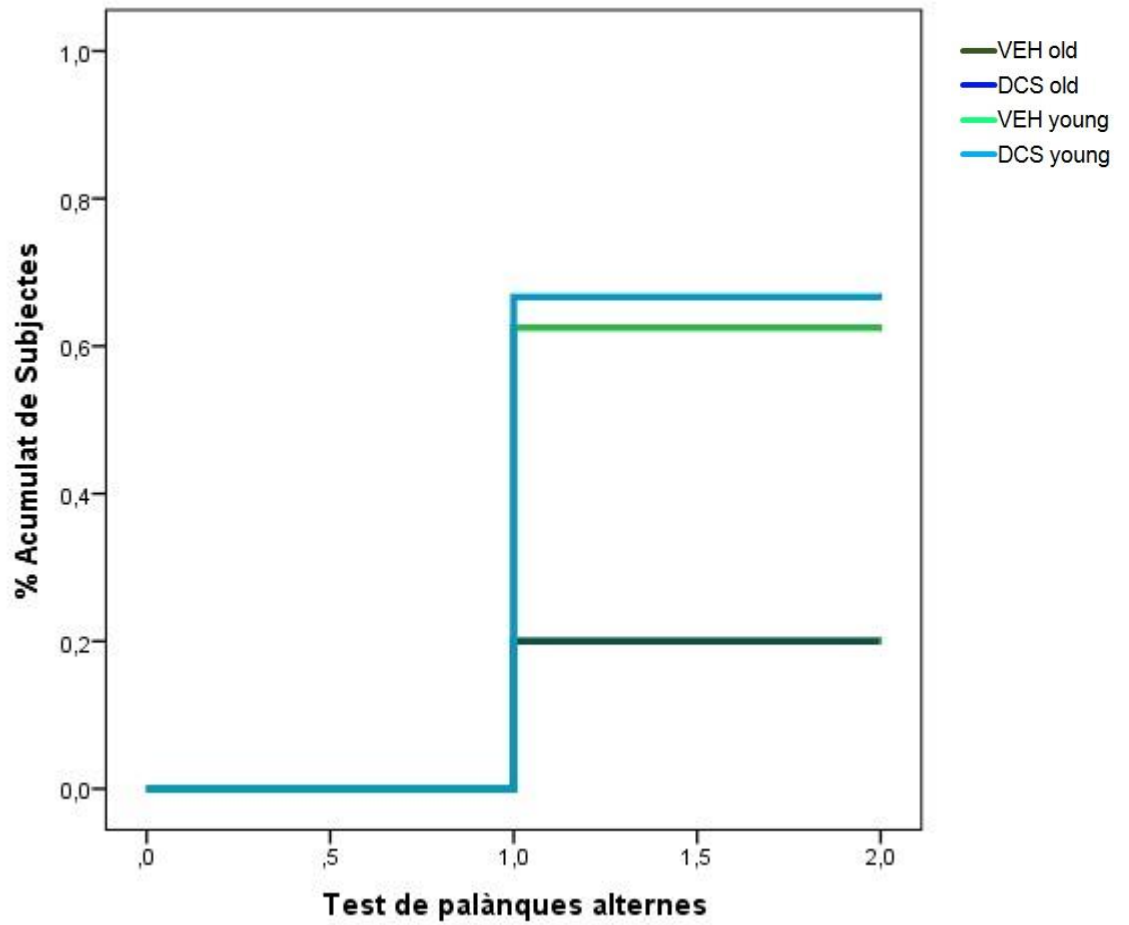


Figura 67: Anàlisi de la supervivència de Kaplan-Meier. L'eix de les X mostra el nombre de sessions d'adquisició de la tasca de palànques alternes, l'eix de les Y mostra el percentatge acumulat de subjectes que han adquirit l'aprenentatge.

IV. DISCUSSIÓ

Discussió

L'aprenentatge, la memòria, tant la MT com a llarg termini, són vitals per gaudir d'una qualitat de vida òptima ja que són necessaris per al correcte funcionament cognitiu. Aquests processos pateixen un deteriorament significatiu durant l'envelliment normal o patològic que podria estar associat, entre altres factors, a alteracions en els mecanismes de neurotransmissió. La transmissió glutamatèrgica, en regions cerebrals com el CPF i l'HPC, és crítica per a la formació de la MT i la memòria a llarg termini de tipus relacional durant tot el cycle vital. Així doncs, és d'esperar que els tractaments cerebrals que potenciïn aquesta neurotransmissió afavoriran els processos mnemònics en animals sans i atenuaran, a més, el declivi cognitiu associat a l'envelliment o a disfuncions cerebrals, probablement a través de la potenciació de mecanismes de plasticitat sinàptica i de sincronització de xarxes neuronals.

Tots els experiments presentats en aquesta tesi s'emmarquen en una línia de recerca que pretén investigar, en rates envellides o adultes amb dèficit cognitiu induït, els efectes de l'administració de compostos moduladors de l'activitat glutamatèrgica, sobre diferents paradigmes de memòria i també de flexibilitat cognitiva. Així doncs, hem estudiat si l'administració intracerebral al CPF de l'*ampaquina* S18986, modulador alostèric positiu dels AMPAr, i de DCS, agonista parcial dels NMDAr, era capaç de reduir els dèficits de memòria produïts per la l'administració d'SCOP al mateix CPL, per la inactivació temporal, mitjançant muscimol, de la influència talàmica glutamatèrgica sobre el CPF, o pel procés d'envelliment no patològic. Els efectes dels tractaments administrats van ser avaluats en diferents tasques de memòria olfactiva (DSO i TSPA), de MT, de flexibilitat cognitiva (DMTP/DNMTP), de memòria espacial a curt termini (Y-maze) i de memòria a curt termini amb component atencional (prova de respostes alternes).

En l'experiment 1 i 2 vam avaluar la capacitat de potenciació cognitiva de l'*ampaquina* S18986 ja que un treball previ del nostre laboratori, el primer que

avaluà l'efecte intracerebral d'aquest compost, va mostrar que la seva administració pre entrenament reduïa les latències i el nombre d'errors en la tasca DSO en animals adults sans (Yefimenko et al., 2013). Altres antecedents experimentals havien mostrat que la seva administració sistèmica potenciava la memòria d'una tasca de reconeixement d'objectes en rates adultes sanes (Lebrunet al., 2000). De fet, tot i la seva curta vida útil, una única administració és capaç de millorar l'execució d'aquesta tasca durant hores (Bertaina-Anglade et al., 2007). El tractament amb S18986 també s'ha posat a prova com a possible reversor de dèficits induïts tant farmacològicament com fruit de l'envelliment. En aquest sentit, Rosi i els seus col·laboradors (2004) van estudiar els efectes de l'administració d'S18986 i SCOP en animals envellits i en adults joves, i van trobar un efecte de reversió dels dèficits induïts en una tasca d'evitació, que semblava estar relacionada amb un augment de l'ACh extracel·lular a l'HPCd. Tot i això, la substància S18986 es mostrava més eficaç en els animals envellits, ja que s'obtenien resultats beneficiosos amb l'administració de 3mg/kg, dosi ineficaç en els animals joves (Bernard et al., 2010; Rosi et al., 2004). Resultats semblants van obtenir-se amb aquesta mateixa dosi en una tasca de MT espacial, doncs millorava la MT de ratolins vells però no de cinc mesos (Vandesquille et al., 2011). En conseqüència, en el present treball vam plantejar-nos si aquest modulador al·lostèric positiu dels AMPAr podria revertir els possibles dèficits mnemònics causats per un bloqueig muscarínic al CPL (experiment 1) i per la inactivació temporal del PFn talàmic (experiment 2).

Se sap que hi ha una interacció entre els sistemes glutamatèrgic i colinèrgic, els quals regulen l'aprenentatge i la memòria (Marchi & Raiteri, 1988), en diferents àrees cerebrals. Estudis farmacològics han mostrat que els receptors muscarínics són crítics en els processos cognitius (Bartus et al., 1982; Bhattacharya & Sen, 1991). El bloqueig d'aquest tipus de receptor comporta una disrupció dels processos d'aprenentatge i memòria (Michael E. Hasselmo, 2006), ja que l'activació d'aquests receptors facilita la despolarització en resposta als inputs excitadors glutamatèrgics. Diversos experiments han

mostrat que algunes de les seves accions podrien ser regulades mitjançant la modulació dels NMDAr (Segal & Auerbach, 1997; Warburton et al., 2003). Així doncs, en el primer experiment d'aquesta tesi vam avaluar si la modulació de l'activitat glutamatèrgica, via receptors AMPA amb l'administració de S18986, era capaç de revertir l'amnèsia induïda per l'administració d'SCOP al CPL. Les proves conductuals van consistir en dues tasques olfactivas d'aprenentatge: la DSO, que ens va permetre avaluar memòria implícita, i la TSPA, amb la que vam avaluar memòria relacional. També es van realitzar proves de control de percepció olfactiva i activitat motora.

Pel que fa al segon experiment, ens vam plantejar si l'S18986 era capaç de revertir els dèficits induïts per la infusió bilateral de muscimol al nucli PF en la DSO i la TSPA. Ambdues tasques apetitives de memòria olfactiva han demostrat ser sensibles a la funció del CPL i del PFn talàmic. Prèviament ja s'havia determinat, en el nostre i en d'altres laboratoris (Quiroz-Padilla et al., 2006 Quiroz-Padilla et al., 2007; Burk & Mair, 2001) que la disfunció del nucli PFn, ja sigui per lesió o per inactivació temporal, pot afectar la capacitat atencional i l'execució de diferents paradigmes de memòria com, per exemple, la TSPA o tasques de discriminació visual atencional. A més, també s'ha comprovat que l'estimulació del nucli PF pot facilitar processos d'aprenentatge i memòria (Guillazo-Blanch et al., 1995; Sos-Hinojosa et al., 2003; Schiff, 2012; Yamamoto et al., 2013; Baker et al., 2016). Donades les projeccions glutamatèrgiques del PFn cap al CPF, s'ha hipotetitzat que el PFn podria modular processos d'aprenentatge i memòria com a conseqüència de la seva influència sobre aquesta regió cortical, modulant probablement l'*arousal* i d'altres processos (María Fernanda Quiroz-Padilla et al., 2010).

D'altra banda, a l'experiment 3 de la present tesi, donada la importància dels NMDAr en l'aprenentatge i la memòria es va seleccionar un fàrmac agonista d'aquests receptors ja utilitzat en el nostre laboratori com a possible tractament potenciador, la DCS. En aquest últim experiment vam optimitzar una tasca de

MT en gàbia de condicionament per tal d'estudiar els efectes d'aquest agonista parcial dels NMDAr sobre la MT i la flexibilitat cognitiva d'animals adults sans i d'animals envellits. Addicionalment, també vam analitzar els efectes de la DCS sobre la memòria relacional a curt termini i sobre el record a llarg termini d'un paradigma amb demanda atencional.

Els resultats de la present tesi no es poden atribuir a alteracions en la percepció olfactiva, ja que els resultats del test olfactivi, utilitzat com a prova de control en els experiments 1 i 2, no demostren cap diferència significativa entre grups en la latència en trobar el reforç amagat, a variables com la motivació per a la ingesta, ja que l'anàlisi estadística del pes en les sessions representatives del procés experimental ens va indicar que no hi havia diferències significatives entre els grups, o a l'activitat motora ni a nivells d'ansietat ja que les dades obtingudes a la prova de camp obert presenten concordança amb altres investigacions, on es demostrava com ni l'S18986 ni la DCS tenien cap mena de conseqüències sobre l'activitat motora i els nivells d'ansietat dels animals tractats (Bado et al., 2011; Ozawa et al., 2012). No obstant, els resultats de Pussinen i Sirviö (1999) van mostrar un increment de l'activitat motriu després de l'administració sistèmica de DCS.

La S18986 administrada intra-CPL mostra efectes potenciadors moderats sobre la memòria implícita

La tasca DSO és un paradigma de memòria olfactiva de tipus implícit basada en la tendència innata dels animals per explorar estímuls nous. La tasca consisteix en una sessió d'adquisició composta per quatre assajos on l'animal ha de discriminar entre tres aromes i associar-ne una d'elles al reforç (aliment). Després de 24 i 48 hores de la sessió d'adquisició s'avalua la memòria en uns tests compostos per també quatre assajos amb la diferència que el primer assaig no està reforçat a fi que esdevingui un retest pur.

En relació a l'avaluació dels efectes del tractament amb S18986 administrat preentrenament al CPL que es va dur a terme en l'experiment 1, es va observar que el grup S18986 mostrava un menor nombre d'errors a la sessió d'adquisició de la tasca respecte al grup CONTROL, així com del grup SCOP, el qual encara no havia rebut la infusió d'SCOP al CPL. Pel que fa als tests de memòria, tant a les 24 com especialment a les 48 hores, s'observa un descens quasi generalitzat del nombre d'errors, no obstant els resultats del grup tractat amb S18986 resulten pràcticament idèntics en les tres sessions mostrant una facilitació en l'adquisició que es manté durant les sessions de test. D'aquesta manera s'evidencia un correcte aprenentatge de la tasca dels diferents grups tot i que l'efecte del fàrmac queda emmascarat en les sessions de test possiblement per un efecte terra.

Una altra de les variables que vàrem analitzar en aquest experiment foren les latències al trobar el reforç. En aquest cas novament veiem un descens generalitzat de les latències al llarg de tot l'experiment però menys acusat en el cas del grup S18986. El grup S18986 tot i no diferenciar-se significativament a la fase d'adquisició de la resta de grups, és el grup que menys latència de resposta va mostrar. D'altra banda el grup que més dificultats va mostrar fou el grup SCOP, com era esperable degut als efectes deteriorants en el desenvolupament d'aquesta tasca ja vistos en la literatura (Portero-Tresserra et al., 2013). Els efectes d'aquest fàrmac varen traduir-se en unes latències a les 24h significativament més llargues que les del grup CONTROL.

Pel que fa a la combinació dels dos fàrmacs, no s'observen efectes clars de reversió dels dèficits induïts per l'SCOP, ni en l'adquisició ni en la retenció de la DSONo obstant, observem una tendència a la significació en les latències de resposta del test a les 24 hores del grup S18986+SCOP vs el grup SCOP.

Pel que fa al segon experiment on vàrem avaluar l'efecte de la S18986, en aquests mateixos paradigmes, com a possible tractament de reversió de dèficits glutamatèrgics fruit de la inactivació del PFn, els resultats varen mostrar

que no existien diferències entre els grups en cap de les sessions pel que fa al nombre d'errors. De manera similar a l'anterior experiment, s'observa un descens gradual del nombre d'errors, per bé que en aquest cas el nombre d'errors del grup S18986 en l'adquisició és més elevat que a l'anterior experiment (0,53 vs. 1,48 segons). Una explicació a aquest increment podria ser degut a que en aquesta ocasió les dues administracions de substàncies es realitzaven abans de la sessió d'adquisició, entre una infusió i l'altra transcorrien només cinc minuts i cada administració implicava una immobilització de dos minuts cadascuna. El possible estrés agut aplicat abans de la sessió d'adquisició degut a les manipulacions dutes a terme per infundir els fàrmacs podria ser, doncs, el responsable d'aquest increment en el nombre d'errors (Ozbaki et al., 2016).

