

DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA

ESTUDIO DE LA INTERVENCIÓN DEL SISTEMA
COLINÉRGICO EN EL EFECTO PRODUCIDO POR LA
AMITRIPTILINA EN UNA TAREA DE EVITACIÓN
INHIBITORIA EN RATONES MACHOS Y HEMBRAS

ADORACIÓN DE LOS REYES URQUIZA TORRES

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2007

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 21 de Juny de 2007 davant un tribunal format per:

- D. Vicente Simón Pérez
- D^a. Paloma Collado Guirao
- D. Héctor González Pardo
- D^a. Nélida Conejo Jiménez
- D. Andrés Parra Guerrero

Va ser dirigida per:
D. Santiago Monleón Verdú

©Copyright: Servei de Publicacions
Adoración de los Reyes Urquiza Torres

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-6879-4

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Departamento de Psicobiología
Facultad de Psicología

ESTUDIO DE LA INTERVENCIÓN DEL SISTEMA
COLINÉRGICO EN EL EFECTO PRODUCIDO POR LA
AMITRIPTILINA EN UNA TAREA DE EVITACIÓN
INHIBITORIA EN RATONES MACHOS Y HEMBRAS

TESIS DOCTORAL

Presentada por:
Adoración Urquiza Torres

Dirigida por:
Dr. Santiago Monleón Verdú

Valencia, Abril de 2007

II

A José Urquiza Gámez, mi padre

In memoriam

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecerle al Dr. Santiago Monleón Verdú la ayuda que me ha dedicado durante todos estos años bajo su dirección. Ayuda tanto en el plano profesional, adentrándome en el mundo de la investigación, como en el plano afectivo ofreciéndome su amistad y buenos consejos.

A los Drs. Andrés Parra Guerrero y Concepción Vinader Caerols, director y miembro de nuestro grupo de investigación, respectivamente; por todas sus orientaciones, así como por su amistad. Además, a la Dra. Ana Josefa Martos Mula, que vive y trabaja en Argentina, por haberme enseñado inicialmente el funcionamiento del laboratorio y por ser tan amigable. También, a mis compañeras Arantza y Eva, por los buenos momentos que me hicieron vivir trabajando junto a ellas y por su afecto. A Ferrán por tener siempre a punto el animalario y por estar siempre ahí cuando se le necesitaba.

A mi Familia (padres, hermana, cuñado y sobrino) que durante todos estos años me han animado para que continuara mis estudios. Con una mención especial a mi madre que supo anteponer mis proyectos e ilusiones a sus propios intereses, alentándome para que siguiera con los mismos incluso en los momentos en los que necesitaba tenerme cerca.

A Fernando, mi marido, que desde siempre me apoyó dándome fortaleza, transmitiéndome resistencia y entereza, sobre todo al final de ella. Y por supuesto, a mi hija Blanca, ya que ha estado presente en la parte final de su realización, contribuyendo conmigo, en mi vientre, en la realización de los últimos experimentos en el laboratorio; y en su paciencia inconsciente, después de nacer, para dejarme terminar de redactarla.

A todos ellos MUCHÍSIMAS GRACIAS, porque sin su colaboración no hubiera sido posible la realización de este trabajo que tantas satisfacciones y algún padecimiento me han retribuido.

Para finalizar quiero mencionar que la financiación de esta investigación ha corrido a cargo del proyecto “Efectos del antidepresivo amitriptilina sobre la memoria en ratones machos y hembras” del Ministerio de Educación y Ciencia (Ref. BSO2003-07163; investigador principal Dr. Andrés Parra Guerrero).

ÍNDICE
PÁGINA

1. Introducción -----	1
------------------------------	---

PARTE TEÓRICA

2. Depresión -----	9
2.1. <i>Introducción</i> -----	10
2.2. <i>Definición y clasificación de la depresión</i> -----	11
2.3. <i>Bases biológicas de la depresión</i> -----	16
2.4. <i>Tratamiento de la depresión</i> -----	20
2.5. <i>Diferencias de sexo de la depresión</i> -----	26
2.6. <i>Depresión y memoria</i> -----	31
3. Antidepresivos y amitriptilina -----	35
3.1. <i>Características generales y clasificación de los antidepresivos</i> -----	36
3.2. <i>Efectos terapéuticos de los antidepresivos</i> -----	41
3.3. <i>Efectos secundarios de los antidepresivos</i> -----	44
3.3.1. Antidepresivos cíclicos -----	44
3.3.2. Inhibidores de la monoaminoxidasa -----	45
3.3.3. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina -----	45
3.3.4. Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina -----	46
3.3.5. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina -----	46
3.3.6. Inhibidores duales de la recaptación de noradrenalina y dopamina -----	47
3.3.7. Antagonistas de los receptores de 5-HT _{2A} e inhibidores la recaptación de serotonina ---	47
3.4. <i>Mecanismos de acción de los antidepresivos</i> -----	49
3.4.1. Antidepresivos cíclicos -----	51
3.4.2. Inhibidores de la monoaminoxidasa -----	51
3.4.3. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina -----	52
3.4.4. Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina -----	53
3.4.5. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina -----	53
3.4.6. Inhibidores duales de la recaptación de noradrenalina y dopamina -----	54
3.4.7. Antagonistas de los receptores de 5-HT _{2A} e inhibidores la recaptación de serotonina ---	54
3.5. <i>Amitriptilina</i> -----	56
3.5.1. Farmacocinética y farmacodinámica de la amitriptilina -----	57
3.5.1.1. Farmacocinética de la amitriptilina -----	57
3.5.1.2. Farmacodinámica de la amitriptilina -----	58
3.5.2. Indicaciones terapéuticas y efectos secundarios de la amitriptilina -----	60
3.5.3. Amitriptilina y procesos cognitivos -----	61

3.5.3.1. Amitriptilina y procesos cognitivos en humanos -----	61
3.5.3.2. Amitriptilina y procesos cognitivos en animales -----	64
4. Memoria -----	67
4.1. <i>Introducción</i> -----	68
4.2. <i>Estadios de memoria</i> -----	70
4.2.1. Fases de la memoria -----	70
4.2.2. Tipos de memoria -----	75
4.3. <i>Neurobiología de la memoria</i> -----	79
4.3.1. Neuroanatomía de la memoria -----	81
4.3.2. Neuroquímica de la memoria -----	91
4.3.2.1. Sistema colinérgico -----	91
4.3.2.2. Sistema dopaminérgico -----	96
4.3.2.3. Sistema noradrenérgico -----	97
4.3.2.4. Sistema serotoninérgico -----	97
4.3.2.5. Sistema glutamatérgico -----	98
4.3.2.6. Sistema histaminérgico -----	99
4.3.2.7. Sistema GABAérgico -----	100
4.3.2.8. Hormonas -----	100
5. Evitación inhibitoria -----	103
5.1. <i>Introducción</i> -----	104
5.2. <i>Definición y características de evitación inhibitoria</i> -----	104
5.3. <i>Procedimientos de evitación inhibitoria</i> -----	106
5.3.1. Descenso de escalón -----	106
5.3.2. Test de dos compartimentos -----	108
5.3.3. Supresión de picoteo -----	109
5.3.4. Cruzar a través de -----	110
5.4. <i>Evitación inhibitoria y procesos de memoria</i> -----	113
5.4.1. <i>Introducción</i> -----	113
5.4.2. <i>Neuroanatomía de la memoria en evitación inhibitoria</i> -----	115
5.4.2.1. <i>Bases anatómicas de la memoria en evitación inhibitoria</i> -----	115
5.4.2.2. <i>Sistemas de neurotransmisión de la memoria en evitación inhibitoria</i> -----	120
 PARTE EXPERIMENTAL	
6. Objetivos e hipótesis -----	124
7. Efecto agudo de amitriptilina postentrenamiento en la evitación inhibitoria con dos intensidades de descarga eléctrica en ratones machos y hembras (Experimento 1) -----	132
7.1. <i>Introducción</i> -----	133
7.2. <i>Material y métodos</i> -----	135
7.2.1. <i>Sujetos</i> -----	135

7.2.2. Fármaco -----	135
7.2.3. Aparatos -----	136
7.2.4. Diseño experimental -----	137
7.2.5. Procedimiento -----	138
7.2.6. Análisis estadístico -----	141
7.3. <i>Resultados</i> -----	142
7.4. <i>Discusión</i> -----	153
8. Efecto agudo de amitriptilina pre y postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos (Experimento 2) -----	156
8.1. <i>Introducción</i> -----	157
8.2. <i>Material y métodos</i> -----	158
8.2.1. Sujetos -----	158
8.2.2. Fármaco -----	159
8.2.3. Aparatos -----	159
8.2.4. Diseño experimental -----	159
8.2.5. Procedimiento -----	159
8.2.6. Análisis estadístico -----	161
8.3. <i>Resultados</i> -----	162
8.4. <i>Discusión</i> -----	163
9. Efecto agudo de varias dosis de amitriptilina preentrenamiento y oxotremorina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 3) -----	166
9.1. <i>Introducción</i> -----	167
9.2. <i>Material y métodos</i> -----	168
9.2.1. Sujetos -----	168
9.2.2. Fármaco -----	169
9.2.3. Aparatos -----	169
9.2.4. Diseño experimental -----	169
9.2.5. Procedimiento -----	169
9.2.6. Análisis estadístico -----	170
9.3. <i>Resultados</i> -----	171
9.4. <i>Discusión</i> -----	175
10. Efecto agudo de varias dosis de oxotremorina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 4) -----	178
10.1. <i>Introducción</i> -----	179
10.2. <i>Material y métodos</i> -----	181
10.2.1. Sujetos -----	181
10.2.2. Fármaco -----	181
10.2.3. Aparatos -----	181
10.2.4. Diseño experimental -----	181