Pel que fa a les latències, les anàlisis ens mostren un efecte negatiu sobre l'adquisició de la tasca amb l'administració de muscimol al PFn, grup que es diferencia significativament del grup S18986 i tendeix a una diferència significativa respecte el grup CONTROL. Aquests efectes deteriorants en l'adquisició de la tasca DSO poden veure's revertides si s'administra S18986. No obstant, els increments en les latències per part del muscimol desapareixen en les sessions de test a les 24 i a les 48 hores.

Així doncs, podem concloure que l'administració d'S18986 té certs efectes facilitadors en tasca DSO especialment en aquells subjectes amb algun tipus de dèficit cognitiu induït. Aquests efectes es tradueixen en eliminar les diferències que es donen en les latències en la retenció de la tasca entre els animals tractats amb muscimol i els tractats amb . Pel que fa als errors, podem observar com l'S18986 redueix el nombre d'errors respecte el grup CONTROL en un dels experiments.

Tot i les similituds entre els nostres resultats i els trobats a la literatura, aquests resultats no coincideixen del tot. Cal dir però que la majoria de treballs on s'ha estudiat els possibles efectes sobre la cognició de l'S18986 ho han fet a través de la seva administració sistèmica i només disposem d'un treball publicat on

s'hagi administrat via intracerebral. En general a la literatura s'ha trobat un efecte procognitiu de S18986 en animals de mitjana edat i en diferents paradimnes de memòria. El compost S18986, al actuar modulant els AMPAr, exerceix una modulació indirecta sobre els NMDAr que pot facilitar processos de LTP així com facilitar l'expressió de BDNF esdevenint un potencial fàrmac per a la prevenció dels dèficits cognitius associats a l'envelliment (Bloss et al., 2008). Aquests efectes sobre la LTP poden resultar també beneficiosos a l'hora de modular altres sistemes de neurotransmissió. S'ha vist que l'S18986 augmenta l'alliberació d'Ach al HPC i de noradrenalina tant a l'HPC com al CPF i de dopamina al CPF (Lockhart et al., 2000; Rosi et al., 2004). Per tant, potser s'hagués observat uns efectes més potents en la reversió dels dèficits cognitius induïts per l'SCOP en una tasca hipocampdependent com per exemple la TSPA. Desafortunadament però, dificultats metodològiques en aquesta tasca han impedit que poguessim observar aquests efectes en el present treball.

A més a més, els resultats obtinguts en relació a l'administració post-entrenament d'SCOP no van corroborar completament els resultats obtinguts en treballs anteriors (Carballo-Márquez et al., 2007; Portero-Tresserra et al., 2013) on l'administració d'SCOP al CPL immediatament després de l'entrenament causava un bloqueig de la consolidació de la memòria. La conseqüència d'aquest bloqueig s'observava en l'execució dels animals en el test de memòria, els quals presentaven no només majors latències de resposta sinó també un nombre major d'errors. En el nostre experiment, no es va observar una diferència estadísticament significativa entre el grup SCOP i el CONTROL. Cal tenir present però que en els experiments recentment esmentats el fàrmac potenciador de l'activitat glutamatèrgica que utilitzaven actuava sobre els receptors NMDA i que hi havia un assaig més a la fase d'adquisició respecte el nostre experiment.

Pel que fa a la capacitat de la substància S18986 de revertir els dèficits cognitius induïts tant per SCOP com per muscimol en la DSO, els resultats ens mostren igualtat entre els grups en els quals els hem administrat la S18986 junt amb el muscimol i aquells que no han rebut l'*ampaquina* S18986, mostrant la manca d'efectes de l'S18986 com a tractament de reversió, o almenys amb la

dosi administrada. Un estudi anterior va demostrar que l'administració d'aquesta mateixa dosi de 3 µg/hemisferi d'S18986 (Yefimenko et al., 2013) era suficient per a millorar l'execució de la tasca DSO de subjectes sans, però probablement dosis majors haurien estat més apropiades per a trobar efectes tant en subjectes sans com en aquells amb dèficits induïts. En l'estudi de Rosi et al. (2003), dosis de 10 mg/kg administrada intraperitonealment eren més efectives en revertir els dèficits causats per SCOP que 3mg/kg.

Els possibles efectes procognitius de l'S18986, no només es van avaluar en la DSO sinó també en el paradigma conductual de TSPA. La TSPA és un paradigma de memòria olfactiva, tot i que en aquest cas és de tipus relacional. La tasca consta de dues parts, una sessió d'adquisició o interacció social que consisteix en la interacció entre l'animal experimental i un subjecte observador que prèviament ha ingerit un aliment aromatitzat i dues sessions de test (una a les 24h i l'altra a les 48h). Després de la sessió d'aprenentatge social, els subjectes van ser sotmesos a un test de preferència alimentària, que consistien en presentar al subjecte entrenat aliment aromatitzat amb l'aroma entrenat i aliment aromatitzat amb un aroma nou.

Els subjectes als que es va administrar S18986 pre-entrenament no van obtenir un percentatge de preferència per a l'aliment entrenat superior al nivell d'atzar, contradient estudis anteriors de tasques dependents d'HPC (Bernard et al., 2010). Per tant, aquests resultats podrien indicar que l'S18986 per sí mateix no és capaç d'actuar com a facilitador cognitiu en aquesta tasca. Tanmateix, els resultats obtinguts tampoc semblen indicar cap efecte facilitador de l'S18986 per a revertir els possibles dèficits causats pel bloquejant muscarínic, ni al test 24 hores ni 48 hores. Aquests resultats contrasten amb el que es va observar en anteriors estudis on es van utilitzar altres fàrmacs moduladors de l'activitat glutamatèrgica (Boix-Trelis et al., 2007; Portero-Tresserra et al., 2013) i on l'administració 20 µg de SCOP interrompia de manera contundent l'adquisició de la TSPA.

En el segon experiment, els resultats per a la tasca TSPA són molt similars als ja mostrats a l'experiment anterior. L'única diferència es detecta al test a les 48 hores, en el qual es mostra un aprenentatge del grup CONTROL

significativament superior al 50% corresponent al nivell d'atzar, fet que el diferencia dels dos grups que varen rebre muscimol. D'altra banda ni S18986 ni SCOP ni muscimol van provocar cap efecte sobre els patrons de conducta d'interacció social durant l'adquisició de la TSPA. Tampoc es va observar cap efecte sobre la motivació per a la ingesta durant el test de preferència alimentària, ja que no es van detectar diferències significatives en la quantitat de menjar ingerida pels diferents grups.

Sorprenentment al que esperàvem (Galef & Wigmore, 1983), els animals control no van realitzar un sòlid aprenentatge d'aquesta tasca, el que ens condueix a considerar que problemes metodològics poden haver influït en els resultats. Un possible motiu per explicar que aquestes substàncies no tinguin el mateix efecte que en estudis anteriors de TSPA, tot i administrar les mateixes dosis, podria ser el fet que en els treballs anteriors la tasca es va dur a terme en la mateixa caixa transparent on habitava el subjecte (Boix-Trelis et al., 2007; Carballo-Márquez et al., 2009; Portero-Tresserra et al., 2013). En aquest cas, i per facilitar la posterior observació dels vídeos, es va dur a terme en caixes rectangulars negres de fusta de 50 x 25 x 30 cm. Una altra possible explicació, descrita anteriorment amb l'administració de DCS al CPL (Portero-Tresserra et al., 2013), és que el CPL podria estar més implicat quan la dificultat de la TSPA és elevada, és a dir, quan l'elecció de la preferència es realitzava amb tres opcions de resposta (tres menjars amb aromes diferents). Per tant, en el present treball que ha involucrat només dues opcions de tria probablement s'ha disminuït la possibilitat d'observar diferències estadísticament significatives. Tot i que s'ha descrit que el CPL és una regió implicada en la flexibilitat cognitiva, en la presa de decisions i la consolidació de la memòria en tasques de tipus olfatori (Kesner & Churchwell, 2011), altres àrees cerebrals com l'HPC podrien ser més sensibles a l'administració intracerebral de S18986, ja que és una àrea clarament implicada en la consolidació de la memòria en aquesta tasca relacional (Alvarez et al., 2001). El fet que els animals CONTROL tampoc aprenguessin de manera substancial aquest paradigma indica la probable contribució de problemes metodològics que no van estar suficientment controlats.

Aquests resultats obtinguts no recolzen la hipòtesi inicial que proposava que l'S18986 administrada al CPL podria potenciar l'aprenentatge i la memòria en rates sanes i revertir dèficits mnemònics induïts per SCOP o muscimol. Així doncs, a més d'intentar resoldre possibles problemes metodològics, són necessaris estudis amb diferents dosis de S18986, així com avaluar els efectes de l'S18986 injectada a una altra regió cerebral com l'HPC, també implicada en les mateixes tasques d'aprenentatge (Carballo-Márquez et al., 2009), en rates joves sanes i amb dèficit cognitiu induït ja sigui per manipulacions farmacològiques com pel propi procés d'envelliment natural. Els efectes positius de l'*ampaquina* S18986 administrada de manera sistèmica s'han demostrat en altres estudis i en diferents paradigmes mnemònics, i en general s'ha suggerit que els efectes són més potents en tasques hipocamp-dependents i en ratolins de mitjana edat (12-16 mesos) (Béracochéa et al., 2007; Bernard et al., 2010; Bertaina-Anglade et al., 2007; Marighetto et al., 2008; Rosi et al., 2004; Vandesquille et al., 2011). Per tant, si es solventen els problemes metodològics per a la tasca TSPA de Portero-Tresserra i els seus col·laboradors, podríem esperar observar un efecte més potent de la S18986.

L'administració intra-CPL de DCS potencia la memòria de treball en animals envellits

Una de les regions cerebrals que més es veu afectada pel procés d'envelliment és el CPF. Aquesta regió, com ja s'ha comentat en anterioritat, té una gran importància per a les funcions executives i pel manteniment de l'atenció. Així doncs, sembla probable que la seva degeneració afecti tasques que involucrin aquests processos cognitius, com per exemple la MT (Tulving, 1983; Buckner, 2004; Grady, 2008).

A fi d'avaluar la MT, en la present tesi doctoral s'ha utilitzat la tasca DMTP en gàbia de condicionament. Aquest paradigma de memòria consisteix en tres fases diferenciades. A la primera (mostra), una palanca no reforçada es presenta aleatòriament, i al ser premuda per l'animal s'activa el temporitzador

(fase demora d'entre 4 i 32 segons). Posteriorment, es presenten les dues palanques de les que disposa la gàbia de condicionament (fase elecció) i l'animal ha de prémer la mateixa palanca que la inicialment presentada a fi d'obtenir el reforç de menjar.

Els nostres resultats han mostrat que la DCS (10 µl /hemisferi) té un efecte facilitador de la MT en animals envellits en totes diferents demores aplicades, ja que el tractament ha revertit el dèficit dels animals vells, els quals han mostrat resultats similars als dels grups d'animals adults. Quan es comparen els resultats dels dos grups d'animals CONTROL, s'observa un efecte moderat de l'envelliment sobre la MT degut a que es detecten diferències significatives només als 16 segons i tendències a la significació als 8 i als 32 segons.

Com ja s'ha mencionat en capítols anteriors, en general, com més llarga és la demora pitjor és el record però, tot i la disminució del record de tots els grups, a mesura que avança el procés d'envelliment, els resultats dels animals vells tractats amb DCS són entre un 8,9 i un 11,2% superiors que els dels seus homòlegs vehicle. Això representa unes diferències significatives en totes les demores aplicades, a excepció de la demora més llarga en la qual només s'observa una tendència a la significació. Com ja em comentat anteriorment, l'aplicació de les demores es realitzava de forma semialeatòria i el fet que el percentatge d'aparició de les demores més curtes sigui superior a aquelles més llargues fa que el subjecte tingui més oportunitats de respondre-hi, i probablement si s'hagués donat més oportunitats de respondre a la demora de 32 segons també s'haurien trobat diferències clares entre els grups.

Tot i els clars resultats observats en els animals vells, els efectes de la DCS en els animals adults no han estat tan acusats, essent inexistents les diferències entre el grup DCS i el CONTROL en cap de les demores aplicades. Aquests resultats concorden amb d'altres estudis que mostren com l'efecte beneficiós de la DCS sembla estar limitat a facilitar la MT en animals amb algun tipus de dèficit cognitiu, però no en subjectes adults sans. Per exemple, Ohno i Watanabe (1996) van mostrar que l'administració intra-HPC de DCS no era capaç de millorar la MT en animals intactes, però sí en animals havien rebut la

DCS després d'una administració local d'SCOP a l'HPC. En el nostre laboratori, Portero-Tresserra et al., (2014) va obtenir resultats similars, ja que l'administració de DCS intra-HPC en animals adults tractats amb SCOP millorava la memòria relacional, però no ho feia en animals tractats amb vehicle. No obstant, altres estudis mostren resultats contradictoris respecte als nostres, com per exemple el de Pussinen i Sirviö que mostra que la DCS facilita la MT en la tasca DNMTS per a laberint radial en rates de cinc mesos d'edat (Pussinen & Sirviö, 1999), les diferències observades entre aquest experiment i el nostre però, podrien raure en el fet que utilitzaven el laberint radial, on el rol de l'HPC és important, i demores de fins a quatre hores.

La via d'administració del fàrmac no és un factor al que podem atribuir les diferències entre estudis. Grzeda i els seus col·laboradors l'any 2007 varen administrar DCS sistèmicament a rates diabètiques, les quals presentaven un dèficit en la MT, i van obtenir resultats de facilitació de la memòria en aquestes però no en el grup control en una tasca avaluada en laberint en T. Els nostres resultats també estan en consonància amb els resultats que va obtenir Forsyth i els seus col·laboradors l'any 2015 (Forsyth et al., 2015), amb l'administració de DCS de forma sistèmica a humans adults sans. En aquest cas tampoc van demostrar efectes potenciadors de la DCS sobre la MT en una tasca espacial *n-back*, però sí quan la van administrar a pacients diagnosticats d'esquizofrènia, els quals presentaven dèficits de MT (Forsyth et al., 2017). No obstant, hi ha estudis on utilitzant la mateixa prova conductual varen trobar un efecte sobre la MT en humans sans, (Kuriyama et al., 2011). Tal com Forsyth i els seus col·laboradors van plantejar, donada la mínima activitat NMDAR necessària per mantenir una activitat persistent dins del PFC, l'activació dels NMDAR podria tenir efectes limitats en la memòria. Aquesta hipòtesi podria explicar els nostres resultats previs amb l'administració directa al sistema nerviós en rates joves, suggerint que la DCS només té efectes de potenciació cognitiva quan hi ha una activitat glutamatèrgica reduïda al CPF, com podria ocórrer en el cas d'animals envellits.

Tal i com plantegen McQuail i els seus col·laboradors (2016), les diferents subunitats dels NMDAR compleixen diferents funcions i durant l'envelliment es

dóna una pèrdua en concret de la subunitat NR2A. La relació entre l'expressió reduïda de la subunitat NR2A al CPF i l'alteració de la MT en rates d'edat sembla indicar que la millor estratègia per a millorar la cognició en rates velles seria potenciant l'activitat NR2A (McQuail et al., 2016). De manera congruent, els animals adults als que se'ls ha bloquejat la subunitat NR2A al CPF mitjançant antagonistes competitius (NVPAAM077 i TCN-201) realitzen una pitjor execució de la fase "elecció" en la tasca DMTP. D'altra banda, els models cel·lulars de MT posen de manifest que la senyalització NMDAr perllongada és avantatjosa per a la MT, ja que ofereix una major oportunitat d'integrar entrades excitadores i mantenir un dispar neuronal persistent (Goldman-Rakic, 1995; D. Wang et al., 2014).

El perfil agonista de la DCS en NMDAr amb diferents composicions de subunitats és complex. S'ha demostrat que la DCS augmenta el temps d'obertura del canal en els NMDAr que contenen la subunitat NR2C amb aproximadament un 200% més d'eficàcia que la glicina, mentre que en els NMDAr que contenen subunitats NR2A té una eficàcia del 90% i en les 2B, la DCS té aproximadament un 65% d'eficàcia en comparació amb la glicina (Goff, 2017). Per tant, mentre que la DCS és un agonista en els NMDAr amb subunitats NR2C, independentment de la dosi, en les NMDAr amb les subunitats NR2B i NR2A, la DCS pot actuar com agonista en dosis baixes (per exemple, 50 a 250 mg) mitjançant l'estimulació de llocs de glicina desocupats, però com a antagonista en dosis altes (per exemple, 1000 mg) (Krystal et al., 2011) desplaçant la glicina endògena. Atès que els NMDAr amb diferents subunitats podrien ser diferents en diverses funcions cognitives, (Paoletti et al., 2013) estudis addicionals que aclareixin la participació dels subtipus NMDAr en diverses funcions cognitives, així com el perfil agonista de la DCS a cada subtipus NMDAr seria útil. Si tenim en compte que durant l'envelliment, a més a més de la reducció que es dona en els NMDAr les subunitats NR2A són progressivament substituïdes per subunitats NR2B podem esperar diferències en l'agonisme segons l'edat. Així podríem hipotetitzar que dosis més baixes de les que hem administrat de DCS podrien facilitar la MT també dels animals joves.

Tenint en compte tot l'anteriorment comentat, seria interessant esbrinar quina podria ser la dosi òptima per a cada via d'administració i edat, ja que la DCS no té el mateix efecte en totes les condicions. Alguns estudis han conclòs que una única administració sembla ser suficient per a la facilitació de l'aprenentatge i la memòria i d'altres, realitzats amb el paradigma d'extinció de condicionament, han mostrat que múltiples exposicions a DCS induïen a la desensibilització dels receptors i, en conseqüència, la disminució dels efectes del fàrmac. Aquest fet suggereix que és probable que freqüències d'administració diferents (agudes o cròniques) puguin produir diferents efectes en els diferents processos cognitius i, fins i tot, edats (Werner-Seidler & Richardson, 2007). Una possible explicació per a la desensibilització dels NMDAr per la repetida administració de DCS és que l'exposició crònica al fàrmac pot alterar els nivells de glicina endògena en l'espai sinàptic i, per tant, saturar el complex-receptor de glicina (Mickley et al., 2012). No obstant, quan els nivells de glicina són alts, la DCS podria actuar com a antagonista parcial dels NMDAr reduint la seva activitat fins al 50% (Goff, 2012). Tantmateix, aquesta desensibilització no es tracta de quelcom permanent, sinó que després d'un període sense administrar-se es poden restaurar els nivells basals (Parnas et al., 2005). Per tal de respondre la qüestió de quina és l'administració òptima de DCS per a obtenir-ne el màxim rendiment, s'ha indicat que una sola dosi (100 mg) administrada de forma sistèmica abans d'una tasca de MT era capaç potenciar l'execució en humans adults (Kuriyama et al., 2011). També s'ha vist que l'administració aguda intra HPC de DCS (1 o 10 µl/hemisferi) millorava els dèficits induïts per l'SCOP en una tasca de MT (Ohno & Watanabe, 1996) i que l'administració sistèmica aguda, però no crònica, de DCS (15 mg/kg) 30 minuts després d'una sessió d'extinció facilitava la mateixa (Mickley et al., 2012). De fet, són diversos els estudis amb rosegadors que han trobat que els efectes beneficiosos de la DCS després d'una dosi única no persistien al perllongar-se (Quartermain et al., 1994), el que suggereix que l'administració crònica de DCS podria conduir a la desensibilització dels NMDAr. Tot i que nosaltres no hem trobat cap evidència d'aquesta desensibilització (Barrós et al., en preparació), serien convenients més estudis que tinguessin en compte aquesta possibilitat. No obstant, en el nostre estudi de MT el fet que les demores fossin presentades de forma semialeatòria, i no gradualment de menys a més durada, permet descartar

parcialment aquest possible efecte de l'administració crònica així com altres aspectes ja mencionats, com el nivell d'estrès.

En definitiva, totes aquestes troballes suggereixen que la potenciació de la neurotransmissió glutamatèrgica pot revertir els dèficits cognitius associats a l'edat o induïts a través de fàrmacs o lesions, però en condicions en les que les funcions cognitives no estan alterades no tindria aquest efecte de potenciació cognitiva. A més, és interessant apuntar que unes dosis més adients podrien haver facilitat de manera més rellevant les tasques emprades fins, i tot, en animals joves.

La DCS intra PLC no produeix efectes sobre la memòria relacional a curt termini

A fi d'avaluar la memòria relacional a curt termini vàrem utilitzar el laberint en Y en una tasca composta per dues fases. En la primera, en la que l'entrada a un dels braços del laberint es trobava blocada, es col·locava l'animal al laberint i se'l deixava deambular lliurement per les zones restants. Després d'un període de 30 minuts es retornava al subjecte al laberint però en aquest cas tots els braços eren accessibles. Les rates són animals curiosos als que els agrada explorar allò nou i per tant s'espera que aquells subjectes que tenen un correcte record de la fase inicial explorin més el braç al que no han estat (Dellu, et al., 1992).

Els nostres resultats ens mostren, però, que la DCS administrada pre-entrenament al CPL no sembla tenir un efecte important sobre aquesta tasca. El fet que en el nostre cas la DCS administrada pre-entrenament en el CPL no tingués un efecte facilitador de la retenció als 30 min podria explicar-se per raons metodològiques. La metodologia emprada en el nostre experiment difereix de l'emprada en estudis similars en aquest mateix laberint o en laberint en T, els quals sí que havien detectat diferències significatives entre individus tractats amb agonistes NMDA o DCS i subjectes control (Hughes, 2004; Grzeda et al., 2007). Mentre que a la nostra investigació bloquejàvem un dels braços en la primera fase de l'experiment per després fer-lo accessible durant

la segona, en altres treballs els investigadors van emprar addicionalment altres mètodes per facilitar la distinció d'ambdós braços del laberint. Així, veiem com en el treball liderat per Hughes (Hughes, 2004) els dos braços del laberint presentaven colors diferents (un negre i l'altre clar) durant la fase d'adquisició, mentre que a la investigació de Grzêda i col·laboradors (Grzeda et al., 2007) empraven menjar per facilitar el discerniment. En el nostre cas, els braços no presentaven cap diferència en la seva apariència i l'única forma de diferenciar-los mitjançant el context era observar el sostre a fi de trobar alguna clau contextual. La dificultat, per tant, era molt elevada i feia difícil que els animals trobéssin diferències en l'ambient.

Una altra possible raó que podria explicar la manca de resultats positius en la prova Y-maze és el fet que degut a que és una tasca relacional implica una dependència hipocampal elevada, mentre que l'administració de la DCS va ser realitzada al CPL. Aquesta mateixa tasca fou utilitzada en el nostre mateix laboratori però utilitzant-se com a habituació per a una prova posterior de reconeixement d'objectes dins del laberint (Rojic-Becker et al., en preparació). En aquest cas, tot i que el tractament proposat era diferent al nostre, els animals van mostrar un millor aprenentatge de la tasca, fet que recolza la idea que la nostra tasca estava incompleta.

L'administració intra-CPL de DCS no té efectes sobre la flexibilitat cognitiva

La flexibilitat cognitiva és l'habilitat per a trobar diferents alternatives a l'hora de d'assolir un resultat i alternar entre diferents criteris d'actuació, els quals poden ser necessaris per respondre a demandes canviants d'una tasca o situació. Aquests tipus de tasques requereixen d'una alta demanda prefrontal. Així, en l'experiment 3 vàrem avaluar la capacitat de la DCS per a potenciar la flexibilitat cognitiva - amb els protocols MTP i DMTP, que es realitzaven un cop superada la fase DMTP. Aquest canvi en les contingències, consistent en reforçar la palanca no reforçada anteriorment i a la inversa, ens va permetre en el cas de la tasca NMTP avaluar la flexibilitat cognitiva, i en el de la DNMT, on novament introduïem demores, analitzar conjuntament MT i flexibilitat cognitiva.

En primer lloc, les nostres dades mostren un clar efecte de l'edat sobre la flexibilitat cognitiva, degut a que els animals vells, independentment del tractament, realitzen una pitjor execució de la tasca. Els animals control d'un i altre grup d'edat mostren uns resultats molt diferents, els quals evidencien l'efecte perjudicial de l'edat per a la flexibilitat cognitiva. L'administració de DCS no altera els resultats ni en animals adults ni en animals vells, fet que no coincideix amb les dades obtingudes en un altre estudi del nostre laboratori on avaluàvem l'efecte de la DCS en l'adquisició, retenció i reversió d'un aprenentatge espacial en el laberint de Morris (Portero-Tresserra et al., 2018). En aquest estudi es va mostrar com l'administració de DCS intra-HCP era capaç de pal·liar els efectes de l'edat en la reversió d'un aprenentatge espacial en el MWM. No obstant, tots els animals vells van passar més temps que els grups d'adults en el quadrant on originàriament hi havia la plataforma, evidenciant que l'edat té un efecte negatiu sobre la capacitat d'adaptar-se als canvis. Cal tenir present, però, que la prova de reversió en la tasca del MWM té una naturalesa diferent a la que hem utilitzat nosaltres, essent en aquell cas més important la contribució de l'HPC. Per tant, aquests resultats no serien totalment comparables amb els nostres. Un altre estudi de reversió però en aquest cas en una tasca en gàbia de condicionament fou dut a terme per George i els seus col·laboradors, on van veure com administracions sistèmiques de DCS milloraven la flexibilitat cognitiva en un model animal d'estrès post-traumàtic però no en rates control (George et al., 2018). Caldria veure doncs si el motiu pel qual no hem obtingut resultats positius en aquesta prova són conseqüència de la múltiple exposició a la DCS i si aquestes administracions diàries han pogut desensibilitzar els receptors (Werner-Seidler & Richardson, 2007; Parnas, Weber, & Richardson, 2005).

Altres experiments han avaluat els efectes de la DCS tasques de flexibilitat que, a més, inclouen una alta demanda atencional. En un estudi de Aoyama et al., 2016 en el qual s'administra DCS a ratolins amb exposició a la nicotina prenatal, els resultats mostraven una facilitació de la flexibilitat cognitiva. Un altre dels experiments en els que s'ha estudiat la flexibilitat cognitiva en una tasca atencional va dur-se a terme en el nostre propi laboratori, a través d'una tasca de

discriminació visual atencional. A la primera fase de l'experiment s'associava una palanca acompanyada d'un estímul lluminós de curta durada (500ms) al reforç, i a la segona fase es reforçava la palanca que no anava acompanyada d'estímul lluminós. En aquesta tasca es va veure que l'administració de DCS al CPL de rates amb injeccions de muscimol al PFn era capaç de pal·liar parcialment, però no revertir del tot, els dèficits de flexibilitat cognitiva provocats per la inactivació talàmica (Barrós-Millàs et al., En preparació).

Les dades de la present tesi complementen, doncs, dades precedents, i evidencien l'efecte negatiu del procés d'envelliment sobre la flexibilitat cognitiva, si bé es requereix de més investigació a fi de conèixer en quins casos la DCS pot revertir els efectes del envelliment.

L'administració intra-CPL de DCS produeix lleugers efectes potenciadors de la memòria a llarg termini en animals envellits

En l'experiment 3 també vam avaluar els efectes de la DCS administrada al CPL sobre una tasca de respostes alternes, dependent del CPF, que implica un cert grau de demanda atencional. La tasca constava de dues fases, la d'adquisició i el test de memòria al cap de set dies de completar l'adquisició.

Durant la fase d'adquisició de la tasca no es detecten diferències entre els grups. Tot i el possible efecte deteriorant de l'aprenentatge de tasques dependents de CPF fruit del procés d'envelliment, tots els grups mostren una execució superior al nivell d'atzar, el que indica que tots els grups d'animals han assolit l'aprenentatge d'aquest paradigma.

Pel que fa al test de memòria, els animals vells que van rebre l'administració diària de DCS no van mostrar diferències significatives en l'execució de resposta respecte els grups d'animals adults, fet que indica una facilitació del record o l'expressió de la memòria d'aquesta tasca. En canvi, els animals control d'edat avançada van presentar una execució significativament pitjor que la dels grups control d'animals adults.

El fet que no es mostressin efectes de la DCS en l'adquisició podria raure en la naturalesa de la tasca, ja que el CPF podria participar de manera més crítica en

una tasca amb més exigència cognitiva (Winocur & Moscovitch, 1999). A més a més, un aspecte a tenir en compte és que en aquest experiment es van dur a terme quatre tasques diferents en les mateixes gàbies de condicionament. Tot i que l'adquisició de la tasca fos senzilla respecte a algunes de les anteriors, el fet que el test fos al cap d'una setmana i en una única sessió de 30 minuts, juntament amb la possible interferència de la resta de tasques dutes a terme, podria haver afectat els resultats d'aquest test.

Els agonistes del glutamat com a potenciadors cognitius

Amb els resultats obtinguts en el present projecte aportem coneixement sobre tractaments susceptibles de millorar en un futur la qualitat de vida dels pacients amb disfunció cognitiva per patologia cerebral o associada a l'envelliment. Les dades aporten coneixement sobre l'especificitat d'aquests tractaments, els quals no semblen generalitzables tot i afectar sistemes de neurotransmissió crítics en funcions cognitives i amb àmplia distribució en les diferents regions corticals.

Els principals resultats obtinguts en el cas de la S18986 mostren un efecte de reversió dels dèficits produïts per l'administració d'SCOP al CPL i per la inactivació del PFn per l'administració de muscimol. Aquests efectes de reversió es manifesten en una reducció de les latències i els errors en la tasca DSO, però no en la TSPA.

Pel que fa als efectes de l'administració de DCS, l'administració pre-entrenament intracerebral en la CPF és capaç de facilitar processos de memòria de treball en animals amb dèficit cognitiu com a conseqüència del deteriorament cognitiu associat a l'envelliment. Així mateix, l'administració de DCS ha facilitat també altres aprenentatges com per exemple el test de memòria a llarg termini en la prova de respostes alternes, facilitant el record dels animals vells fins a igualar-los als animals joves. Per tant, les dades presents recolzen l'evidència acumulada a favor de l'ús dels agonistes del lloc d'unió de la glicina (Jansen & Dannhardt, 2003) com a tractaments potencials

per a mitigar l'alteració de la memòria que es manifesta en l'envelliment normal i en les malalties neurodegeneratives.