10.2.5. Procedimiento -----	182
10.2.6. Análisis estadístico -----	183
10.3. Resultados -----	183
10.4. Discusión -----	186
11. Efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 10 y 15 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.05 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 5) -----	190
11.1. Introducción -----	191
11.2. Material y métodos -----	193
11.2.1. Sujetos -----	193
11.2.2. Fármacos -----	193
11.2.3. Aparatos -----	193
11.2.4. Diseño experimental -----	193
11.2.5. Procedimiento -----	194
11.2.6. Análisis estadístico -----	195
11.3. Resultados -----	195
11.4. Discusión -----	201
12. Efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 7.5 y 10 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.1 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 6) -----	205
12.1. Introducción -----	206
12.2. Material y métodos -----	208
12.2.1. Sujetos -----	208
12.2.2. Fármacos -----	208
12.2.3. Aparatos -----	209
12.2.4. Diseño experimental -----	209
12.2.5. Procedimiento -----	209
12.2.6. Análisis estadístico -----	210
12.3. Resultados -----	210
12.4. Discusión -----	215
13. Efecto agudo de amitriptilina preentrenamiento y fisostigmina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 7) -----	219
13.1. Introducción -----	220
13.2. Material y métodos -----	222
13.2.1. Sujetos -----	222
13.2.2. Fármacos -----	222
13.2.3. Aparatos -----	222
13.2.4. Diseño experimental -----	222
13.2.5. Procedimiento -----	223
13.2.6. Análisis estadístico -----	224

<i>13.3. Resultados</i> -----	225
<i>13.4. Discusión</i> -----	229
14. Efecto agudo de amitriptilina preentrenamiento y varias dosis de fisostigmina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (Experimento 8) -----	233
<i>14.1. Introducción</i> -----	234
<i>14.2. Material y métodos</i> -----	235
14.2.1. Sujetos -----	235
14.2.2. Fármacos -----	235
14.2.3. Aparatos -----	236
14.2.4. Diseño experimental -----	236
14.2.5. Procedimiento -----	236
14.2.6. Análisis estadístico -----	238
<i>14.3. Resultados</i> -----	238
<i>14.4. Discusión</i> -----	243
15. Discusión general -----	248
16. Conclusiones -----	269
17. Referencias -----	272

1. INTRODUCCIÓN

El espíritu tan materialista que existe hoy en día, con su indiferencia hacia los sentimientos y las emociones, hace que la gente no esté dispuesta a permitir y a tolerar los trastornos del estado de ánimo; siendo unas de las enfermedades que ha ido aumentando en la actualidad, y siendo los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina han sido los psicofármacos más consumidos en los últimos años (Servicio Nacional de Salud, 2005). Además, los datos epidemiológicos indican que a lo largo de la vida el 5-12% de hombres y el 10-25% de mujeres, acaban padeciendo el llamado “trastorno depresivo mayor” (A.P.A., 2005).

Parece ser que existe una estrecha relación entre depresión y alteraciones de la memoria (Adler y cols., 2004; Allain y cols., 1995; Burt y cols., 1995; Clark y cols., 2005; Danion y cols., 1991; Riedel y van Praag, 1995), y si unimos a este hecho, el de los efectos secundarios que los antidepresivos pueden tener sobre la cognición (Amado-Boccaro y cols., 1995; Fudge y cols., 1990; Mirow, 1991; Riedel y Van Praag, 1995); entenderemos porqué existe necesidad de estudiar, con mayor profundidad, la influencia de estas sustancias en los procesos de aprendizaje y memoria en sujetos experimentales (Amado-Boccaro y cols., 1995). Es decir, los efectos que pueden tener los diferentes psicofármacos, en la anatomía de la memoria y también en los sistemas de neurotransmisión cerebrales (Barros y cols., 2002a; Bonini y cols., 2003; Both y cols., 2005; Egashira y cols., 2003; Ferreira y cols., 2003; Gold, 2003; Izquierdo y McGaugh, 2000; Lalumiere y cols., 2005; Li y cols., 2001; Metha y cols., 2005; Rossato y cols., 2004; Schneider y cols., 2003; Schroeder y Packard, 2004; Shim y cols., 2003; Williams y cols., 2004), destacando entre ellos el sistema colinérgico (Barros y cols., 2002; Hasselmo, 1999; Power y cols., 2003a; Power y McGaugh, 2002). La idea de Deutsch (1971) sobre el papel que juega el sistema colinérgico en el almacenamiento y retención de información durante un nuevo aprendizaje, ha sido cada vez más aceptada. Así, la hipótesis colinérgica formulada por Bartus y cols. (1982), estableció que la función

colinérgica del Sistema Nervioso Central, contribuye significativamente en los síntomas cognitivos asociados al envejecimiento y a la enfermedad de Alzheimer (Bartus, 2000). Es decir, este sistema de neurotransmisión juega un papel crucial en los procesos de aprendizaje y memoria (Singh y Parle, 2003). Por todo ello, la influencia de los fármacos que actúan sobre el sistema colinérgico es importante, ya que es un sistema que tiene componentes esenciales del circuito neural del aprendizaje y la memoria (Williams y Messer, 2004). Basándonos en lo mencionado, la presente tesis doctoral tiene como objetivo investigar la intervención del sistema colinérgico en el efecto producido por la administración aguda de amitriptilina en una tarea de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

La elección de este fármaco, la amitriptilina, se ha hecho centrándonos en el marco de los experimentos que se realizan en el grupo de investigación en el que se ha elaborado el presente trabajo. En dicho grupo se viene investigando, en los últimos años, los efectos de los antidepresivos sobre la memoria en ratones. Así, hemos estudiado los efectos agudos y crónicos de tres antidepresivos (amitriptilina, maprotilina y fluoxetina) en evitación inhibitoria en ratones de ambos sexos. La administración aguda de amitriptilina inmediatamente después del entrenamiento, deterioró la evitación inhibitoria en todas las dosis utilizadas (7.5, 15 y 30 mg/kg) en machos, y con la dosis más baja y alta en hembras (Parra y cols., 2002). La administración crónica durante 21 días de amitriptilina (30 mg/kg) anterior al test (con la última inyección administrada 24 horas antes del entrenamiento), produjo un claro déficit en machos, pero solamente un deterioro leve en hembras (Everss y cols., 2005). Cuando la amitriptilina se administró una vez consolidada la memoria, se observó que no tuvo influencia sobre la recuperación (Parra y cols., 2006). En el caso de la maprotilina, cuando es administrada en sujetos machos antes de la adquisición, no afectó a las latencias de cruce durante dicha sesión de adquisición con las dosis de 5, 10 y 20 mg/kg; y su conducta fue

deteriorada en la fase de test, ya que las latencias se redujeron con las dosis de 5 y 20 mg/kg. Cuando la maprotilina fue administrada después de la adquisición las latencias no fueron alteradas por ninguna de las dosis empleadas (Parra y cols., 2000). En otro estudio en el que se administraron de manera aguda seis dosis de maprotilina, que oscilaban entre 2.5 y 25 mg/kg en machos y hembras, se observó un deterioro de evitación inhibitoria en ambos sexos, siendo más pronunciado este efecto en machos (Vinader-Caerols y cols., 2006). Respecto a la fluoxetina, los datos obtenidos hasta ahora en administración aguda después de la adquisición, nos indican que no deteriora la memoria; mientras que la administración crónica produce un déficit significativo solamente en machos (Monleón y cols., 2001, 2002). Un estudio llevado a cabo para explorar la posible existencia de aprendizaje dependiente de estado (Overton, 1974), nos permite sostener que la administración aguda de amitriptilina produce déficit de memorización, que la maprotilina produce conjuntamente déficit de memorización y la facilitación de la ejecución, mientras que la fluoxetina no produce deterioro en el aprendizaje de evitación inhibitoria (Arenas y cols., 2006). Es relevante decir que nuestros estudios son los únicos en la Psicofarmacología de la memoria en animales que han empleado sujetos machos y hembras. Consideramos que hay razones importantes para evaluar el impacto de los antidepresivos en ambos sexos, ya que existen diferencias de sexo: (1) en la epidemiología de la depresión, teniendo mayor incidencia en mujeres que en hombres (A.P.A., 2005; Kornstein, 1997); (2) en la eficacia de algunos antidepresivos como la maprotilina y la fluoxetina (Martényi y cols., 2001); y finalmente, (3) en farmacocinética y farmacodinámica entre hombres y mujeres, incluyendo los antidepresivos (Frackiewicz y cols., 2000; Gandhi y cols., 2004).

Para la realización de esta investigación hemos empleado el condicionamiento de evitación inhibitoria. Se ha elegido este procedimiento sencillo y efectivo, porque es una de las pruebas utilizadas con más frecuencia por la comunidad científica para el

estudio de la intervención farmacológica en los procesos de aprendizaje y memoria (Barros y cols., 2005; Bammer, 1982; Bonini, 2005; Clayton y Williams, 2000; Da-Cunha y cols., 1999; Everss y cols., 2005; Farkas y Crowe, 2000; Ferreira y cols., 2003; Flood y Cherkin, 1987; Hozumi y cols., 2003; Introini-Collison y cols., 1992; Lalumiere y cols., 2004; Lee y cols., 1992; Kumar y Kulkarni, 1996; Monleón y cols., 2002; Paratcha y cols., 2000; Parra y cols., 2006; Shim y cols., 2003; Souza y cols., 2004; Takeuchi y cols., 1997; Winocur y Hasher, 1999). Este procedimiento fundamentalmente consiste en que el animal inhiba una conducta particular, generalmente innata (respuesta incondicionada), al ver una luz u oír un sonido (estímulo condicionado), para evitar un acontecimiento nocivo, que habitualmente es una descarga eléctrica (estímulo incondicionado).