Tot i això, els resultats obtinguts i els de la literatura no concorden en tots els aspectes, per tant seria convenient poder replicar alguns d'aquests experiments així com afegir estudis addicionals els quals ens permetin esbrinar quin és exactament el perfil agonista de la DCS, en quins casos pot exercir un efecte potenciador, per a quin tipus de memòria, etcetera. Especialment important per pel que fa als estudis relacionats amb l'ampaquina S18986 de la qual encara en desconeixem més i es disposa de menys estudis publicats.

V. CONCLUSIONS

- 1- Les infusions pre-entrenament d'S18986, un modulador positiu dels AMPAr, al CPL faciliten l'adquisició de la DSO al disminuir el nombre d'errors realitzats.
- 2- L'administració post-entrenament d'SCOP al CPL impedeix la retenció de la DSO en un test realitzat 24 hores després de la sessió d'adquisició.
- 3- L'administració d'SCOP al CPL podria tenir un cert efecte ansiolític, facilitant una major distància recorreguda en la zona central del camp obert.
- 4- L'administració pre-entrenament bilateral d'S18986 i/o SCOP al CPL o muscimol al PFn, no té efecte sobre la percepció olfactiva dels animals.
- 5- La injecció bilateral d' S18986 al CPL no té un efecte sobre la motricitat dels subjectes ni sobre els seus nivells d'ansietat.
- 6- La inactivació temporal del nucli PF, per l'administració pre-entrenament de muscimol, empitjora significativament la latència de resposta en l'adquisició de la tasca de DSO respecte als animals amb infusió de S18986. A més, s'observa una tendència a la significació estadística entre el grup muscimol i el grup CONTROL. S'han trobat efectes moderats de la reversió dels dèficits induïts per l'SCOP i per muscimol en la tasca DSO. S'observa una disminució en les latències dels animals les quals no es diferencien del grup CONTROL.
- 7- Possibles problemes metodològics impedeixen avaluar correctament els efectes de l'S18986 sobre la memòria relacional avaluada amb la tasca TSPA.
- 8- L'administració pre-entrenament bilateral de DCS, un agonista parcial dels NMDAr al CPL millora la memòria de treball en animals envellits, donant suport a la hipòtesi que la modulació dels receptors NMDA pot revertir alteracions cognitives associades al procés natural d'envelliment,
- 9- L'administració pre-entrenament bilateral de DCS al CPL d'animals adults sans no té cap efecte sobre l'execució de tasques de MT.
- 10- L'envelliment dificulta la flexibilitat cognitiva mesurada en una tasca de reversió de la resposta NMTP/DNMTP. La infusió bilateral pre-

entrenament de DCS al CPL no és capaç de revertir el dèficit de flexibilitat cognitiva observat en els animals envellits.

- 11- Les administracions pre-entrenament bilaterals de DCS al CPL tenen un lleuger efecte de reversió dels dèficits de memòria a llarg termini, derivats del procés l'envelliment, d'una tasca de resposta alterna.
- 12- L'administració bilateral pre-entrenament de DCS no ha facilitat ni l'adquisició ni el record de la tasca de memòria a curt termini avaluada en laberint en Y.

REFERÈNCIES

- Ainge, J. A., van der Meer, M. A. A., Langston, R. F., & Wood, E. R. (2007). Exploring the Role of Context-Dependent Hippocampal Activity in Spatial Alternation Behavior. *Hippocampus*, 17(10), 1026–1031. <https://doi.org/10.1002/hipo>
- Alvarez, P., Lipton, P. a, Melrose, R., & Eichenbaum, H. (2001). Differential effects of damage within the hippocampal region on memory for a natural, nonspatial Odor-Odor Association. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 8(2), 79–86. <https://doi.org/10.1101/lm.38201>
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1995). The three-dimensional organization of the hippocampal

- formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571–591. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7)
- Arai, A. C. (2002). Benzamide-Type AMPA Receptor Modulators Form Two Subfamilies with Distinct Modes of Action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303(3), 1075–1085. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.040360>
- Arai, A., & Kessler, M. (2007). Pharmacology of Ampakine Modulators: From AMPA Receptors to Synapses and Behavior. *Current Drug Targets*, 8(5), 583–602. <https://doi.org/10.2174/138945007780618490>
- Arnsten, A. F. T., & Goldman-Rakic, P. S. (1984). Selective prefrontal cortical projections to the region of the locus coeruleus and raphe nuclei in the rhesus monkey. *Brain Research*, 306(1–2), 9–18. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90351-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90351-2)
- Atri, A., Norman, K. A., Nicolas, M. M., Cramer, S. C., Hasselmo, M. E., Sherman, S., ... Stern, C. E. (2004). Blockade of Central Cholinergic Receptors Impairs New Learning and Increases Proactive Interference in a Word Paired-Associate Memory Task. *Behavioral Neuroscience*, 118(1), 223–236. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.1.223>
- Auger, M. L., & Floresco, S. B. (2017). Prefrontal cortical GABAergic and NMDA glutamatergic regulation of delayed responding. *Neuropharmacology*, 113, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.022>
- Bado, P., Madeira, C., Vargas-Lopes, C., Moulin, T. C., Wasilewska-Sampaio, A. P., Maretti, L., ... Panizzutti, R. (2011). Effects of low-dose d-serine on recognition and working memory in mice. *Psychopharmacology*, 218(3), 461–470. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2330-4>
- Bailey, K. R., & Mair, R. G. (2005). Lesions of specific and nonspecific thalamic nuclei affect prefrontal cortex-dependent aspects of spatial working memory. *Behavioral Neuroscience*, 119(2), 410–419. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.119.2.410>
- Bañuelos, C., LaSarge, C. L., McQuail, J. A., Hartman, J. J., Gilbert, R. J., Ormerod, B. K., & Bizon, J. L. (2013). Age-related changes in rostral basal forebrain cholinergic and GABAergic projection neurons: Relationship with spatial impairment. *Neurobiology of Aging*, 34(3), 845–862. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.06.013>
- Barkai, E., Bergman, R. E., Horwitz, G., & Hasselmo, M. E. (1994). Modulation of associative memory function in a biophysical simulation of rat piriform cortex. *Journal of Neurophysiology*, 72(2), 659–677. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.659>
- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(1), 74–104. <https://doi.org/10.1037/h0077579>
- Bartus, R., Dean, R., Beer, B., & Lippa, A. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), 408–414. <https://doi.org/10.1126/science.7046051>
- Basar-Eroglu, C., Brand, A., Hildebrandt, H., Karolina Kedzior, K., Mathes, B., & Schmiedt, C. (2007). Working memory related gamma oscillations in schizophrenia patients.

- International Journal of Psychophysiology*, 64(1), 39–45.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2006.07.007>
- Beas, B. S., Setlow, B., & Bizon, J. L. (2013). Distinct manifestations of executive dysfunction in aged rats. *Neurobiology of Aging*, 34(9), 2164–2174.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.03.019>
- Benes, F. M., & Berretta, S. (2001). GABAergic interneurons: Implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, 25(1), 1–27.
[https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00225-1](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00225-1)
- Béracochéa, D., Philippin, J. N., Meunier, S., Morain, P., & Bernard, K. (2007). Improvement of episodic contextual memory by S 18986 in middle-aged mice: comparison with donepezil. *Psychopharmacology*, 193(1), 63–73. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0765-4>
- Berendse, H. W., & Groenewegen, H. J. (1991). Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience*, 42(1), 73–102.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90151-D](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90151-D)
- Berger-Sweeney, J., Stearns, N. A., Frick, K. M., Beard, B., & Baxter, M. G. (2000). Cholinergic basal forebrain is critical for social transmission of food preferences. *Hippocampus*, 10(6), 729–738. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:6<729::AID-HIPO1010>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:6<729::AID-HIPO1010>3.0.CO;2-M)
- Berger, A. J., Dieudonné, S., & Ascher, P. (1998). Glycine Uptake Governs Glycine Site Occupancy at NMDA Receptors of Excitatory Synapses. *Journal of Neurophysiology*, 80(6), 3336–3340. <https://doi.org/10.1152/jn.1998.80.6.3336>
- Bernard, K., Danober, L., Thomas, J. Y., Lebrun, C., Muñoz, C., Cordi, A., ... Morain, P. (2010). S 18986: A positive allosteric modulator of AMPA-type glutamate receptors pharmacological profile of a novel cognitive enhancer. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 16(5), 193–212. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2009.00088.x>
- Bertaina-Anglade, V., la Rochelle, C. D., Muñoz, C., Morain, P., & Bernard, K. (2007). Comparison of single vs. multiple administrations of the AMPA receptors modulator S 18986 in the object recognition task in rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21(4), 349–354. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00487.x>
- Bhattacharya, S. K., & Sen, A. P. (1991). Effects of muscarinic receptor agonists and antagonists on dopamine-mediated behavioural paradigms. *Journal of Neural Transmission*, 84(3), 241–246. <https://doi.org/10.1007/BF01244975>
- Birrell, J., & V.J. Brown. (1995). Medial Frontal Cortex Mediates Perceptual Attentional Set Shifting in the Rat. *American Journal of Medicine*, 98(4), 63S–68S.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(99\)80046-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)80046-1)
- Bizon, J. L., LaSarge, C. L., Montgomery, K. S., McDermott, A. N., Setlow, B., & Griffith, W. H. (2009). Spatial reference and working memory across the lifespan of male Fischer 344 rats. *Neurobiology of Aging*, 30(4), 646–655.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2007.08.004>
- Björklund, A., & Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.006>

- Blokland, A., Şik, A., & Van Der Staay, F. J. (2004). Delayed non-matching to position performance in aged hybrid Fischer 344 × Brown Norway rats: A longitudinal study. *Brain Research Bulletin*, *64*(1), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2004.04.017>
- Bloss, E. B., Hunter, R. G., Waters, E. M., Munoz, C., Bernard, K., & McEwen, B. S. (2008). Behavioral and biological effects of chronic S18986, a positive AMPA receptor modulator, during aging. *Experimental Neurology*, *210*(1), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.10.007>
- Bloss, E. B., Puri, R., Yuk, F., Punsoni, M., Hara, Y., Janssen, W. G., ... Morrison, J. H. (2013). Morphological and molecular changes in aging rat prelimbic prefrontal cortical synapses. *Neurobiology of Aging*, *34*(1), 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.014>
- Blough, D. S. (1959). Delayed matching in the pigeon. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, *2*(2), 151–160. <https://doi.org/10.1901/jeab.1959.2-151>
- Boix-Trelis, N., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat prelimbic cortex impairs the social transmission of food preference. *Neurobiology of Learning and Memory*, *87*(4), 659–668. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.12.003>
- Braitenberg, V. and Schüz, A. *Cortex: Statistics and Geometry of Neuronal Connectivity*, 2nd edn. Berlin, Springer, 1998.
- Brown, H. D., Baker, P. M., & Ragozzino, M. E. (2010). The Parafascicular Thalamic Nucleus Concomitantly Influences Behavioral Flexibility and Dorsomedial Striatal Acetylcholine Output in Rats. *Journal of Neuroscience*, *30*(43), 14390–14398. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2167-10.2010>
- Buckner, R. L. (2004). Memory and Executive Function in Aging and AD. *Neuron*, *44*(1), 195–208. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.006>
- Bunsey, M., & Eichenbaum, H. (1995). Selective damage to the hippocampal region blocks long-term retention of a natural and nonspatial stimulus-stimulus association. *Hippocampus*, *5*(6), 546–556. <https://doi.org/10.1002/hipo.450050606>
- Burk, J. A., & Mair, R. G. (2001). Effects of intralaminar thalamic lesions on sensory attention and motor intention in the rat: A comparison with lesions involving frontal cortex and hippocampus. *Behavioural Brain Research*, *123*(1), 49–63. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00202-9](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00202-9)
- Buzsáki, G., & Wang, X. (2012). Mechanisms of Gamma Oscillations. *Annu Rev Neurosci*. *2012*; *35*: 203–225, *35*, 203–225. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>.doi
- Carballo-Márquez, A., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., & Martí-Nicolovius, M. (2009). Muscarinic receptor blockade in ventral hippocampus and prelimbic cortex impairs memory for socially transmitted food preference. *Hippocampus*, *19*(5), 446–455. <https://doi.org/10.1002/hipo.20530>
- Carballo-Márquez, A., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Torras-Garcia, M., Boix-Trelis, N., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Differential effects of muscarinic receptor blockade in

- prelimbic cortex on acquisition and memory formation of an odor-reward task. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 14(9), 616–624. <https://doi.org/10.1101/lm.597507>
- Carr, D. B., & Sesack, S. R. (2000). Projections from the Rat Prefrontal Cortex to the Ventral Tegmental Area: Target Specificity in the Synaptic Associations with Mesoaccumbens and Mesocortical Neurons, 20(10), 3864–3873.
- Castellano, C., Cestari, V., & Ciamei, A. (2005). NMDA Receptors and Learning and Memory Processes. *Current Drug Targets*, 2(3), 273–283. <https://doi.org/10.2174/1389450013348515>
- Castillo, P. E., Carleton, A., Vincent, J.-D., & Lledo, P.-M. (1999). Multiple and Opposing Roles of Cholinergic Transmission in the Main Olfactory Bulb. *The Journal of Neuroscience*, 19(21), 9180–9191. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-21-09180.1999>
- Cesaro, P., Nguyen-Legros, J., Pollin, B., & Laplante, S. (1985). Single intralaminar thalamic neurons project to cerebral cortex, striatum and nucleus reticularis thalami. A retrograde anatomical tracing study in the rat. *Brain Research*, 325(1–2), 29–37. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90299-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90299-9)
- Chafee, M. V., & Goldman-Rakic, P. S. (1998). Matching patterns of activity in primate prefrontal area 8a and parietal area 7ip neurons during a spatial working memory task. *Journal of Neurophysiology*, 79(6), 2919–2940. <https://doi.org/10.1152/jn.1998.79.6.2919>
- Child, N. D., & Benarroch, E. E. (2013). Anterior nucleus of the thalamus: Functional organization and clinical implications. *Neurology*, 81(21), 1869–1876. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000436078.95856.56>
- Cho, R. Y., Konecky, R. O., & Carter, C. S. (2006). Impairments in frontal cortical synchrony and cognitive control in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(52), 19878–19883. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609440103>
- Chudasama, Y., & Muir, J. L. (1997). A behavioural analysis of the delayed non matching to position task: The effects of scopolamine, lesions of the fornix and of the prefrontal region on mediating behaviours by rats. *Psychopharmacology*, 134(1), 73–82. <https://doi.org/10.1007/s002130050427>
- Clark, A. S., Magnusson, K. R., & Cotman, C. W. (1992). In Vitro Autoradiography of Hippocampal Excitatory Amino Acid Binding in Aged Fischer 344 Rats: Relationship to Performance on the Morris Water Maze. *Behavioral Neuroscience*, 106(2), 324–335. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.106.2.324>
- Collingridge, G. L., & Singer, W. (1990). Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 11(7), 290–296. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(90\)90011-V](https://doi.org/10.1016/0165-6147(90)90011-V)
- Countryman, R. A., & Gold, P. E. (2007). Rapid forgetting of social transmission of food preferences in aged rats: Relationship to hippocampal CREB activation. *Learning & Memory*, 14(5), 350–358. <https://doi.org/10.1101/lm.524907>
- Coyle, J. T., Tsai, G., and Goff, D. C. (2002). Ionotropic glutamate receptors as therapeutic targets in schizophrenia. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 1:183 189