En nuestro estudio se han empleado ratones machos y hembras, aunque en la mayor parte de los estudios realizados en investigación animal, se utilizan solo sujetos machos (Boccia y cols., 2005; Bonini y cols., 2005; Lalumiere, y cols., 2004; Martos y cols., 1999; Sansone y cols., 1999; Uhr y cols., 2000). Las principales razones de incluir ambos sexos son las mencionadas anteriormente, y también de aumentar el grado de representatividad de nuestras preparaciones de laboratorio: la naturaleza incluye a machos y hembras.

En los párrafos siguientes se presenta el contenido de los demás capítulos de esta tesis doctoral.

En los primeros apartados que se exponen a continuación, se realiza un resumen sobre los tipos de depresión, sus bases biológicas, tratamientos, diferencias de sexo y cómo actúan en la memoria (*apartado 2*). Se explican los principales antidepresivos, con sus características más relevantes, con sus efectos terapéuticos y secundarios,

mecanismos de acción; estudiando con más detalle el fármaco que hemos utilizado, la amitriptilina, y cómo influye en los procesos cognitivos (*apartado 3*). También se recogen los principales tipos y fases de la memoria, junto con las bases anatómicas y sistemas de neurotransmisión implicados en la memoria (*apartado 4*). Se explica de forma general, los procedimientos empleados en la evitación inhibitoria, cómo actúa en los procesos cognitivos y cuál es la neuroanatomía de la memoria en este tipo de tarea (*apartado 5*). Además, se plantean los objetivos e hipótesis del presente estudio (*apartado 6*). A continuación, se presentan los resultados obtenidos para evaluar el impacto de la amitriptilina sobre el sistema colinérgico, recogiendo la contribución experimental de esta tesis doctoral (*apartados 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14*).

En el Experimento 1 se estudió el efecto agudo de amitriptilina postentrenamiento en la evitación inhibitoria con dos intensidades de descarga eléctrica en ratones machos y hembras (*apartado 7*), viendo cual ha sido su actuación en la consolidación de la memoria. Además, en el Experimento 2 se analizó el efecto agudo de amitriptilina pre y postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos (*apartado 8*), completando así los resultados obtenidos en el experimento anterior sobre la consolidación y una primera aproximación para evaluar cómo ha actuado sobre la adquisición en dicho proceso de aprendizaje y memoria. Para pulir resultados, en el Experimento 3 se observó el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina preentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 9*); donde su efecto deteriorante sobre la adquisición se ha ratificado al observar el alcance de las diversas dosis utilizadas.

Cuando los resultados obtenidos con la amitriptilina, son más concluyentes indicándonos déficit de memoria, es relevante en el siguiente experimento presentar un fármaco que tiene una acción sobre el sistema colinérgico opuesta a la de la amitriptilina

con una posible actuación favorecedora en los procesos de aprendizaje. Por lo que, en el Experimento 4 se analizó el efecto agudo de varias dosis de oxotremorina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 10*). Al encontrar que existía cierto beneficio o tendencia a mejorar la memoria cuando hablamos de dicha sustancia, en el Experimento 5 se estudió el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 10 y 15 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.05 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 11*); para ver si este agonista colinérgico contrarrestaba el déficit que ocasiona el antidepresivo. Uniendo estos resultados a los del siguiente experimento, decidimos ampliar la dosis; por ello, en el Experimento 6 se analizó el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 7.5 y 10 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.1 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 12*).

Con la utilización de otras dosis de ambos fármacos, hemos esperado obtener resultados estadísticamente significativos de recuperación; sin embargo, no ha sido con lo que nos hemos encontrado. Por lo que, en los siguientes experimentos de la presente tesis, ha sido adecuado introducir otro fármaco agonista colinérgico que frecuentemente contrarresta el deterioro de memoria producido por diversas manipulaciones experimentales (o agentes farmacológicos). Para ello, en el Experimento 7 se evaluó el efecto agudo de amitriptilina preentrenamiento y fisostigmina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 13*). Al ser estos resultados más satisfactorios, en el último experimento hemos ampliado la cantidad de dosis utilizadas de fisostigmina, y así hemos corroborado su efecto de contrarrestar el deterioro que ha provocado el antidepresivo. En el Experimento 8 se analizó el efecto agudo de amitriptilina preentrenamiento y varias dosis de fisostigmina

postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras (*apartado 14*).

Por último y para finalizar, los *apartados 15, 16 y 17* están dedicados a la discusión general, conclusiones y referencias bibliográficas consultadas para la elaboración de dicha tesis doctoral, respectivamente.

2. DEPRESIÓN

2.1. INTRODUCCIÓN

La depresión es una emoción universalmente experimentada por prácticamente todas las personas en algún momento de su vida. Distinguir entre la emoción “normal” de depresión y una enfermedad que requiere tratamiento médico es, a menudo, problemático para aquellos que no están formados en las ciencias de la salud mental (Stahl, 2002). Las bajadas de ánimo pasajeras que todo el mundo experimenta no merecen una categoría diagnóstica, y es probable que jueguen algún papel adaptativo en nuestra interacción con el ambiente o en la regulación del medio interno (Parra, 1997). Incluso para la depresión, entendida como estado patológico, se ha sugerido un papel adaptativo (Nesse, 2000).

La depresión clínica posee diversos síntomas. Junto a las ideas suicidas, algunas personas experimentan un sentimiento de culpabilidad o de inutilidad. A menudo la mente se torna en blanco, con dificultad para pensar o recordar, perdiendo interés por lo que se hace. Amén de una sensación de ansiedad o de falta de energía vital características, cuesta comer o dormir, cuando no se cae en el extremo opuesto de comida y descanso excesivos (Nemeroff, 1998).

Estudios epidemiológicos de países occidentales afirman que la depresión es el trastorno mental más común entre los humanos (Lehtinen y Joukkamaa, 1994). Aproximadamente, un 4% de hombres y un 8% de mujeres padecen dicha patología; tan solo un tercio de éstos recurren a un tratamiento específico (Vallejo, 1994). Si nos centramos exclusivamente en datos españoles el 20% de las personas que reciben atención primaria padecen algún trastorno depresivo; en éstas, el 5% sufren depresión mayor, el 5% muestran episodios depresivos leves, y el 10% restante presentan síntomas depresivos de distinta naturaleza; además este trastorno se ha diagnosticado

por debajo de su prevalencia real y en muchas ocasiones se ha infratratado (Alonso y cols., 1997). También, es importante decir que, dicho trastorno depresivo a veces se puede dar o puede estar relacionado con diversos trastornos psicológicos o físicos, como son: ansiedad, anorexia nerviosa, trastorno obsesivo-compulsivo, problemas reumáticos, síndrome de fatiga crónica, cáncer, esclerosis múltiple, etc. (Farabaugh y cols., 2005; Galeazzi y cols., 2005; Holtkamp y cols., 2005; Matsushita y cols., 2005; Vaeroy y cols., 2005).

2.2. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA DEPRESIÓN

La Asociación de Psiquiatría Americana (A. P. A.) considera que una persona tiene el síndrome de depresión clínica o episodio depresivo mayor si muestra, por lo menos, cinco de los síntomas que aparecen en el Cuadro 2.a., de forma ininterrumpida a lo largo de un periodo de dos semanas. Los síntomas deben causar un pesar profundo o una alteración significativa de la actividad diaria (social, laboral, etc.), sin que guarden relación con la medicación, consumo de drogas, una enfermedad (patologías del tiroides) o la pérdida de un ser querido.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Ánimo deprimido la mayor parte del día.• Notable disminución del interés o gusto en todas o en la mayoría de las actividades diarias.• Aumento o disminución desproporcionada del apetito.• Insomnio o sueño excesivo.• Agitación (evidente por el modo de frotarse las manos) o lentitud en los movimientos.• Cansancio inexplicable o pérdida de energía.• Sentimientos de inutilidad o de culpabilidad.• Indecisión o capacidad disminuida para pensar o concentrarse.• Pensamientos recurrentes de muerte o de suicidio. |
|--|

Cuadro 2.a. Criterios para definir el episodio depresivo mayor. Adaptado de A.P.A. (2005).

Se utilizan criterios diagnósticos aceptados y estandarizados de los trastornos del estado de ánimo, tales criterios están en constante evolución, estableciéndose las nosologías actuales a partir del DSM-IV (*Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders*) en Estados Unidos y del ICD-10 (*International Classification of Diseases*) en otros países.

La clasificación de los trastornos del estado de ánimo proporcionadas en el DSM-IV se puede ver en el Cuadro 2.b.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Trastornos depresivos:<ul style="list-style-type: none">- Trastorno depresivo mayor.- Trastorno distímico.- Trastorno depresivo no especificado.• Trastornos bipolares:<ul style="list-style-type: none">- Trastorno bipolar I.- Trastorno bipolar II.- Trastorno ciclotímico.- Trastorno bipolar no especificado.• Otros trastornos del estado de ánimo:<ul style="list-style-type: none">- Trastorno del estado de ánimo debido a ... (indicar enfermedad médica).- Trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias.- Trastorno del estado de ánimo no especificado. |
|--|

Cuadro 2.b. Clasificación de los Trastornos del Estado de Ánimo según el DSM-IV (A.P.A., 2005).