- D. Dumitriu, Hao, J., Hara, Y., Kaufmann, J., Janssen, W. G. M., Lou, W., Morrison, J. H. (2010). Selective changes in thin spine density and morphology in monkey prefrontal cortex correlate with aging-related cognitive impairment. *Journal of Neuroscience*, *30*(22), 7505–7515. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *28*(7), 771–784. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>
- Danbolt, N. C., Furness, D. N., & Zhou, Y. (2016). Neuronal vs glial glutamate uptake: Resolving the conundrum. *Neurochemistry International*, *98*, 29–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.05.009>
- Daniel, S. E., & Hawkes, C. H. (1992). Preliminary diagnosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 186–186.
- De Rosa, E., & Hasselmo, M. E. (2000). Muscarinic cholinergic neuromodulation reduces proactive interference between stored odor memories during associative learning in rats. *Behavioral Neuroscience*, *114*(1), 32–41. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.114.1.32>
- DeFelipe, J., Arellano, J. I., Gómez, A., Azmitia, E. C., & Muñoz, A. (2001). Pyramidal cell axons show a local specialization for GABA and 5-HT inputs in monkey and human cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*, *433*(1), 148–155. <https://doi.org/10.1002/cne.1132>
- DeFelipe, J., & Fariñas, I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: Morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Progress in Neurobiology*, *39*(6), 563–607. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(92\)90015-7](https://doi.org/10.1016/0301-0082(92)90015-7)
- Dellu, F., Mayo, W., Cherkaoui, J., Le Moal, M., & Simon, H. (1992). A two-trial memory task with automated recording: study in young and aged rats. *Brain Research*, *588*(1), 132–139. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91352-F](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91352-F)
- Deschênes, M. (1996). A single-cell study of the axonal projections arising from the posterior intralaminar thalamic nuclei in the rat. *European Journal of Neuroscience*, *8*(2), 329–343. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01217.x>
- De Vito G, Riva MA, Meroni R, Cesana GC (2010). Ageing and work: technical standards. *G Ital Med Lav Ergon*. Oct-Dec;32(4 Suppl):145.
- Dias R., T.W., R., & A.C., R. (1996). Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts.
- Dicou, E., Rangon, C., Guimiot, F., Spedding, M., Gressens, P., & Debre, R. (2003). Short communication P ositive allosteric modulators of AMPA receptors are neuroprotective against lesions induced by an NMDA agonist in neonatal mouse brain, *970*, 221–225.
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*, *51*(1), 7–61.
- Donoghue, J. P., & Wise, S. P. (1982). The motor cortex of the rat: Cytoarchitecture and microstimulation mapping. *The Journal of Comparative Neurology*, *212*(1), 76–88.

- <https://doi.org/10.1002/cne.902120106>
- Doty, R. L., Bagla, R., & Kim, N. (1998). Physostigmine enhances performance on an odor mixture discrimination test. *Physiology and Behavior*, 65(4–5), 801–804. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(98\)00238-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(98)00238-8)
- Doty, R. L., Shaman, P., Applebaum, S. L., Giberson, R., Siksorski, L., & Rosenberg, L. (1984). Smell identification ability: Changes with age. *Science*, 226(4681), 1441–1443. <https://doi.org/10.1126/science.6505700>
- Doty RL, Reyes PF, G. T. (1987). Presence of both odor an detection deficits in Alzheimer´s disease. *Brain Research Bulletin*, 18(5), 597–600. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3607528>
- Doyère, V., Burette, F., Rédini-Del Negro, C., & Laroche, S. (1993). Long-term potentiation of hippocampal afferents and efferents to prefrontal cortex: Implications for associative learning. *Neuropsychologia*, 31(10), 1031–1053. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(93\)90031-T](https://doi.org/10.1016/0028-3932(93)90031-T)
- Dudchenko, P. A., Talpos, J., Young, J., & Baxter, M. G. (2013). Animal models of working memory: A review of tasks that might be used in screening drug treatments for the memory impairments found in schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(9), 2111–2124. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.03.003>
- Duffy, C. J., & Wurtz, R. H. (1991). Sensitivity of MST neurons to optic flow stimuli. II. Mechanisms of response selectivity revealed by small-field stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 65(6), 1346–1359. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.6.1346>
- Dunnett, S. B. (1985). Comparative effects of cholinergic drugs and lesions of nucleus basalis or fimbria-fornix on delayed matching in rats. *Psychopharmacology*, 87(3), 357–363. <https://doi.org/10.1007/BF00432721>
- Dunnett, S. B., Rogers, D. C., & Jones, G. H. (1989). Effects of Nucleus Basalis Magnocellularis Lesions in Rats on Delayed Matching and Non-Matching to Position Tasks: Disruption of Conditional Discrimination Learning But Not of Short-Term Memory. *European Journal of Neuroscience*, 1(4), 395–406. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1989.tb00804.x>
- Dunnett, S. B., Wareham, A. T., & Torres, E. M. (1990). Cholinergic blockade in prefrontal cortex and hippocampus disrupts short-term memory in rats. *NeuroReport*. <https://doi.org/10.1097/00001756-199009000-00017>
- Ebert, U., & Kirch, W. (1998). Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *European Journal of Clinical Investigation*, 28(11), 944–949. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9824440>
- Eden, J. I. C. D. Bruin, M. A. Comer, & M. G. I. Feen-stra (Eds.), *The prefrontal cortex: Its structure, function and pathology (progress in brain research, Vol. 85)* (p. 31-62). Amsterdam
- Elaagouby, A., & Gervais, R. (1992). ACh-induced long-lasting enhancement in excitability of the olfactory bulb. *NeuroReport*, 3, 10–12.
- Esiri, M. M. (2007). Ageing and the brain. *Journal of Pathology*, 211(2), 181–187. <https://doi.org/10.1002/path.2089>

- Felten, D. L., & Sladek, J. R. (1983). Monoamine distribution in primate brain V. Monoaminergic nuclei: Anatomy, pathways and local organization. *Brain Research Bulletin*, *10*(2), 253–254. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(83\)90045-X](https://doi.org/10.1016/0361-9230(83)90045-X)
- Fletcher, M., & Wilson, D. A. (2001). Ontogeny of odor discrimination: A method to assess novel odor discrimination in neonatal rats. *Physiology and Behavior*, *74*(4–5), 589–593. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(01\)00602-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(01)00602-3)
- Flood, J. F., & Cherkin, A. (1986). Scopolamine effects on memory retention in mice: A model of dementia? *Behavioral and Neural Biology*, *45*(2), 169–184. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(86\)90750-8](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(86)90750-8)
- Floresco, S. B., Seamans, J. K., & Phillips, A. G. (1997). Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *17*(5), 1880–1890. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9030646>
- Forsyth, J. K., Bachman, P., Mathalon, D. H., Roach, B. J., & Asarnow, R. F. (2015). Augmenting NMDA receptor signaling boosts experience-dependent neuroplasticity in the adult human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(50), 15331–15336. <https://doi.org/10.1073/pnas.1509262112>
- Forsyth, J. K., Bachman, P., Mathalon, D. H., Roach, B. J., Ye, E., & Asarnow, R. F. (2017). Effects of augmenting N-Methyl-D-aspartate receptor signaling on working memory and experience-dependent plasticity in schizophrenia: An exploratory study using acute d-cycloserine. *Schizophrenia Bulletin*, *43*(5), 1123–1133. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw193>
- Furth, K. E., Mastwal, S., Wang, K. H., Buonanno, A., & Vullhorst, D. (2013). Dopamine, cognitive function, and gamma oscillations: role of D4 receptors. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *7*(July), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00102>
- Fuster JM (1997). The prefrontal cortex. Anatomy, physiology and neuropsychology of the frontal lobe. Lipincott-Raven, Philadelphia-New York.
- Fuster, J. M. (2001). The Prefrontal Cortex—An Update. *Neuron*, *30*(2), 319–333. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00285-9)
- Fuster, J. M. (2009). Cortex and Memory: Emergence of a New Paradigm. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *21*(11), 2047–2072. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21280>
- Gabbott, P. L. A., Warner, T. A., Jays, P. R. L., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *Journal of Comparative Neurology*, *492*(2), 145–177. <https://doi.org/10.1002/cne.20738>
- Galef & Wigmore. (1983). Transfer of information concerning distant foods: a laboratory investigation of the “Information-center” hypothesis.
- Galef, B. G., Mason, J. R., Preti, G., & Bean, N. J. (1988). Carbon disulfide: A semiochemical mediating socially-induced diet choice in rats. *Physiology and Behavior*, *42*(2), 119–124. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(88\)90285-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(88)90285-5)
- Galvan, A., & Smith, Y. (2011). The primate thalamostriatal systems: Anatomical organization,

- functional roles and possible involvement in Parkinson's disease. *Basal Ganglia*, 1(4), 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.baga.2011.09.001>
- Gaykema, R. P. A., Van Weeghel, R., Hersh, L. B., & Luiten, P. G. M. (1991). Prefrontal cortical projections to the cholinergic neurons in the basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, 303(4), 563–583. <https://doi.org/10.1002/cne.903030405>
- George, S. A., Rodriguez-Santiago, M., Riley, J., Abelson, J. L., Floresco, S. B., & Liberzon, I. (2018). D-Cycloserine Facilitates Reversal in an Animal Model of Post-traumatic Stress Disorder. *Behavioural Brain Research*, 347, 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.03.037>
- Georgiev, D., Taniura, H., Kambe, Y., Takarada, T., & Yoneda, Y. (2008). A critical importance of polyamine site in NMDA receptors for neurite outgrowth and fasciculation at early stages of P19 neuronal differentiation. *Experimental Cell Research*, 314(14), 2603–2617. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.06.009>
- Giezenaar, C., Chapman, I., Luscombe-Marsh, N., Feinle-Bisset, C., Horowitz, M., & Soenen, S. (2016). Ageing is associated with decreases in appetite and energy intake— A meta-analysis in healthy adults. *Nutrients*, 8(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu8010028>
- Gilmartin, M. R., & Helmstetter, F. J. (2010). Trace and contextual fear conditioning require neural activity and cortex Trace and contextual fear conditioning require neural activity and NMDA receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex. *Learning & Memory*, 289–296. <https://doi.org/10.1101/lm.1597410>
- Goff, D. C. (2012). D-cycloserine: An evolving role in learning and neuroplasticity in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 38(5), 936–941. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs012>
- Gold, P. E. (2003). Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 194–210. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2003.07.003>
- Goldman-Rakic, P. . (1995). Cellular basis of working memory. *Neuron*, 14(3), 477–485. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90304-6](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90304-6)
- Goldman-Rakic, P. S., Selemon, L. D., & Schwartz, M. L. (1984). Dual pathways connecting the dorsolateral prefrontal cortex with the hippocampal formation and parahippocampal cortex in the rhesus monkey. *Neuroscience*, 12(3). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90166-0)
- Goldman, P. S., & Rosvold, H. E. (1970). Localization of function within the dorsolateral prefrontal cortex of the rhesus monkey. *Experimental Neurology*, 27(2), 291–304. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(70\)90222-0](https://doi.org/10.1016/0014-4886(70)90222-0)
- Gomez-Isla, T. (1997). Neurond Loss Correlates with but Exceeds Newofibriary T a n g l e s in Alzheimer's Disease. *Annals of Neurology*, 41(1), 17–24.
- Gonzalez-Burgos, G., & Lewis, D. A. (2012). NMDA receptor hypofunction, parvalbumin-positive neurons, and cortical gamma oscillations in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 38(5), 950–957. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs010>
- Good, C. D., Johnsrude, I. S., Ashburner, J., Henson, R. N. A., Friston, K. J., & Frackowiak, R.

- S. J. (2001). A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *NeuroImage*, *14*(1 I), 21–36. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0786>
- Grady, C. L. (2008). Cognitive neuroscience of aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1124*, 127–144. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.009>
- Green, A., Ellis, K. A., Ellis, J., Bartholomeusz, C. F., Ilic, S., Croft, R. J., ... Nathan, P. J. (2005). Muscarinic and nicotinic receptor modulation of object and spatial n-back working memory in humans. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *81*(3), 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.04.010>
- Groenewegen, H. J., & Uylings, H. B. M. (2000). The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. In *Progress in Brain Research* (Vol. 126, pp. 3–28). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26003-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26003-2)
- Grzeda, E., Wiśniewska, R. J., & Wiśniewski, K. (2007). Effect of an NMDA receptor agonist on T-maze and passive avoidance test in 12-week streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacological Reports*, *59*(6), 656–663.
- Gu, Q. (2002). Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. *Neuroscience*, *111*(4), 815–835. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00026-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00026-X)
- Guidi, M., Kumar, A., & Foster, T. C. (2015). Impaired Attention and Synaptic Senescence of the Prefrontal Cortex Involves Redox Regulation of NMDA Receptors. *Journal of Neuroscience*, *35*(9), 3966–3977. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3523-14.2015>
- Guillazo-Blanch, G., Vale-Martinez, A., Marti-Nicolovius, M., & Morgado-Bernal, I. (1995). Facilitatory and detrimental effects of parafascicular electrical stimulation upon two-way active avoidance conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *63*(3), 209–212. <https://doi.org/10.1006/nlme.1995.1023>
- Halliday, G. M. (2009). Thalamic changes in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, *15*(SUPPL. 3), S152–S155. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(09\)70804-1](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(09)70804-1)
- Hampson, R. E., Rogers, G., Lynch, G., & Deadwyler, S. A. (1998). Facilitative Effects of the Ampakine CX516 on Short-Term Memory in Rats: Correlations with Hippocampal Neuronal Activity. *The Journal of Neuroscience*, *18*(7), 2748–2763. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-07-02748.1998>
- Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, *16*(6), 710–715. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.09.002>
- Hasselmo, M. E., & Bower, J. M. (1992). Cholinergic suppression specific to intrinsic not afferent fiber synapses in rat piriform (olfactory) cortex. *Journal of Neurophysiology*, *67*(5), 1222–1229. <https://doi.org/10.1152/jn.1992.67.5.1222>
- Haul, S., Gödecke, A., Schrader, J., Haas, H. L., & Luhmann, H. J. (2017). Impairment of Neocortical Long-Term Potentiation in Mice Deficient of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Journal of Neurophysiology*, *81*(2), 494–497. <https://doi.org/10.1152/jn.1999.81.2.494>
- Heinsen, H., Rüb, U., Gangnus, D., Jungkunz, G., Bauer, M., Ulmar, G., ... Strik, M. (1996). Nerve cell loss in the thalamic centromedian-parafascicular complex in patients with