Cada vez la edad de inicio es más precoz, pero es entre los 20 y los 40 años cuando es más probable padecer depresión que de no tratarse, puede conducir al suicidio (Stahl, 2002). Sin embargo, este trastorno también se da en niños y adolescentes, en una proporción considerable, con sintomatología parecida a la descrita en los adultos y de similares consecuencias (Son y Kirchner, 2000). En estudios de diferentes culturas, la

depresión presenta rasgos comunes y una prevalencia similar, lo cual demuestra que es algo universal (Al-Windi, 2005; Doris y cols, 1999; Niklson y Reimitz, 2001).

Según Stahl (2002) hasta épocas recientes se sabía muy poco sobre las repercusiones que ocasionaba la ausencia de tratamiento de la depresión. Ahora se cree que la mayoría de los episodios de depresión no tratados duran de 6 a 24 meses (Figura 2.1.). Quizá solo en un 5 o 10 % de los casos no tratados los episodios se prolongan más de 2 años. Se emplean tres términos para describir la mejora de un paciente después del tratamiento con un antidepresivo: respuesta, remisión y recuperación. Generalmente el término “respuesta” significa que el paciente deprimido ha experimentado al menos un 50% de reducción en los síntomas evaluados mediante una escala psiquiátrica estándar como la escala de depresión de Hamilton (Figura 2.2.). Esto generalmente se corresponde con una puntuación clínica global que indica que el paciente ha mejorado mucho. El término “remisión”, se utiliza cuando prácticamente todos los síntomas han desaparecido, y no solo el 50% de ellos (Figura 2.3.). El paciente no solo está mejor, sino realmente bien. Si esto dura de 6 a 12 meses, se considera que la remisión es ya “recuperación” (Figura 2.3.).

También se utilizan dos términos más para describir el empeoramiento en un paciente con depresión: recaída y recurrencia (recidiva). Si un paciente empeora antes de que se dé una remisión completa, o antes de que la remisión se haya convertido en recuperación, se habla de “recaída” (Figura 2.4.). Sin embargo, si un paciente empeora unos meses después de la recuperación completa, se habla de “recurrencia” (Stahl, 2002). Lo que es evidente es que la depresión es una patología crónica (Montgomery y cols., 2001) que requiere un tratamiento continuado de psicoterapia y farmacoterapia para su control (Dunner, 2001; Pelkonen y Marttunen, 2005).

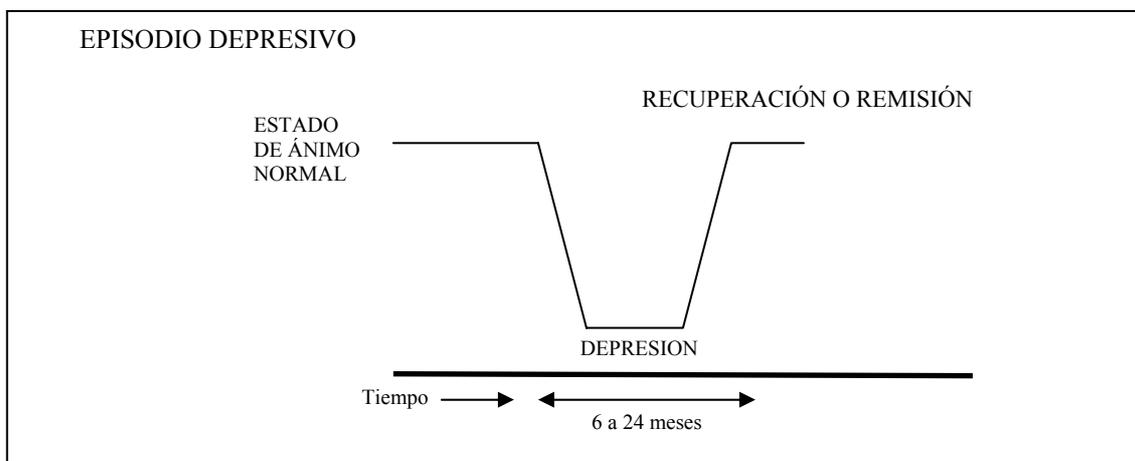


Figura 2.1. La depresión es episódica, con episodios no tratados que duran habitualmente entre 6 y 24 meses, seguidos de *recuperación* o de *remisión*. Adaptado de Stahl, 2002.

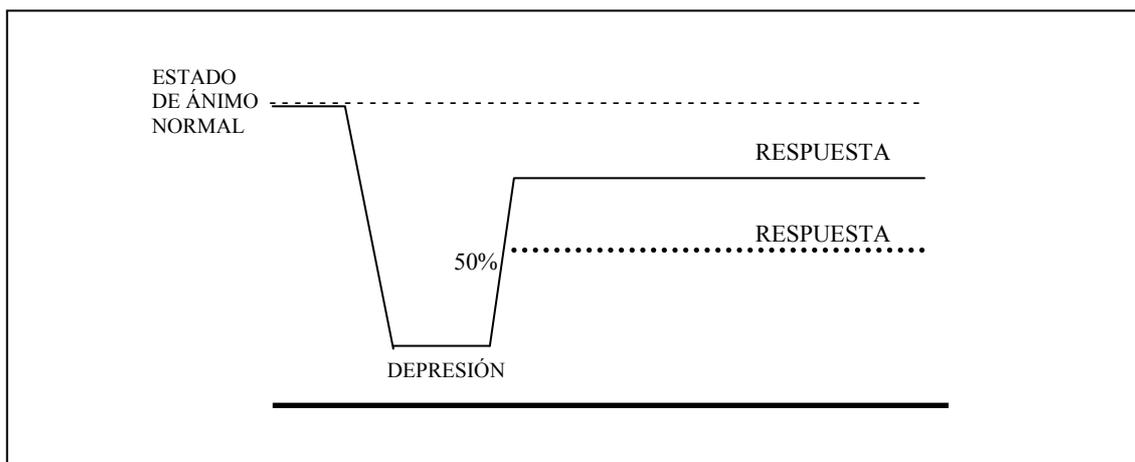


Figura 2.2. Cuando el tratamiento de la depresión da como resultado al menos un 50% de mejora en los síntomas, se denomina *respuesta*. Estos pacientes están mejor, pero no bien. Adaptado de Stahl, 2002.

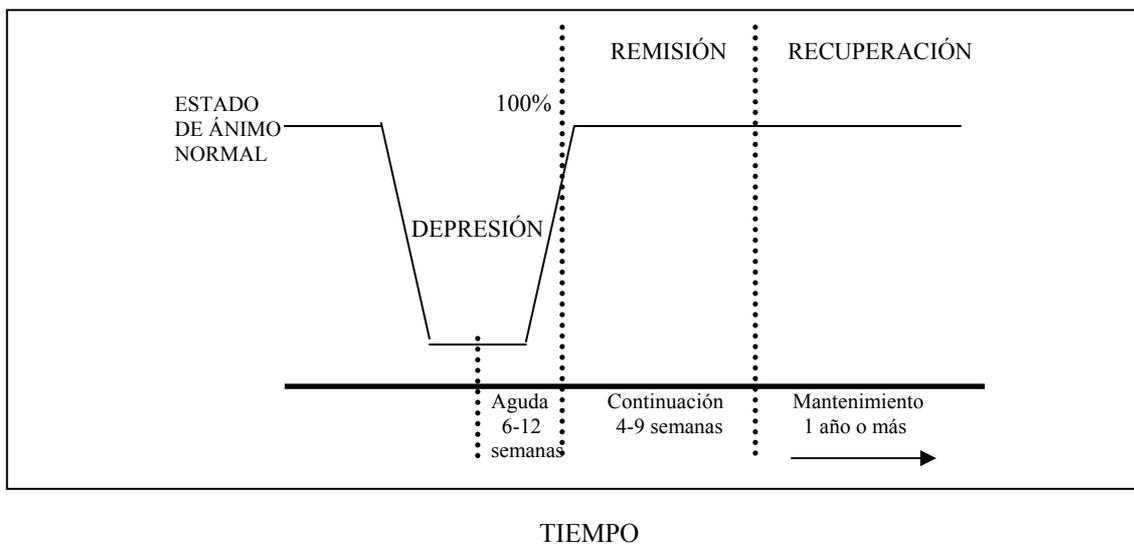


Figura 2.3. Cuando el tratamiento de la depresión da como resultado la desaparición de prácticamente todos los síntomas, se denomina *remisión* durante los primeros meses, y luego *recuperación* si se mantiene durante más de 6 a 12 meses. Estos pacientes no se limitan a estar mejor: están bien. Adaptado de Stahl, 2002.

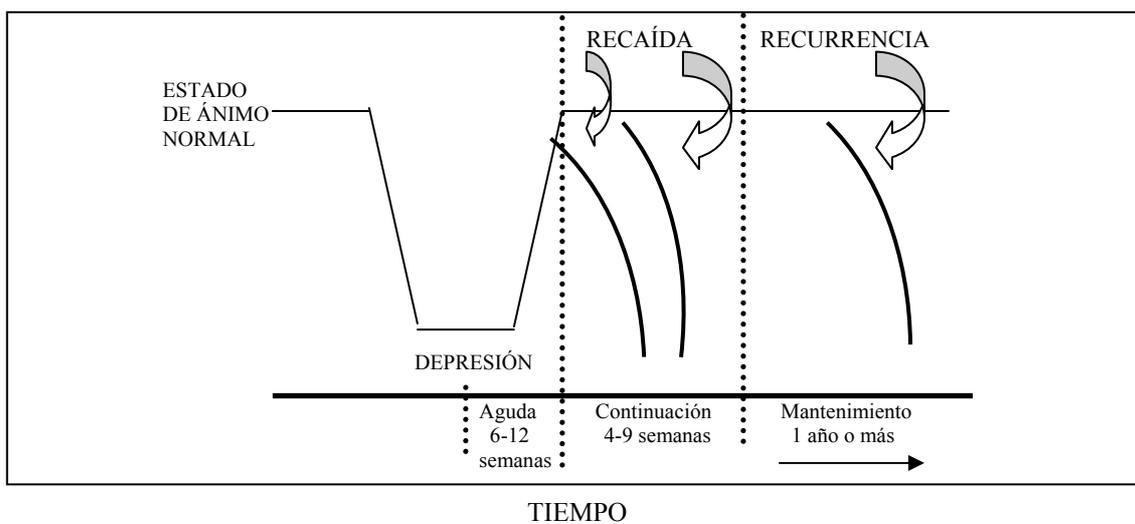


Figura 2.4. Cuando la depresión vuelve antes de que se dé una remisión completa de los síntomas o dentro de los primeros meses posteriores a la remisión de los síntomas, se denomina *recaída*. Cuando la depresión vuelve después de que el paciente se haya recuperado, se denomina *recurrencia*. Adaptado de Stahl, 2002.

2.3. BASES BIOLÓGICAS DE LA DEPRESIÓN

Parece ser que existe riesgo de desorden neurológico en la depresión (Kanner, 2005). La teoría bioquímica sobre los trastornos del estado de ánimo más aceptada es la teoría amínica de la depresión (Roth, 1993), que une la teoría catecolaminérgica, la cual sostiene que la depresión se produce como consecuencia del déficit de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), y la teoría de las indolaminas, que defiende el déficit de serotonina (5-HT) como responsable de la depresión. Posteriormente, más que un déficit de noradrenalina (NA), se defendió una deficiente regulación de la misma atendiendo a la regulación a la baja producida por la mayoría de los antidepresivos en los receptores β -adrenérgicos (Sulser y cols., 1978). Por lo tanto, la depresión provoca cambios en el sistema de neurotransmisión monoaminérgico (Xu y cols., 2005).

De todos modos, existen pruebas que verifican el déficit de dichos neurotransmisores como una de las causas posibles de la depresión:

1. La acción antidepresiva eficaz de los inhibidores de la recaptación de monoaminas (como los tricíclicos) y la de los IMAOs, junto a la acción de la reserpina que provoca un brusco descenso en el nivel de monoaminas, refuerza la teoría catecolaminérgica de la depresión, así como el hecho de que los antidepresivos no actúan sobre un único sistema monoaminérgico (Miller y cols., 1996).
 2. La efectividad de los inhibidores específicos de la recaptación de 5-HT como fármacos antidepresivos (Charney y cols., 1981), así como los hallazgos obtenidos con estudios de neuroimagen que apoyan el daño en la transmisión serotoninérgica (Mann y cols., 1996). También algunas investigaciones permiten demostrar la importancia de la 5-HT (Graeff y cols., 1996; Maes y Meltzer,
-

1995) y de la NA (Schatzberg y Schilkraut, 1995) en la depresión (Blier y cols., 2001; Delgado y Moreno, 2000; Drevets, 2000; Naughton y cols., 2000; Ressler y Nemeroff, 1999, 2000; Racagni, 2001). El llamado “síndrome serotoninérgico” (Sternbach, 1991), que se presenta como resultado de combinar un inhibidor selectivo de la recaptación de 5-HT con otro fármaco que también posea esta acción como el litio o un IMAO, podría representar para algunos el correlato físico y objetivo del incremento de 5-HT inducido por los antidepresivos administrados en un tratamiento, aunque son necesarias más investigaciones (Lejoyeux y cols., 1995).

3. La interrelación entre ambos sistemas está más que demostrada en la patofisiología de la depresión y así, por ejemplo, para que se produzca la regulación a la baja de los receptores β -adrenérgicos, las vías serotoninérgicas deben estar intactas (Brunello y cols., 1982). Sin embargo, se debe tener en cuenta, que el bloqueo monoaminérgico no explica toda la teoría y que en realidad no está claro que sea el bloqueo de dicha recaptación la base de la mejoría clínica observada. También preocupa extraordinariamente el largo intervalo que se requiere para observar efectos a nivel clínico con cualquiera de los grupos de antidepresivos que se utilicen, para algunos entre 1-3 semanas tras el tratamiento (Roth, 1993), para otros entre 4-6 semanas (Escande y cols., 1995). La paradoja consiste en que, mientras la inhibición de la recaptación se produce inmediatamente, en la clínica humana la demora de los efectos es cuestión de semanas (Allain y cols., 1995).

Además de las hipótesis que implican a los neurotransmisores ya mencionados, se investigan otras, como la hipótesis dopaminérgica de la depresión. Se considera que en algunos tipos de depresiones ciertos metabolitos de la dopamina (DA), como el ácido

homovanílico y el ácido dihidroxifenilacético, están disminuidos (Ballús y Gastó, 1992; Syvalahti, 1994). Posteriores estudios relacionaron también DA y depresión (Elbert y cols., 1996; Kapur y Mann, 1992; Willner, 1983, 1995), ya que hay un deterioro de la DA cuando está presente dicha enfermedad (Park y cols., 2005) y; de hecho, algunos de los nuevos antidepresivos actúan inhibiendo la recaptación de DA, como el bupropion y la nomifensina. El mayor apoyo para la relación de la DA con los trastornos del estado de ánimo se encuentra en la evidencia de que la transmisión de DA mejora tras el tratamiento crónico con antidepresivos (Willner, 1995). También se ha postulado que su acción estaría mediatizada por la actuación de los terminales serotoninérgicos y noradrenérgicos (Tassin, 1994).

La hipótesis colinérgica en la década de los 70, relaciona la depresión con un desajuste entre el equilibrio colinérgico y el adrenérgico que produciría un aumento de acetilcolina (ACh) (Janowsky y Overstreet, 1995); y hoy en día, también se sigue pensando que la depresión aumenta la cantidad de acetilcolina en nuestro cerebro (Pivovarov y cols., 2005). De hecho, los antagonistas muscarínicos tienen propiedades antidepresivas, mientras que los agonistas producirían síntomas depresivos (Dilsaver y Coffman, 1989).

Otros autores postulan la participación del ácido gamma-amino butírico (GABA) en la depresión (Bajbouj y cols., 2006b; Sanacora y cols., 2006), por la influencia de determinados receptores GABA en la liberación de NA y por las propiedades antidepresivas de algunos agonistas GABAérgicos, como las benzodiazepinas, etc. (Petty y cols., 1995). Es decir, disminuyen estos neurotransmisores cuando se desarrolla dicha enfermedad (Bajbouj y cols., 2006b).

Algunos autores relacionan la depresión y el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) (Kunugi y cols., 2006; Nikisch y cols., 2005), cuyo desorden incrementaría la secreción del factor liberador de corticotropina (FLC), lo que a su vez estimularía a la hormona adrenocorticotropa que conllevaría a la liberación de cortisol (Bateman y cols., 1989; Brown y cols., 1999; Checkley, 1996). De hecho, los síntomas depresivos y los ocasionados por la disfunción de este eje en los seres humanos, remiten con antidepresivos (Pariante, 2004; Holsboer, 1999), normalizando su actividad (Nikisch y cols., 2005) y en pacientes con depresión crónica (O'Keane y cols., 2005). Hay muchos estudios que relacionan el FLC y el sistema inmunitario con la depresión y el estrés crónico (Leonard y Song, 1996).

Los estudios de neuroimagen y de electrofisiología, junto con las investigaciones clínicas de lesiones cerebrales, detallan las áreas cerebrales que se encuentran afectadas en el cerebro de las personas deprimidas (Doris y cols., 1999) y con técnicas especiales y sofisticados modelos animales, también la expresión de genes que están asociados con rasgos particulares de los antidepresivos y de los cambios adaptativos en el cerebro (Yamada e Higuchi, 2002). Drevets (2000, 2001) defiende que las anomalías que se dan en los trastornos del estado de ánimo implican, por un lado, al sistema límbico-talámico-cortical (que incluye la amígdala, el tálamo medial, la corteza prefrontal medial y orbital) y, por otro lado, el sistema límbico-cortical-estriado-pálido-talámico (que implica componentes del circuito anterior junto con partes del estriado y del pálido). Muchos estudios también han corroborado el papel esencial de la corteza (prefrontal, parietal y anterior) y de la amígdala en la depresión (Davidson y cols., 1999; Drevets, 2000, 2001; Drevets y cols., 1997; Elliott, 1998; Rajkowska, 2000).

Podemos concluir que en la actualidad, las explicaciones sencillas que señalan como responsable de la depresión a una única dimensión (e.g. la disminución de

neurotransmisores) deben ser reconsideradas; por lo que, se sigue investigando la relación de la depresión con las actividades moleculares, los segundos mensajeros, el calcio, los factores de transcripción y demás cambios celulares, los cambios hipocampales y de la corteza frontal, la regulación del eje HPA, etc. (Bajbouj y cols., 2006a, 2006b; Barros y cols., 2002b; Hindmarch, 2001; Kunugi y cols., 2006; Nikisch y cols., 2005; O'Keane y cols., 2005; Pariante, 2004; Park y cols., 2005; Pivovarov y cols., 2005; Wong y Licinio, 2001; Xu y cols., 2005).