- Huntington's disease. *Acta Neuropathologica*, 91(2), 161–168.
<https://doi.org/10.1007/s004010050408>
- Hökfelt, T., Ljungdahl, Å., Fuxe, K., & Johansson, O. (1974). Dopamine nerve terminals in the rat limbic cortex: Aspects of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Science*, 184(4133), 177–179. <https://doi.org/10.1126/science.184.4133.177>
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2007). NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Effects on Prefrontal Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(43), 11496–11500. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2213-07.2007>
- Hong, L. E., Summerfelt, A., McMahon, R. P., Thaker, G. K., & Buchanan, R. W. (2004). Gamma/beta oscillation and sensory gating deficit in schizophrenia. *Neuroreport*, 15(1), 155–159. <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000103271.9121>
- Hood, W. F., Compton, R. P., & Monahan, J. B. (1989). d-Cycloserine: A ligand for the coupled glycine receptor has partial agonist characteristics. *Neuroscience Letters*, 98(1), 91–95. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90379-0](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90379-0)
- Howard, M. W., Rizzuto, D. S., Caplan, J. B., Madsen, J. R., Lisman, J., Aschenbrenner-Scheibe, R., ... Kahana, M. J. (2003). Gamma Oscillations Correlate with Working Memory Load in Humans. *Cerebral Cortex*, 13(12), 1369–1374. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhg084>
- Hsu, D. T., & Price, J. L. (2007). Midline and intralaminar thalamic connections with the orbital and medial prefrontal networks in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*, 504(2), 89–111. <https://doi.org/10.1002/cne.21440>
- Hubbard, B. M., & Anderson, J. M. (1981). Age, senile dementia and ventricular enlargement. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 44(7), 631–635. <https://doi.org/10.1136/jnnp.44.7.631>
- Hughes, R. N. (2004). Responsiveness to brightness change in male and female rats following treatment with the partial agonist of the N-methyl-D-aspartate receptor, D-cycloserine. *Behavioural Brain Research*, 152(2), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.028>
- Hull, C., Isaacson, J. S., & Scanziani, M. (2009). Postsynaptic Mechanisms Govern the Differential Excitation of Cortical Neurons by Thalamic Inputs. *Journal of Neuroscience*, 29(28), 9127–9136. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5971-08.2009>
- Hunter, A. J., & Murray, T. K. (1989). Psychopharmacology Cholinergic mechanisms in a simple test of olfactory learning in the rat. *Control*, 270–275.
- Irle, E., Kessler, J., Markowitsch, H. J., & Hofmann, W. (1987). Primate learning tasks reveal strong impairments in patients with presenile or senile dementia of the Alzheimer type. *Brain and Cognition*, 6(4), 429–449. [https://doi.org/10.1016/0278-2626\(87\)90138-2](https://doi.org/10.1016/0278-2626(87)90138-2)
- Izaks, G. J., & Westendorp, R. G. J. (2003). Ill or just old? Towards a conceptual framework of the relation between ageing and disease. *BMC Geriatrics*, 3, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2318-3-7>
- Jacobson, L., Zhang, R., Elliffe, D., Chen, K. F., Mathai, S., McCarthy, D., ... Guan, J. (2008). Correlation of cellular changes and spatial memory during aging in rats. *Experimental*

- Gerontology*, 43(10), 929–938. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.08.002>
- Jafari-Sabet, M. (2006). NMDA receptor antagonists antagonize the facilitatory effects of post-training intra-basolateral amygdala NMDA and physostigmine on passive avoidance learning. *European Journal of Pharmacology*, 529(1–3), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.10.034>
- Jansen, M., & Dannhardt, G. (2003). Antagonists and agonists at the glycine site of the NMDA receptor for therapeutic interventions. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38, 661–670.
- Jarrard, L. E., Davidson, T. L., & Bowering, B. (2004). Functional differentiation within the medial temporal lobe in the rat. *Hippocampus*, 14(4), 434–449. <https://doi.org/10.1002/hipo.10194>
- Jay, T. M., Burette, F., & Laroche, S. (1996). Plasticity of the hippocampal-prefrontal cortex synapses. *Journal of Physiology Paris*, 90(5–6), 361–366. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(97\)87920-X](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(97)87920-X)
- Jernigan, T. L., Archibald, S. L., Fennema-Notestine, C., Gamst, A. C., Stout, J. C., Bonner, J., & Hesselink, J. R. (2001). Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiology of Aging*, 22(4), 581–594. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(01\)00217-2](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(01)00217-2)
- Jones, M. (2002). A Comparative Review of Rodent Prefrontal Cortex and Working Memory. *Current Molecular Medicine*, 2(7), 639–647. <https://doi.org/10.2174/1566524023361989>
- José Gerardo Carrillo Arriaga, Luis Cavazos Guzmán. Historia y evolución de la medicina, El manual moderno, 2009.
- Karavanova, I., Vasudevan, K., Cheng, J., & Buonanno, A. (2007). Novel regional and developmental NMDA receptor expression patterns uncovered in NR2C subunit- β -galactosidase knock-in mice. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 34(3), 468–480. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2006.12.001>
- Kelley, W. M., Miezin, F. M., McDermott, K. B., Buckner, R. L., Raichle, M. E., Cohen, N. J., ... Petersen, S. E. (1998). Hemispheric specialization in human dorsal frontal cortex and medial temporal lobe for verbal and nonverbal memory encoding. *Neuron*, 20(5), 927–936. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80474-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80474-2)
- Kelly, S. J., Bernard, K., Muñoz, C., Lawrence, R. C., Thacker, J., Grillo, C. a, ... Reagan, L. P. (2009). Effects of the AMPA receptor modulator S 18986 on measures of cognition and oxidative stress in aged rats. *Psychopharmacology*, 202(1–3), 225–235. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1301-x>
- Kesner, R. P., & Churchwell, J. C. (2011). An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(3), 417–431. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.07.002>
- Kim, J. P., Min, H. K., Knight, E. J., Duffy, P. S., Abulseoud, O. A., Marsh, M. P., ... Lee, K. H. (2013). Centromedian-parafascicular deep brain stimulation induces differential functional inhibition of the motor, associative, and limbic circuits in large animals. *Biological Psychiatry*, 74(12), 917–926. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.06.024>

- Kim, S. M., & Frank, L. M. (2009). Hippocampal lesions impair rapid learning of a continuous spatial alternation task. *PLoS ONE*, *4*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005494>
- Kinomura, S., Larsson, J., Gulyas, B., & Roland, P. E. (1996). Activation by Attention of the Human Reticular Formation and Thalamic Intralaminar Nuclei Author (s): Shigeo Kinomura , Jonas Larsson , Balázs Gulyás and Per E . Roland Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL : [http, 271\(5248\)](http://www.jstor.org/stable/2715248), 512–515.
- Klencklen, G., Després, O., & Dufour, A. (2012). What do we know about aging and spatial cognition? Reviews and perspectives. *Ageing Research Reviews*, *11*(1), 123–135. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.10.001>
- Knafo, S., Venero, C., Sánchez-Puelles, C., Pereda-Peréz, I., Franco, A., Sandi, C., ... Esteban, J. A. (2012). Facilitation of ampa receptor synaptic delivery as a molecular mechanism for cognitive enhancement. *PLoS Biology*, *10*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001262>
- Korotkova, T., Fuchs, E. C., Ponomarenko, A., von Engelhardt, J., & Monyer, H. (2010). NMDA Receptor Ablation on Parvalbumin-Positive Interneurons Impairs Hippocampal Synchrony, Spatial Representations, and Working Memory. *Neuron*, *68*(3), 557–569. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.017>
- Krettek, J. E., & Price, J. L. (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, *171*(2), 157–191. <https://doi.org/10.1002/cne.901710204>
- Krogsgaard-Larsen, P., & Johnston, G. A. R. (1975). INHIBITION OF GABA UPTAKE IN RAT BRAIN SLICES BY NIPECOTIC ACID, VARIOUS ISOXAZOLES AND RELATED COMPOUNDS. *Journal of Neurochemistry*, *25*(6), 797–802. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1975.tb04410.x>
- Krystal, J. H., Petrakis, I. L., Limoncelli, D., Nappi, S. K., Trevisan, L., Pittman, B., & D'Souza, D. C. (2011). Characterization of the interactive effects of glycine and D-cycloserine in men: Further evidence for enhanced NMDA receptor function associated with human alcohol dependence. *Neuropsychopharmacology*, *36*(3), 701–710. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.203>
- Kuriyama, K., Honma, M., Soshi, T., Fujii, T., & Kim, Y. (2011). Effect of d-cycloserine and valproic acid on the extinction of reinstated fear-conditioned responses and habituation of fear conditioning in healthy humans: A randomized controlled trial. *Psychopharmacology*, *218*(3), 589–597. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2353-x>
- Lalonde, R. (2002). The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *26*(1), 91–104. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11835987>
- Laroche, S., Davis, S., & Jay, T. M. (2000). Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: Dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus*, *10*(4), 438–446. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<438::AID-HIPO10>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<438::AID-HIPO10>3.0.CO;2-3)
- Lebrun, C., Pillière, E., & Lestage, P. (2000). Effects of S 18986-1, a novel cognitive enhancer,

- on memory performances in an object recognition task in rats. *European Journal of Pharmacology*, 401(2), 205–212.
- Lepagnol, J., Lebrun, C., Pilliere, E., Thomas, J.-Y., Desos, P., Cordi, A., Lestage, P., 1997. Neuroexcitatory and cognition enhancing effects of S18986-1, a positive allosteric modulator of glutamate AMPA receptors. Soc. Neurosci. Abstr. 23, 717.6, suppl. 2
- Linster, C., Garcia, P. A., Hasselmo, M. E., & Baxter, M. G. (2001). Selective loss of cholinergic neurons projecting to the olfactory system increases perceptual generalization between similar, but not dissimilar, odors. *Behavioral Neuroscience*, 115(4), 826–833. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.115.4.826>
- Linster, C., Wyble, B. P., & Hasselmo, M. E. (1999). Electrical Stimulation of the Horizontal Limb of the Diagonal Band of Broca Modulates Population EPSPs in Piriform Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 81(6), 2737–2742. <https://doi.org/10.1152/jn.1999.81.6.2737>
- Lithfous, S., Dufour, A., & Després, O. (2013). Spatial navigation in normal aging and the prodromal stage of Alzheimer's disease: Insights from imaging and behavioral studies. *Ageing Research Reviews*, 12(1), 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.04.007>
- Liu, L., Wong, T. P., Pozza, M. F., Lingenhoebl, K., Wang, Y., Sheng, M., ... Wang, Y. T. (2004). Role of NMDA Receptor Subtypes in Governing the Direction of Hippocampal Synaptic Plasticity. *Science*, 304(5673), 1021–1024. <https://doi.org/10.1038/098448b0>
- Lladó, J., Calderó, J., Ribera, J., Tarabal, O., Oppenheim, R. W., & Esquerda, J. E. (1999). Opposing Effects of Excitatory Amino Acids on Chick Embryo Spinal Cord Motoneurons: Excitotoxic Degeneration or Prevention of Programmed Cell Death. *The Journal of Neuroscience*, 19(24), 10803–10812. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-24-10803.1999>
- Lockhart, B., Iop, F., Closier, M., & Lestage, P. (2000). S18986 noradrenaline hippocampus cortex 2000, 145–153.
- Lockhart, B. P., Rodriguez, M., Mourlevat, S., Peron, P., Catesson, S., Villain, N., ... Lestage, P. (2007). S18986: a positive modulator of AMPA-receptors enhances (S)-AMPA-mediated BDNF mRNA and protein expression in rat primary cortical neuronal cultures. *European Journal of Pharmacology*, 561(1–3), 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.01.030>
- Lopez, J., Wolff, M., Lecourtier, L., Cosquer, B., Bontempi, B., Dalrymple-Alford, J., & Cassel, J.-C. (2009). The Intralaminar Thalamic Nuclei Contribute to Remote Spatial Memory. *Journal of Neuroscience*, 29(10), 3302–3306. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5576-08.2009>
- Lynch, G. (2006). Glutamate-based therapeutic approaches: ampakines. *Current Opinion in Pharmacology*, 6(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2005.09.005>
- Lynch, M. A., Introduction, I., Erk, B., Potentiation, L., Age, D., & Cognition, E. (2004). Long-Term Potentiation and Memory, 87–136.
- Lynch, D. R., and Guttman, R. P. (2001). NMDA receptor pharmacology: Perspectives from molecular biology. *Curr. Drug Targets*. 2:215–231
- Magnusson, K. R., & Cotman, C. W. (1993a). Age-related changes in excitatory amino acid receptors in two mouse strains. *Neurobiology of Aging*, 14(3), 197–206.

- [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(93\)90001-R](https://doi.org/10.1016/0197-4580(93)90001-R)
- Magnusson, K. R., & Cotman, C. W. (1993b). Effects of aging on NMDA and MK801 binding sites in mice. *Brain Research*, *604*(1–2), 334–337. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90386-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90386-2)
- Mahmoodi, G., Ahmadi, S., pourmotabbed, A., Oryan, S., & Zarrindast, M. R. (2010). Inhibitory avoidance memory deficit induced by scopolamine: Interaction of cholinergic and glutamatergic systems in the ventral tegmental area. *Neurobiology of Learning and Memory*, *94*(1), 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.04.004>
- Malenka, R. C. (2003). The long-term potential of LTP. *Nature Reviews Neuroscience*, *4*(11), 923–926. <https://doi.org/10.1038/nrn1258>
- Mao, J. Bin, & Robinson, J. K. (1998). Microinjection of GABA-A agonist muscimol into the dorsal but not the ventral hippocampus impairs non-mnemonic measures of delayed non-matching- to-position performance in rats. *Brain Research*, *784*(1–2), 139–147. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01324-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01324-3)
- Marchi, M., & Raiteri, M. (1988). Interaction Acetylcholine- Glutamate in Rat Hippocampus: Involvement of Two Subtypes of M-2 Muscarinic Receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *248*(3), 1255–1260.
- Marighetto, A., Valerio, S., Jaffard, R., Mormede, C., Muñoz, C., Bernard, K., & Morain, P. (2008). The AMPA modulator S 18986 improves declarative and working memory performances in aged mice. *Behavioural Pharmacology*, *19*(3).
- Marini, G., & Tredici, G. (1995). Parafascicular nucleus-raphé projections and termination patterns in the rat. *Brain Research*, *690*(2), 177–184. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00617-Y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00617-Y)
- Markram, H., & Segal, M. (1990). Acetylcholine potentiates responses to N-methyl-d-aspartate in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, *113*(1), 62–65. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(90\)90495-U](https://doi.org/10.1016/0304-3940(90)90495-U)
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience*, *5*(10), 793–807. <https://doi.org/10.1038/nrn1519>
- Martí Nicolovius, M., & Arévalo García, R. M. (2019). Envejecimiento y memoria: efectos de la restricción calórica. *Revista de Neurología*, *66*(12), 415. <https://doi.org/10.33588/rn.6612.2017516>
- Martin, C., Beshel, J., & Kay, L. M. (2007). An Olfacto-Hippocampal Network Is Dynamically Involved in Odor-Discrimination Learning. *Journal of Neurophysiology*, *98*(4), 2196–2205. <https://doi.org/10.1152/jn.00524.2007>
- Martinez-Hernandez, A., Bell, K., & Norenberg, M. (1977). Glutamine synthetase: glial localization in brain. *Science*, *195*(4284), 1356–1358. <https://doi.org/10.1126/science.14400>
- McBain, C. J., & Fisahn, A. (2002). Interneurons unbound. *Nature Reviews Neuroscience*, *2*(1), 11–23. <https://doi.org/10.1038/35049047>