2.4. TRATAMIENTO DE LA DEPRESIÓN

En principio, se puede decir que la mayoría de los pacientes con depresión que acuden a las consultas de atención primaria pueden ser tratados de forma ambulatoria. En el inicio del tratamiento, uno de los primeros pasos que se debe llevar a cabo es el asesoramiento informativo, educativo y comprensivo. La información a los pacientes y su familia sobre las características clínicas de la enfermedad y la respuesta al tratamiento deben abordarse de forma comprensiva y eficiente. Una vez que se ha instruido al paciente y sus familiares acerca de la enfermedad, el paso siguiente se centra en la cuestión de si hay que encomendar un tratamiento con fármacos antidepresivos. Es decir, se puede afirmar que los fármacos antidepresivos son el pilar fundamental del tratamiento, pero no el único, por lo que los principales tratamientos para la depresión son los medicamentos antidepresivos, la psicoterapia y la combinación de estos fármacos y dicha terapia psicológica. En la actualidad, la mayoría de los expertos coinciden en señalar que el tratamiento de la depresión se debe realizar mediante la combinación del tratamiento farmacológico y la intervención psicoterapéutica (e.g. Glick, 2005; Hollon y cols., 2005). A continuación, se describen algunas de las terapias alternativas a los antidepresivos, ya que en el punto siguiente de esta tesis doctoral se hablará ampliamente sobre estos fármacos.

Basándonos en Rehm (1995), podemos decir que los tratamientos de la depresión se clasifican en cuatro grupos fundamentales: (1) los programas conductuales dirigidos al aumento de la actividad y a la recepción de refuerzo, (2) los programas de entrenamiento en habilidades, (3) la terapia cognitiva de Beck y (4) los programas de auto-control.

El papel central de los **programas conductuales** es promover cambios ambientales, que posibilitan un aumento en la recepción de estímulos positivos y una mejora de las habilidades personales para poder acceder a más estímulos reforzantes. Estos programas pretenden que el paciente mejore su exposición a estímulos positivos, lo que origina una mejora de su estado de ánimo.

Los **programas de entrenamiento en habilidades sociales**, constituyen una parte de los programas conductuales. Lo que pretenden es mejorar las habilidades del paciente, para obtener más y mejores estímulos positivos. Para ello, el entrenamiento en habilidades sociales, en la búsqueda del refuerzo social, o la mejora en la puesta en marcha de las habilidades existentes es fundamental.

La **terapia cognitiva** es uno de los tratamientos más ampliamente utilizados. Su punto fundamental estriba en considerar que la depresión es debida a la distorsión que de la realidad (de uno mismo, de los demás y del futuro) hace el paciente, debido a la activación y puesta en marcha de unos esquemas cognitivos que generan dichas distorsiones, además de otros productos como los pensamientos automáticos. Beck y Greenberg (1979) distingue tres objetivos generales en el tratamiento del síndrome depresivo:

-
1. Modificación de los síntomas objetivos, que consiste en tratar los componentes cognitivos, afectivos, motivacionales, conductuales y fisiológicos que conforman el síndrome.
 2. Detección y modificación de los pensamientos automáticos, como productos de las distorsiones cognitivas.
 3. Identificación de los supuestos personales y modificación de los mismos.

En resumen, los objetivos de tratamiento van dirigidos a la modificación del estado depresivo, desde los factores más sintomáticos (interrelaciones entre cogniciones-afectos-conductuales) a los factores “subyacentes” de tipo cognitivo (distorsiones y supuestos personales).

Los **programas de autocontrol** se dividen en tres fases:

1. La fase de *autoobservación*, que trata de enseñar al paciente la relación entre el estado de ánimo y sus actividades positivas y negativas. Este material es utilizado para enseñar al paciente la relación entre actividades y estado de ánimo, e irles introduciendo en las diferencias entre refuerzos inmediatos y a largo plazo.
 2. La fase de *autoevaluación*, se dirige a que la persona aprenda a establecer metas u objetivos más acordes con la posibilidad real de alcanzarlos. Enseñarle a decir con precisión las metas, el establecimiento de submetas, así como la distinción entre los factores que dependen de su actividad y los que dependen de otros, constituyen los elementos esenciales.
-

-
3. La fase de *autoreforzo*, trata de que los pacientes sean capaces de reforzarse positivamente por las actividades adecuadas que realizan. Para disponer de estímulos positivos a usar mediante auto-refuerzo, se elaboran para cada paciente listas de pensamientos y actividades positivas (Vallejo, 1998).

Se acaban de exponer, de manera muy resumida, las intervenciones psicoterapéuticas conductuales más utilizadas; pero además, existen otras medidas terapéuticas que también son efectivas en el tratamiento de la depresión como: (1) la terapia electroconvulsiva, (2) la fototerapia, (3) la privación del sueño, (4) el hipérico y (5) el ejercicio físico.

En la **terapia electroconvulsiva**, el paciente es anestesiado y sus músculos paralizados con una sustancia química, la sacudida eléctrica produce una convulsión semejante a un ataque epiléptico y unas pocas convulsiones pueden aliviar los síntomas depresivos cuyo mecanismo de acción, aún hoy, es un misterio (Fink, 2001), aunque se cree que con esta terapia se incrementa el sistema GABAérgico cuando se aplica en personas deprimidas (Bajbouj y cols., 2006a). Si bien, con la aparición de los psicofármacos su uso disminuyó, más tarde se recuperó, y hoy en día sigue evitando los suicidios de las personas que no mejoran con antidepresivos (e.g. ancianos deprimidos) (Gareri y cols., 2000). Incluso, es el tratamiento que en mayor medida mejora la calidad de vida de los pacientes hospitalizados (McCall y cols., 2001). También se puede emplear para la depresión mayor: es necesaria la administración posterior de antidepresivos para evitar recaídas (Sackeim y cols., 2001) y para la depresión posparto (Clayton, 1998), aunque se es consciente de los problemas de memoria que esta terapia conlleva (Fink, 2001). En la mayoría de los estudios se ha confirmado que presenta las mismas propiedades terapéuticas que los antidepresivos, e incluso comparte con ellos efectos sobre la plasticidad sináptica hipocampal en ratas (Vaidya y cols., 2000). En la

actualidad es un tratamiento que aún se considera efectivo para la depresión y para prevenirla (Dombrowski y cols., 2005; Sanacora y cols., 2006), y que también se aplica junto con la administración de fármacos (Aziz y cols, 2005).

El uso de una luz artificial de elevada intensidad parece ser útil en el tratamiento del trastorno afectivo estacional (depresión invernal). La **fototerapia** es un tratamiento muy empleado y efectivo para tratar dicho trastorno afectivo estacional (Ciesielczyk y cols., 2004; Swiecicki y cols., 2005; Wileman y cols., 2001) que se manifiesta por hipersomnia, hiperfagia y cansancio. La fototerapia se emplea también para tratar la depresión posparto (Clayton, 1998). Tiene su base en que la luz actúa como un marcador (o zeitgeber) que sincroniza la actividad del reloj biológico del ciclo día-noche. Los ritmos circadianos están controlados por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Se hipotetiza que las personas que sufren este trastorno necesitan un marcador más intenso de lo normal para poner en hora su reloj biológico (Carlson, 2006). Hay evidencia de que la luz matinal es más eficaz para el alivio de la depresión que la vespertina, al influir en el ritmo de la melatonina (Terman y cols., 2001).

La observación algo paradójica de que la **privación del sueño**, especialmente durante la segunda mitad de la noche, produce una mejoría temporal de la depresión ha sido un tema de investigación, aunque no se ha podido establecer su valor clínico. La alteración del sueño está presente como síntoma en la depresión, mientras que las personas con depresión reactiva (aquella en la que los factores ambientales explican el inicio de la depresión) tienden a presentar hipersomnia, aquellas con depresión endógena tienen el sueño poco profundo, con reducción del sueño de ondas delta (estadios 3 y 4) y un incremento del estadio 1, tendencia a despertarse con frecuencia y cuyo sueño MOR (movimiento ocular rápido) se produce antes y con mayor proporción de episodios en la primera mitad de la noche. El tratamiento consiste en despertar al

sujeto deprimido cuando entra en esta fase (es una privación del sueño selectiva). Estas personas, al igual que ocurre con la toma de antidepresivos, necesitan esperar varias semanas para notar la mejoría que en algunos casos es duradera. También se puede mantener una noche despierto a la persona deprimida (privación total de sueño) en cuyo caso el efecto terapéutico es inmediato (hay una mejora de los síntomas tras una única noche de privación de sueño en un 60% de los casos), pero en cuanto recupera su patrón normal de sueño, los síntomas depresivos reaparecen (Kuhs y Tolle, 1991).

El **hipérico** es una planta silvestre medicinal, sobre la que se han realizado estudios tanto en humanos como en animales, que corroboran su perfil antidepresivo y su recomendación para aliviar los síntomas de las depresiones (Di Carlo y cols., 2001; Francis, 2005; Greeson y cols., 2001; Linde y cols., 2005; Millar, 2005). Philipp y cols. (1999) comprobaron que tomar 350 mg tres veces al día de hipérico era tan efectivo como tomar 100 mg/día del antidepresivo tricíclico imipramina. Su administración crónica, al igual que ocurre con otros antidepresivos, conlleva cambios en los receptores β -adrenérgicos y en la densidad de los receptores serotoninérgicos 5-HT₁ y 5-HT₂ en la corteza cerebral de ratas (Teufel-Mayer y Gleitz, 1997). Su administración reduce los niveles plasmáticos, al igual que el tratamiento con amitriptilina (Johns y cols., 2001), el antidepresivo tricíclico objeto de estudio de la presente tesis doctoral.