- McCormick, D. A., Connors, B. W., Lighthall, J. W., & Prince, D. A. (1985). Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *Journal of Neurophysiology*, *54*(4), 782–806. <https://doi.org/10.1152/jn.1985.54.4.782>
- McNamara, A. M., Magidson, P. D., Linster, C., Wilson, D. A., & Cleland, T. A. (2008). Distinct neural mechanisms mediate olfactory memory formation at different timescales. *Learning and Memory*, *15*(3), 117–125. <https://doi.org/10.1101/lm.785608>
- McQuail, J. A., Beas, B. S., Kelly, K. B., Simpson, K. L., Frazier, C. J., Setlow, B., & Bizon, J. L. (2016). NR2A-Containing NMDARs in the Prefrontal Cortex Are Required for Working Memory and Associated with Age-Related Cognitive Decline. *The Journal of Neuroscience*, *36*(50), 12537–12548. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2332-16.2016>
- McQuail, J. A., Frazier, C. J., & Bizon, J. L. (2016). Molecular aspects of age-related cognitive decline: the role of GABA signaling, *21*(7), 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.05.002>
- Meador-Woodruff, J. H., Clinton, S. M., Beneyto, M., & McCullumsmith, R. E. (2003). Molecular Abnormalities of the Glutamate Synapse in the Thalamus in Schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1003*, 75–93. <https://doi.org/10.1196/annals.1300.005>
- Meldrum, B. S. (2000). Glutamate and Glutamine in the Brain Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain : Review of Physiology and Pathology 1, (May), 1007–1015.
- Mello, N. K. (1971). Alcohol effects on delayed matching to sample performance by rhesus monkey. *Physiology and Behavior*, *7*(1), 77–101. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(71\)90239-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(71)90239-3)
- Mickley, G. A., Remus, J. L., Ramos, L., Wilson, G. N., Biesan, O. R., & Ketchesin, K. D. (2012). Acute, but not chronic, exposure to D-Cycloserine facilitates extinction and modulates spontaneous recovery of a conditioned taste aversion, *105*(2), 417–427. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>
- Miyake, A., Friedman, N. P., Rettinger, D. A., Shah, P., & Hegarty, M. (2001). How are visuospatial working memory, executive functioning, and spatial abilities related? A latent-variable analysis. *Journal of Experimental Psychology: General*, *130*(4), 621–640. <https://doi.org/10.1037/0096-3445.130.4.621>
- Moffat, S. D., Elkins, W., & Resnick, S. M. (2006). Age differences in the neural systems supporting human allocentric spatial navigation. *Neurobiology of Aging*, *27*(7), 965–972. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.05.011>
- Morgado Bernal, I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Revista de Neurología*, *40*(05), 289. <https://doi.org/10.33588/rn.4005.2005004>
- Moser, M. B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, *8*(6), 608–19
- Muir, J. L., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1996). The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: Dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cerebral Cortex*, *6*(3), 470–481. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.3.470>

- Murphy, C. (1985). Cognitive and chemosensory influences on age-related changes in the ability to identify blended foods. *Journals of Gerontology*, 40(1), 47–52. <https://doi.org/10.1093/geronj/40.1.47>
- Nakamura, K. (2006). Aniracetam: Its Novel Therapeutic Potential in Cerebral Dysfunctional Disorders Based on Recent Pharmacological Discoveries. *CNS Drug Reviews*, 8(1), 70–89. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2002.tb00216.x>
- Newman, L. A., & Burk, J. A. (2005). Effects of excitotoxic thalamic intralaminar nuclei lesions on attention and working memory. *Behavioural Brain Research*, 162(2), 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.03.018>
- Newman, L. A., Darling, J., & McGaughy, J. (2008). Atomoxetine reverses attentional deficits produced by noradrenergic deafferentation of medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 200(1), 39–50. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1097-8>
- Newman, L. A., & McGaughy, J. (2008). Cholinergic Deafferentation of Prefrontal Cortex Increases Sensitivity to Cross-Modal Distractors during a Sustained Attention Task. *Journal of Neuroscience*, 28(10), 2642–2650. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5112-07.2008>
- Normann, C., & Berger, M. (2008). Neuroenhancement: status quo and perspectives. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 258(S5), 110–114. <https://doi.org/10.1007/s00406-008-5022-2>
- Ohno, M., & Watanabe, S. (1996). D-Cycloserine, a glycine site agonist, reverses working memory failure by hippocampal muscarinic receptor blockade in rats. *European Journal of Pharmacology*, 318(2–3), 267–271. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00907-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00907-7)
- Owen, A. M., Evans, A. C., & Petrides, M. (1996). Evidence for a two-stage model of spatial working memory processing within the lateral frontal cortex: a positron emission tomography study. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 6(1), 31–38.
- Ozawa, T., Kumeji, M., Yamada, K., & Ichitani, Y. (2012). D-Cycloserine enhances spatial memory in spontaneous place recognition in rats. *Neuroscience Letters*, 509(1), 13–16. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.12.031>
- Ozbaki, J., Goudarzi, I., Salmani, M. E., & Rashidy-Pour, A. (2016). Acute stress does not affect the impairing effect of chronic stress on memory retrieval. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(7), 763–771. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2016.7362>
- Paoletti, P., Bellone, C., & Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: Impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(6), 383–400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Parent, M., & Parent, A. (2005). Single-axon tracing and three-dimensional reconstruction of centre médian-parafascicular thalamic neurons in primates. *Journal of Comparative Neurology*, 481(1), 127–144. <https://doi.org/10.1002/cne.20348>
- Parkin, G. M., Udawela, M., Gibbons, A., & Dean, B. (2018). Glutamate transporters, EAAT1 and EAAT2, are potentially important in the pathophysiology and treatment of schizophrenia and affective disorders. *World Journal of Psychiatry*, 8(2), 51–63.

- <https://doi.org/10.5498/wjp.v8.i2.51>
- Parnas, A. S., Weber, M., & Richardson, R. (2005). Effects of multiple exposures to D-cycloserine on extinction of conditioned fear in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 83(3), 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2005.01.001>
- Passetti, F., Levita, L., & Robbins, T. W. (2003). Sulpiride alleviates the attentional impairments of rats with medial prefrontal cortex lesions. *Behavioural Brain Research*, 138(1), 59–69. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00229-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00229-2)
- Peppe, A., Gasbarra, A., Stefani, A., Chiavalon, C., Pierantozzi, M., Fermi, E., ... Mazzone, P. (2008). Deep brain stimulation of CM/PF of thalamus could be the new elective target for tremor in advanced Parkinson's Disease? *Parkinsonism and Related Disorders*, 14(6), 501–504. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.11.005>
- Peyron, C., Petit, J. M., Rampon, C., Jouvet, M., & Luppi, P. H. (1997). Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience*, 82(2), 443–468. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00268-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00268-6)
- Portero-Tresserra, M., Cristóbal-Narváez, P., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G., & Vale-Martínez, A. (2013). D-cycloserine in prelimbic cortex reverses scopolamine-induced deficits in olfactory memory in rats. *PloS One*, 8(8), e70584. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070584>
- Portero-Tresserra, M., Martí-Nicolovius, M., Tarrés-Gatius, M., Candalija, A., Guillazo-Blanch, G., & Vale-Martínez, A. (2018). Intra-hippocampal d-cycloserine rescues decreased social memory, spatial learning reversal, and synaptophysin levels in aged rats. *Psychopharmacology*, 235(5), 1463–1477. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-4858-z>
- Preuss, T. M. (1995). Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 7(1), 1–24. <https://doi.org/10.1162/jocn.1995.7.1.1>
- Pussinen, R., & Sirviö, J. (1999). Effects of D-cycloserine, a positive modulator of N-methyl-D-aspartate receptors, and ST 587, a putative alpha-1 adrenergic agonist, individually and in combination, on the non-delayed and delayed foraging behaviour of rats assessed in the radial arm maze. *Journal of Psychopharmacology*, 13(2), 171–179. <https://doi.org/10.1177/026988119901300210>
- Quartermain, D., Mower, J., Rafferty, M. F., Herting, R. L., & Lanthorn, T. H. (1994). Acute but not chronic activation of the NMDA-coupled glycine receptor with D-cycloserine facilitates learning and retention. *European Journal of Pharmacology*, 257(1–2), 7–12. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(94\)90687-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90687-4)
- Quiroz-Padilla, M. F., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., & Martí-Nicolovius, M. (2006). Excitotoxic lesions of the parafascicular nucleus produce deficits in a socially transmitted food preference. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86(3), 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.03.007>
- Quiroz-Padilla, M. F., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Torras-García, M., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Effects of parafascicular excitotoxic lesions on two-way active

- avoidance and odor-discrimination. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(2), 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.06.002>
- Quiroz-Padilla, M. F., Martí-Nicolovius, M., & Guillazo-Blanch, G. (2010). Núcleos intralaminares posteriores del tálamo y procesos cognitivos. *Revista de Neurología*, 51(4), 217–225.
- Raeva, S. N. (2006). The role of the parafascicular complex (CM-Pf) of the human thalamus in the neuronal mechanisms of selective attention. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 36(3), 287–295. <https://doi.org/10.1007/s11055-006-0015-y>
- Ragozzino, M. E. (2007). The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1121, 355–375. <https://doi.org/10.1196/annals.1401.013>
- Ravel, N., Elaagouby, A., & Gervais, R. (1994). Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behavioral Neuroscience*, 108(2), 317–324. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.108.2.317>
- Ravel, N., Vigouroux, M., Elaagouby, A., & Gervais, R. (1992). Scopolamine impairs delayed matching in an olfactory task in rats. *Psychopharmacology*, 109(4), 439–443. <https://doi.org/10.1007/BF02247720>
- Raz, N., Gunning, F. M., Head, D., Dupuis, J. H., McQuain, J., Briggs, S. D., ... Acker, J. D. (1997). Selective aging of the human cerebral cortex observed in vivo: differential vulnerability of the prefrontal gray matter. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 7(3), 268–282. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9143446>
- Rebola, N., Srikumar, B. N., & Mulle, C. (2010). Activity-dependent synaptic plasticity of NMDA receptors. *Journal of Physiology*, 588(1), 93–99. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.179382>
- Robbins, T. W., Granon, S., Muir, J. L., Durantou, F., Harrison, A., & Everitt, B. J. (1998). Neural Systems Underlying Arousal and Attention: Implications for Drug Abuse a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 846(1), 222–237. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09740.x>
- Robinson, J. K., & Mao, J. Bin. (1997). Differential effects on delayed non-matching-to-position in rats of microinjections of muscarinic receptor antagonist scopolamine or NMDA receptor antagonist MK-801 into the dorsal or ventral extent of the hippocampus. *Brain Research*. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00426-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00426-5)
- Rodriguez JS, Paule MG. Working Memory Delayed Response Tasks in Monkeys. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. Chapter 12.
- Rosi, S., Giovannini, M. G., Lestage, P. J., Muñoz, C., Corte, L. Della, & Pepeu, G. (2004). S 18986, a positive modulator of AMPA receptors with cognition-enhancing properties, increases ACh release in the hippocampus of young and aged rat. *Neuroscience Letters*, 361(1–3), 120–123. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.061>
- Ross, R. S. (2006). Dynamics of Hippocampal and Cortical Activation during Consolidation of a Nonspatial Memory. *Journal of Neuroscience*, 26(18), 4852–4859.

- <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0659-06.2006>
- Rüb, U., Del Tredici, K., Del Turco, D., & Braak, H. (2002). The intralaminar nuclei assigned to the medial pain system and other components of this system are early and progressively affected by the Alzheimer's disease-related cytoskeletal pathology. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 23(4), 279–290. [https://doi.org/10.1016/S0891-0618\(02\)00007-8](https://doi.org/10.1016/S0891-0618(02)00007-8)
- Rypma, B., Prabhakaran, V., Desmond, J. E., & Gabrieli, J. D. E. (2001). Age differences in prefrontal cortical activity in working memory. *Psychology and Aging*, 16(3), 371–384. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.16.3.371>
- Saar, D., Grossman, Y., & Barkai, E. (2001). Long-Lasting Cholinergic Modulation Underlies Rule Learning in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 21(4), 1385–1392. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.21-04-01385.2001>
- Sackett, D. A., Moschak, T. M., & Carelli, R. M. (2019). Prelimbic Cortical Neurons Track Preferred Reward Value and Reflect Impulsive Choice During Delay Discounting Behavior. *Prelimbic Cortical Neurons Track Preferred Reward Value and Reflect Impulsive Choice During Delay Discounting Behavior* Deirdre A . Sacke.
- Sadikot, A. F., Parent, A., Smith, Y., & Al, E. (1992). Efferent connections of the centromedian and parafascicular nuclei in the squirrel monkey: A PHA-L Study of Subcortical Projections. *J Comp Neurol*, 320, 228.
- Sadikot, A. F., & Rymar, V. V. (2009). The primate centromedian-parafascicular complex: Anatomical organization with a note on neuromodulation. *Brain Research Bulletin*, 78(2–3), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2008.09.016>
- Salat, D. H., Kaye, J. A., & Janowsky, J. S. (1999). Prefrontal Gray and White Matter Volumes in. *Archives of Neurology*, 36(3), 338–344. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv102>
- Sara, S. J., Roulet, P., & Przybylski, J. (1999). Consolidation of Memory for Odor – Reward Association: β -Adrenergic Receptor Involvement in the Late Phase. *Learning and Memory*, 6, 88–96. <https://doi.org/10.1101/lm.6.2.88>
- Sarihi, A., Jiang, B., Komaki, A., Sohya, K., Yanagawa, Y., & Tsumoto, T. (2008). Metabotropic Glutamate Receptor Type 5-Dependent Long-Term Potentiation of Excitatory Synapses on Fast-Spiking GABAergic Neurons in Mouse Visual Cortex. *Journal of Neuroscience*, 28(5), 1224–1235. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4928-07.2008>
- Sarnyai, Z., Sibille, E. L., Pavlides, C., Fenster, R. J., McEwen, B. S., & Toth, M. (2000). Functional Abnormalities in the Hippocampus and Impaired Hippocampal-dependent Learning in Mice Lacking the 5HT1A Receptors. *CNS Drug Reviews*, 6, 40–40. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2000.tb00183.x>
- Sarter, M., Bruno, J. P., & Givens, B. (2003). Attentional functions of cortical cholinergic inputs: What does it mean for learning and memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 80(3), 245–256. [https://doi.org/10.1016/S1074-7427\(03\)00070-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7427(03)00070-4)
- Sarter, M., & Parikh, V. (2005). Choline transporters, cholinergic transmission and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(1), 48–56. <https://doi.org/10.1038/nrn1588>
- Schiff, N. D. (2012). Moving toward a generalizable application of central thalamic deep brain