Según Babyak y cols. (2000) el **ejercicio físico** puede ser un buen tratamiento para la depresión mayor, cuyo beneficio se mantendría incluso tras 10 meses. Sin embargo, tras una revisión sobre el tema Lawlor y Hopker (2001) concluyen que son necesarias más investigaciones para determinar la efectividad del ejercicio. Lo que sí se ha comprobado es que la combinación de antidepresivos y actividad física aumenta la expresión del factor neurotrófico cerebral (Russo-Neustadt y cols., 2001). Además,

estudios actuales muestran que la actividad física previene en gran medida los trastornos depresivos (Chou y cols, 2005; Karmisholt y Gotzsche, 2005).

Éstas son algunas de las terapias alternativas o complementarias para el tratamiento de la depresión que tienen una base científica y cuyos beneficios han sido comprobados por diversos investigadores, pero también hay otras terapias de gran aceptación social como la acupuntura, la aromaterapia, la hipnoterapia, los masajes, la musicoterapia, la homeopatía, la naturopatía, etc. (Ernst y cols., 1998).

2.5. DIFERENCIAS DE SEXO EN LA DEPRESIÓN

Existen claras diferencias de sexo en la epidemiología de la depresión corroboradas a lo largo de muchas investigaciones y revisiones (e.g. Culbertson, 1997; Kornstein, 1997; Kornstein y cols., 2000; Piccinelli y Wilkinson, 2000; Weissman y Klerman, 1977, 1985; Weissman y cols., 1984, 1993), y actualmente siguen haciéndose numerosos estudios, sobre las diferencias de sexo dentro de dicho trastorno, tanto en humanos como en animales (e.g. Benazzi, 2006; Bennett y cols., 2005; Brownhill y cols., 2005; Cook y cols., 2005; Drosspoulou y cols., 2004; Esel y cols., 2005; Kalynchuk y cols., 2004; Kawa y cols., 2005; Jones y Lucki, 2005; Marcus y cols., 2005; Schoenbaum y cols., 2005; Vedel, 2005; Wauterickx y Bracke, 2005; Wenzel y cols., 2005; Winkler y cols., 2005). Así, salvo en el desorden o trastorno bipolar, en el que hombres y mujeres presentan la misma prevalencia (ver Figura 2.5.), en los demás trastornos del ánimo las mujeres presentan mayor prevalencia que los hombres, en una relación de 2:1 (Weissman y cols., 1984, 1993; Weissman y Klerman, 1985; Wenzel y cols., 2005) que en algunas investigaciones se ha situado incluso en 3:1 (Klerman y Weissman, 1989). Aunque, según Benazzi (2006) la aparición del trastorno bipolar ocurre en las mujeres en una edad más temprana que en los hombres. Sin embargo,

Kawa y cols. (2005) no están de acuerdo con lo dicho, ya que este trastorno es equitativo en ambos sexos.

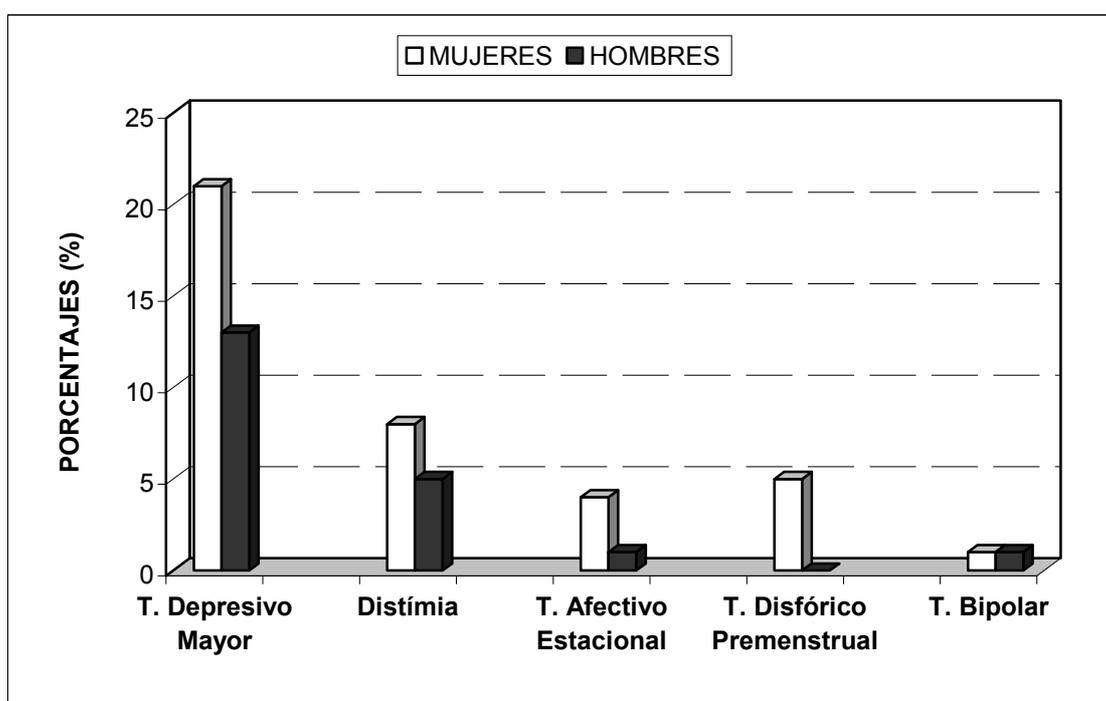


Figura 2.5. Diferencias de sexo en la prevalencia de los trastornos del estado de ánimo. Adaptado de Kornstein y McEnany (2000).

Estos datos son consistentes con los estudios realizados sobre distintas poblaciones y distintas clases sociales (Byrne, 1981; Patel, 2001; Weissman y cols., 1993), pero hay excepciones: estas diferencias se anulan en sociedades tradicionales o en muestras homologadas de poblaciones como la de los Amish en Pensilvania, en ciudades de África, en Bélgica o con los judíos ortodoxos de Londres (Culbertson, 1997; Piccinelli y Wilkinson, 2000; Wauterickx y Bracke, 2005; Weissman y cols., 1984). Los estudios del efecto generacional han concluido que el incremento de la prevalencia de la depresión ha aumentado (Wauterickx y Bracke, 2005), así como la

edad de inicio, especialmente en las mujeres jóvenes, a partir de la Segunda Guerra Mundial (Weissman y cols., 1984; Weissman y Klerman, 1985). Estas diferencias de sexo no comienzan a darse hasta la pubertad y, posteriormente, se mantienen en la madurez (Weissman y Klerman, 1977).

El riesgo a lo largo de la vida de desarrollar una depresión unipolar es también mayor para las mujeres que para los hombres (Weissman y cols., 1993). Hay evidencia de diferencias de género en esta enfermedad siendo mucho más frecuente en mujeres que en hombres y estiman razones del 2-3/1 (A.P.A., 2005; Fuentes y cols., 1997; Serra y cols., 1997). Es decir, esta enfermedad se halla tan extendida que, a lo largo de su vida, entre el 5 y el 12% de los hombres y el 10 y el 25% de mujeres sufrirán algún episodio depresivo importante, y en torno a la mitad de los deprimidos sufrirán depresiones en más de una ocasión, y hasta un 10% de los deprimidos experimentarán fases maníacas además de las depresivas (A.P.A., 2005; Nemeroff, 1998). Además, esta incidencia es incluso mayor en la población anciana, así por ejemplo, un estudio de Zunzunegui y cols. (1998) mostró que la prevalencia fue del 19.6% para los hombres y del 46% para las mujeres en una población clínica anciana española.

Kornstein y cols. (2000), en una investigación sobre diferencias de sexo y depresión crónica, concluyeron que las mujeres deprimidas con respecto a los hombres: (1) tienen un comienzo más prematuro de la enfermedad y además están más afectadas, (2) tienen una historia familiar previa de trastornos afectivos con mayor probabilidad, (3) presentan mayores deterioros en su entorno social, y (4) presentan más trastornos de sueño, mayor retardo psicomotor y mayor somatización de los síntomas.

Sin embargo, en otros trabajos los resultados varían (probablemente debido a las diferencias en los diseños de las investigaciones) y no encuentran diferencias en

relación a la edad de inicio del episodio (Weissman y cols., 1993), la duración del episodio, la gravedad de los síntomas o el curso de la depresión (Simpson y cols., 1997) y en los subtipos de dicha enfermedad (Vedel, 2005). Simpson y cols. (1997) realizaron un estudio a lo largo de 15 años con pacientes diagnosticados de depresión unipolar, y no encontraron más que ligeras diferencias de sexo en el curso de la enfermedad (e.g. las mujeres tuvieron recurrencias más pronto que los hombres). Pero por lo demás, no se distinguieron en el tiempo que necesitaron para recuperarse de los síntomas, ni en el comienzo de la primera recaída, ni tampoco en el número de recurrencias en años posteriores ni en la gravedad de los mismos.