- stimulation for support of forebrain arousal regulation in the severely injured brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1265(1), 56–68. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06712.x>
- Schroeter, M. L., Vogt, B., Frisch, S., Becker, G., Barthel, H., Mueller, K., ... Sabri, O. (2012). Executive deficits are related to the inferior frontal junction in early dementia. *Brain*, 135(1), 201–215. <https://doi.org/10.1093/brain/awr311>
- Seamans, J. K., Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (1995). Functional Differences Between the Prelimbic and Anterior Cingulate Regions of the Rat Prefrontal Cortex. *Behavioral Neuroscience*, 109(6), 1063–1073. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.109.6.1063>
- Segal, M., & Auerbach, J. M. (1997). Muscarinic receptors involved in hippocampal plasticity. *Life Sciences*, 60(13–14), 1085–1091. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(97\)00051-9](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(97)00051-9)
- Shen J, Petersen KF, Behar KL, Brown P, Nixon TW, Mason GF, Petroff OA, Shulman GI, Shulman RG, Rothman DL. (1999) Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by in vivo ¹³C NMR. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jul 6;96(14):8235-40.
- Sloan, H. L., & Dunnett, S. B. (2006). Hippocampal lesions impair performance on a conditional delayed matching and non-matching to position task in the rat, 171, 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.03.042>
- Somogyi, P., Tamás, G., Lujan, R., & Buhl, E. H. (1998). Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 26(2–3), 113–135. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(97\)00061-1](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(97)00061-1)
- Sos-Hinojosa, H., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Nadal, R., Morgado-Bernal, I., & Martí-Nicolovius, M. (2003). Parafascicular electrical stimulation attenuates nucleus basalis magnocellularis lesion-induced active avoidance retention deficit. *Behavioural Brain Research*, 144(1–2), 37–48. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(03\)00060-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00060-3)
- Stanton, P., & Sarvey, J. (1985). Depletion of norepinephrine, but not serotonin, reduces long-term potentiation in the dentate gyrus of rat hippocampal slices. *The Journal of Neuroscience*, 5(8), 2169–2176. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-08-02169.1985>
- Staubli, U., Rogers, G., & Lynch, G. (1994). Facilitation of glutamate receptors enhances memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(2), 777–781. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.2.777>
- Stevens, J. C., & Cain, W. S. (1987). Old-Age Deficits in the Sense of Smell as Gauged by Thresholds, Magnitude Matching, and Odor Identification. *Psychology and Aging*, 2(1), 36–42. Retrieved from [papers2://publication/uuid/8534F711-2A12-4BFE-9600-BE7E362E8268](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8534F711-2A12-4BFE-9600-BE7E362E8268)
- Swanson L:W: (1998). *Brain Maps: Structure of the Rat Brain*.
- Swonger, A. K., & Rech, R. H. (1972). Serotonergic and cholinergic involvement in habituation of activity and spontaneous alternation of rats in a maze. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81(3), 509–522. <https://doi.org/10.1037/h0033690>
- Tamaru, M., Yoneda, Y., Ogita, K., Shimizu, J., & Nagata, Y. (1991). Age-related decreases of

- the N-methyl-d-aspartate receptor complex in the rat cerebral cortex and hippocampus. *Brain Research*, 542(1), 83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91001-H](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91001-H)
- Terry, R. D., DeTeresa, R., & Hansen, L. A. (1987). Neocortical cell counts in normal human adult aging. *Annals of Neurology*, 21(6), 530–539. <https://doi.org/10.1002/ana.410210603>
- Thierry, A. M., Gioanni, Y., Dégénétais, E., & Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway: Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus*, 10(4), 411–419. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<411::AID-HIPO7>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<411::AID-HIPO7>3.0.CO;2-A)
- Tisserand, D. J., & Jolles, J. (2003). On the involvement of prefrontal networks in cognitive ageing. *Cortex*, 39(4–5), 1107–1128. [https://doi.org/10.1016/S0010-9452\(08\)70880-3](https://doi.org/10.1016/S0010-9452(08)70880-3)
- Tisserand, D. J., Pruessner, J. C., Sanz Arigita, E. J., van Boxtel, M. P. J., Evans, A. C., Jolles, J., & Uylings, H. B. M. (2002). Regional frontal cortical volumes decrease differentially in aging: an MRI study to compare volumetric approaches and voxel-based morphometry. *NeuroImage*, 17(2), 657–669. <https://doi.org/10.1006/nimg.2002.1173>
- Torras-Garcia, M., Lelong, J., Tronel, S., & Sara, S. J. (2005). Reconsolidation after remembering an odor-reward association requires NMDA receptors. *Learning and Memory*, 12(1), 18–22. <https://doi.org/10.1101/lm.80905>
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2002). Mapping of Olfactory Memory Circuits: Region-Specific c-fos Activation After Odor-Reward Associative Learning or After Its Retrieval. *Learning & Memory*, 9(3), 105–111. <https://doi.org/10.1101/lm.47802>
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2003). Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(13), 5472–5476. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12843246>
- Tulving, E., 1983. *Elements of Episodic Memory*. Clarendon Press, Oxford.
- Unverzagt, F. W., Hui, S. L., Farlow, M. R., Hall, K. S., & Hendrie, H. C. (2012). Cognitive decline and education in mild dementia. *Neurology*, 50(1), 181–185. <https://doi.org/10.1212/wnl.50.1.181>
- Uylings, H. B. M., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146(1–2), 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028>
- Uylings, H. B. M., & van Eden, C. G. (1990). Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in the rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res*. 1990;85:31-62.
- Vale-Martínez, A., Baxter, M. G., & Eichenbaum, H. (2002). Selective lesions of basal forebrain cholinergic neurons produce anterograde and retrograde deficits in a social transmission of food preference task in rats. *European Journal of Neuroscience*, 16(6), 983–998. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02153.x>
- Van Kerkhof, L. W., Damsteegt, R., Trezza, V., Voorn, P., & Vanderschuren, L. J. (2013). Social play behavior in adolescent rats is mediated by functional activity in medial prefrontal cortex and striatum. *Neuropsychopharmacology*, 38(10), 1899–1909. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.83>
- Van Petten, C. (2004). Relationship between hippocampal volume and memory ability in healthy individuals across the lifespan: Review and meta-analysis. *Neuropsychologia*, 42(10),

- 1394–1413. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2004.04.006>
- Vandesquille, M., Krazem, A., Louis, C., Lestage, P., & Béracochéa, D. (2011). S 18986 reverses spatial working memory impairments in aged mice: comparison with memantine. *Psychopharmacology*, *215*(4), 709–720. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2168-9>
- Vercelli, A., Marini, G., & Tredici, G. (2003). Anatomical organization of the telencephalic connections of the parafascicular nucleus in adult and developing rats. *The European Journal of Neuroscience*, *18*(2), 275–289. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02743.x>
- Vertes, R. P. (2004). Differential Projections of the Infralimbic and Prelimbic Cortex in the Rat. *Synapse*, *51*(1), 32–58. <https://doi.org/10.1002/syn.10279>
- Vertes, R. P., Linley, S. B., & Hoover, W. B. (2015). Limbic circuitry of the midline thalamus. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *54*(24), 89–107. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.01.014>
- Vickery, R. M., Morris, S. H., & Bindman, L. J. (2017). Metabotropic Glutamate Receptors Are Involved in Long-Term Potentiation in Isolated Slices of Rat Medial Frontal Cortex. *Journal of Neurophysiology*, *78*(6), 3039–3046. <https://doi.org/10.1152/jn.1997.78.6.3039>
- Vieira, P. A., Corches, A., Lovelace, J. W., Westbrook, K. B., Mendoza, M., & Korzus, E. (2015). Prefrontal NMDA receptors expressed in excitatory neurons control fear discrimination and fear extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, *119*(January), 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.12.012>
- Villarejo-Rodríguez, I., Boadas-Vaello, P., Portero-Tresserra, M., Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M., & Guillazo-Blanch, G. (2013). Learning deficits in an odor reward-task induced by parafascicular thalamic lesions are ameliorated by pretraining d-cycloserine in the prelimbic cortex. *Behavioural Brain Research*, *238*, 289–292. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2012.10.041>
- Villarejo-Rodríguez, I., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., & Martí-Nicolovius, M. (2010). D-cycloserine in prelimbic cortex enhances relearning of an odor-reward associative task. *Behavioural Brain Research*, *213*(1), 113–116. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.04.016>
- Wang, D., Jacobs, S. A., & Tsien, J. Z. (2014). Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *18*(10), 1121–1130. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.941286>
- Wang, X., Gu, Z., Zhong, P., Chen, G., Feng, J., & Yan, Z. (2006). Aberrant regulation of NMDA receptors by dopamine D4 signaling in rats after phencyclidine exposure. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *31*(1), 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2005.08.018>
- Warburton, E. C., Koder, T., Cho, K., Massey, P. V., Duguid, G., Barker, G. R. ., ... Brown, M. W. (2003). Cholinergic Neurotransmission Is Essential for Perirhinal Cortical Plasticity and Recognition Memory. *Neuron*, *38*(6), 987–996. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00358-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00358-1)
- Wenk, G. L., & Barnes, C. A. (2000). Regional changes in the hippocampal density of AMPA and NMDA receptors across the lifespan of the rat. *Brain Research*, *885*(1), 1–5.

- [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02792-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02792-X)
- Wenk, G. L., Walker, L. C., Price, D. L., & Cork, L. C. (1991). Loss of NMDA, but not GABA-A, binding in the brains of aged rats and monkeys. *Neurobiology of Aging*, *12*(2), 93–98. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(91\)90047-N](https://doi.org/10.1016/0197-4580(91)90047-N)
- Werner-Seidler, A., & Richardson, R. (2007). Effects of D-Cycloserine on Extinction: Consequences of Prior Exposure to Imipramine. *Biological Psychiatry*, *62*(10), 1195–1197. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.04.010>
- West, R. L. (1996). An Application of Prefrontal Cortex Function Theory to Cognitive Aging Structural Changes in the Aging Brain. *Psychological Bulletin*, *120*(2), 272–292.
- Whiting, P. J., Bonnert, T. P., McKernan, R. M., Farrar, S., Bourdelles, B. Le, Heavens, R. P., WAFFORD, K. A. (1999). Molecular and Functional Diversity of the Expanding GABA-A Receptor Gene Family. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *868*(1 MOLECULAR AND), 645–653. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb11341.x>
- Whittington, M. A., Traub, R. D., Kopell, N., Ermentrout, B., & Buhl, E. H. (2000). Inhibition-based rhythms: Experimental and mathematical observations on network dynamics. *International Journal of Psychophysiology*, *38*(3), 315–336. [https://doi.org/10.1016/S0167-8760\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-8760(00)00173-2)
- Willmore, C. B., LaVecchia, K. L., & Wiley, J. L. (2001). NMDA antagonists produce site-selective impairment of accuracy in a delayed nonmatch-to-sample task in rats. *Neuropharmacology*, *41*(8), 916–927. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(01\)00143-5](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(01)00143-5)
- Winocur, G. (1990). Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behavioural Brain Research*, *38*(2), 145–154. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(90\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0166-4328(90)90012-4)
- Winocur, G., McDonald, R. M., & Moscovitch, M. (2001). Anterograde and retrograde amnesia in rats with large hippocampal lesions. *Hippocampus*, *11*(1), 18–26. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2001\)11:1<18::AID-HIPO1016>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2001)11:1<18::AID-HIPO1016>3.0.CO;2-5)
- Winocur, G., & Moscovitch, M. (1999). Anterograde and Retrograde Amnesia After Lesions to Frontal Cortex in Rats. *The Journal of Neuroscience*, *19*(21), 9611–9617. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-21-09611.1999>
- Winocur, G., Moscovitch, M., Rosenbaum, R. S., & Sekeres, M. (2010). An investigation of the effects of hippocampal lesions in rats on pre- and postoperatively acquired spatial memory in a complex environment. *Hippocampus*, *20*(12), 1350–1365. <https://doi.org/10.1002/hipo.20721>
- Winters, B. D., & Dunnett, S. B. (2004). Selective lesioning of the cholinergic septo-hippocampal pathway does not disrupt spatial short-term memory: A comparison with the effects of fimbria-fornix lesions. *Behavioral Neuroscience*, *118*(3), 546–562. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.3.546>
- Woltering, T. J., Wichmann, J., Goetschi, E., Knoflach, F., Ballard, T. M., Huwyler, J., & Gatti, S. (2010). Synthesis and characterization of 1,3-dihydro-benzo[b][1,4]diazepin-2-one derivatives: Part 4. in vivo active potent and selective non-competitive metabotropic

- glutamate receptor 2/3 antagonists. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(23), 6969–6974. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.09.125>
- Womelsdorf, T., & Fries, P. (2007). The role of neuronal synchronization in selective attention. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(2), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.02.002>
- Wysocki, C. J., & Gilbert, A. N. (1989). National Geographic Smell Survey: Effects of Age Are Heterogenous. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 561(1), 12–28. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb20966.x>
- Yamada, K., & Nabeshima, T. (2000). Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacology and Therapeutics*, 88(2), 93–113. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(00\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(00)00081-4)
- Yamamoto, T., & Hirano, A. (1985). Nucleus raphe dorsalis in Alzheimer's disease: Neurofibrillary tangles and loss of large neurons. *Annals of Neurology*, 17(6), 573–577. <https://doi.org/10.1002/ana.410170608>
- Yasuda, K., Yoshida, T., Kashiwagi, M., Nakagawa, N., Michikawa, T., Tanaka, M., ... Itoharu, S. (2017). Schizophrenia-like phenotypes in mice with NMDA receptor ablation in intralaminar thalamic nucleus cells and gene therapy-based reversal in adults. *Translational Psychiatry*, 7(2), e1047-9. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.19>
- Yasukawa, T., Kita, T., Xue, Y., & Kita, H. (2004). Rat Intralaminar Thalamic Nuclei Projections to the Globus Pallidus: A Biotinylated Dextran Amine Anterograde Tracing Study. *Journal of Comparative Neurology*, 471(2), 153–167. <https://doi.org/10.1002/cne.20029>
- Yefimenko, N., Portero-Tresserra, M., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G., & Vale-Martínez, A. (2013). The AMPA receptor modulator S18986 in the prelimbic cortex enhances acquisition and retention of an odor-reward association. *Neuroscience Letters*, 548, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.05.032>
- Yonelinas, A. P. (2002). The nature of recollection and familiarity: A review of 30 years of research. *Journal of Memory and Language*, 46(3), 441–517. <https://doi.org/10.1006/jmla.2002.2864>
- Zaborszky, L., Gaykema, Q. R. P., Swanson, D. J., & Cullinan, W. E. (2000). The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in Brain Research*, 126(1), 3–28. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26003-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26003-2)
- Zaborszky, L., Gaykema, R. P., Swanson, D. J., & Cullinan, W. E. (1997). Cortical input to the basal forebrain. *Neuroscience*, 79(4), 1051–1078. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00049-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00049-3)
- Zhang, Y., Wu, S., Eger, E. I., & Sonner, J. M. (2001). Neither GABA(A) nor strychnine-sensitive glycine receptors are the sole mediators of MAC for isoflurane. *Anesthesia and Analgesia*, 92(1), 123–127. <https://doi.org/10.1097/00000539-200101000-00024>
- Zivkovic, I., Thompson, D. M., Bertolino, M., Uzunov, D., DiBella, M., Costa, E., & Guidotti, A. (1995). 7-Chloro-3-methyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4 benzothiadiazine S,S-dioxide (IDRA 21): a benzothiadiazine derivative that enhances cognition by attenuating DL-alpha-amino-2,3-

- dihydro-5-methyl-3-oxo-4-isoxazolepropanoic acid (AMPA) receptor desensitization. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272(1), 300–309.
- Zlomuzica, A., De Souza Silva, M. a, Huston, J. P., & Dere, E. (2007). NMDA receptor modulation by D-cycloserine promotes episodic-like memory in mice. *Psychopharmacology*, 193(4), 503–509. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0816-x>