Así pues, aunque en algunos aspectos no se hayan obtenido diferencias de sexo, las relativas a la prevalencia de la depresión son contundentes. Cabe preguntarse ahora si estas diferencias tienen alguna explicación. Piccinelli y Wilkinson (2000) apenas conceden peso a la carga genética, biológica o social para explicar el porqué de estas diferencias y sostienen que las diferencias de género en la depresión son una realidad para la que no encuentran explicación. Las razones psicosociales incluyen factores como diferencias en la socialización, en la vivencia del estrés, la victimización, el bajo estatus social, etc.; mientras que las biológicas barajan hipótesis relacionadas con la genética, la neuroanatomía, los neurotransmisores, la neuroendocrinología, la función reproductora, etc. (Kornstein y McEnany, 2000; McEwen y cols., 1998). Diversos estudios han mostrado lo siguiente:

- La genética tiene un papel importante en la depresión, y esta relacionada con las diferencias de sexo; parece ser que se hereda por igual en hombres que en mujeres, pero hay diferencias de sexo en el riesgo de padecerla (Kendler y Prescott, 1999).
-

-
- Ciertos factores neuropsicológicos, la interacción entre la actividad del hemisferio derecho posterior y la función del eje HPA, explicarían la mayor predisposición de la mujer a la depresión (Heller, 1993), mientras que otros lo atribuyen a las diferencias halladas a nivel central y periférico del metabolismo de la serotonina, junto a una mayor sensibilidad del eje (Maes y Meltzer, 1995). Además, estas diferencias de sexo en la síntesis de serotonina se ha visto hasta un 52% más alta en hombres que en mujeres (Nishizawa y cols., 1997). También se han puesto de manifiesto claras diferencias de sexo en los ancianos (Heun y Hein, 2005; Murphy y cols, 1996). Por lo que, parece lógico pensar que el sexodimorfismo en las estructuras y en las funciones cerebrales podrían estar mediando las diferencias en la sintomatología depresiva.
 - Existen diferencias de sexo en la neurotransmisión serotoninérgica en el hipocampo de ratones, que induciéndoles estrés desarrollan conducta depresiva (Jones y Lucki, 2005). Además, estas diferencias se han visto también en ratas, encontrando diferencias serotoninérgicas entre machos y hembras, tanto en el hipocampo como en el hipotálamo (Drossopoulou y cols., 2004).
 - Se ha demostrado que las hormonas femeninas están implicadas en la depresión, ya que se reconoce la importancia de los ciclos vitales, tales como el ciclo menstrual, el embarazo, el periodo postparto y la menopausia en relación a la aparición de síntomas depresivos, todos ellos relacionados con bajos niveles de estrógenos (Desai y Jann, 2000; Kornstein y McEnany, 2000; Yonders, 1998).

A modo de resumen, existen hoy en día diversidad de opiniones con respecto a las diferencias de sexo en la psicopatología de la depresión (Benazzi, 2006; Bennett y cols., 2005; Brownhill y cols., 2005; Cook y cols., 2005; Drossopoulou y cols., 2004;

Esel y cols., 2005; Kalynchuk y cols., 2004; Kawa y cols., 2005; Jones y Lucki, 2005; Marcus y cols., 2005; Schoenbaum y cols., 2005; Vedel, 2005; Wauterickx y Bracke, 2005; Wenzel y cols., 2005; Winkler y cols., 2005) teniendo en cuenta diversos factores, como son la edad, factores sociales, hereditarios, otros factores biológicos, etc. Por lo tanto, se deben seguir realizando más investigaciones, teniendo en cuenta que en la mayoría de las especies existen dos sexos, implicando todo tipo de diferencias entre ellos.

2.6. DEPRESIÓN Y MEMORIA

La conexión entre depresión y memoria es difícil de establecer, especialmente cuando la población analizada es anciana, debido a las características cognitivas asociadas al proceso normal de envejecimiento (Backman y cols., 1996; Bassuk y cols., 1998; Meyers y Bruce, 1998).

Varios autores señalan que existe una estrecha relación entre depresión y deterioro en la memoria (Adler y cols., 2004; Clark y cols., 2005; Danion y cols., 1991; Burt y cols., 1995; Riedel y Van Praag, 1995). Esta asociación se ve afectada por diferentes variables: edad, status (pacientes institucionalizados o enfermos ambulatorios), tipo de depresión (unipolar, bipolar, etc.), administración o no de medicación y características de las tareas (tareas de reconocimiento o de recuerdo).

Las alteraciones de la memoria no son solo exclusivas de la depresión, sino que, con frecuencia, aparecen unidas a otros trastornos psiquiátricos (Berrios y Hodges, 2003), como por ejemplo el trastorno obsesivo-compulsivo (Moritz y cols., 2006), y parece que están más vinculadas a ciertas características individuales (la gravedad de la enfermedad, el déficit motivacional, el esfuerzo atencional requerido, etc.) que al trastorno en sí (Burt y cols., 1995; Danion y cols., 1991).

Hay autores que sugieren que los problemas de memoria podrían estar originados por los mismos fármacos que los pacientes toman para mejorar su estado depresivo (Amado-Boccaro y cols., 1995). También se encuentran investigaciones que hacen referencia a una mejoría en la ejecución de pruebas de memoria como consecuencia del tratamiento con antidepresivos (Sternberg y Jarvik, 1976), pero esta mejoría podría ser debida a una mejoría en procesos cognitivos distintos a la memoria aunque relacionados, como es la atención (Hertel y Rude, 1991).

Conocer mejor cómo los antidepresivos afectan a la memoria es algo que mejorará la prescripción de los mismos adecuándola a las características del paciente (Amado-Boccaro y cols., 1995). Por ello, conocer el perfil cognitivo de los antidepresivos en animales es una fuente de información importante y muy poderosa para mejorar el uso de estos fármacos en sujetos humanos.

La depresión provocada por derrame cerebral está relacionada con el deterioro cognitivo y los déficit neurobiológicos. La prevalencia de esta depresión se sabe que es alta, pero el conocimiento de sus correlaciones neurofisiológicas es limitado. Después de un examen neuropsicológico efectuado a los tres meses y al año del derrame cerebral, se diagnosticó la depresión a los tres meses en un 53% de los pacientes, y en un 42% al año después del derrame. Del 53% mencionado, se observó prevalencia de depresión mayor en un 9%, y del 42% se observó prevalencia en un 16%; es decir, había una asociación entre la depresión post-derrame cerebral y el deterioro cognitivo. Parece ser que la depresión producida por un derrame cerebral afecta a la memoria, provoca déficits en la resolución de problemas no verbales, problemas de atención y de actividad psicomotora. Consecuentemente, parece ser que más de la mitad de los pacientes que han sufrido un derrame cerebral, posteriormente padece depresión; y la frecuencia de depresión mayor se incrementa durante el primer año (Kauhanen y cols., 1999). Por

tanto, el deterioro cognitivo está relacionado con una lesión cerebral y con la depresión (Minett y cols., 2005).

En otra investigación realizada con pacientes que presentaban trastorno bipolar (20 sujetos) y comparado con otros que no lo padecían (20 sujetos), se les sometió a pruebas de atención, memoria de trabajo y tareas de aprendizaje. Se observó en los resultados que los pacientes con trastorno bipolar mostraron deterioro en la ejecución de estas pruebas, indicándonos disfunciones neuropsicológicas en sus cerebros (Ferrier y cols., 1999).

En un estudio realizado con un grupo de sujetos con episodio único de depresión y otro grupo con episodios recurrentes, se observó que el deterioro de memoria está asociado con la depresión recurrente, mientras que los déficit de memoria no son prominentes en individuos con episodio único de depresión (Basso y Bornstein, 1999). Otro estudio realizado con pacientes adultos, tanto hombres como mujeres, que presentaban trastornos atencionales e hiperactividad; se sometieron a tests cognitivos que medían la capacidad intelectual, el éxito académico, memoria, aprendizaje, atención auditiva y visual, velocidad psicomotora, etc. Los resultados indicaron que las mujeres obtuvieron más altos registros en los tests cognitivos y mayor grado de ansiedad y depresión que los hombres (Katz y cols., 1998). Además, también se han realizado estudios con pacientes ancianos con depresión pero no dementes, y con dementes; los cuales completaron unos tests de memorización y aprendizaje de palabras, algunos de ellos con retraso de tres minutos después de cada presentación del ítem. Los resultados revelaron que el grupo de pacientes con demencia mostraron menores registros de aprendizaje y realizaban más lentamente las pruebas de retraso que los individuos con depresión (Rankin, 2000).

Como hemos visto, existen multitud de estudios que muestran que la depresión produce deterioro de memoria en sujetos humanos, tanto en adultos como en individuos con edad avanzada, con demencia o sin ella, en hombres como en mujeres, utilizando diversidad de pruebas para medir aprendizaje y memoria, etc.; es decir, la depresión en algunas ocasiones no solo es debida a factores como el status, la edad, etc., que están asociadas con el aprendizaje y la memoria, sino que también es inducida por algunos tipos de enfermedad ya mencionadas como derrame cerebral, demencias, etc. Hoy en día se continua investigando sobre este tema y siguen habiendo diversidad de opiniones al respecto (Adler y cols., 2005; Barry y cols., 2006; Baudic y cols., 2004; Bierman y cols., 2005; Braune y Berger, 2005; Burdick y cols., 2005; Burnside y cols., 2004; Clark y cols., 2005; DeLuca y cols., 2005; Harvey y cols., 2005; Heun y Hein, 2005; Lemogne y cols., 2006; Marcos y cols., 2005; Minett y cols., 2005; Moritz y cols., 2006; Rapoport y cols., 2005; Williams y cols., 2005).

3. ANTIDEPRESIVOS Y AMITRIPTILINA

3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIDEPRESIVOS

Conocida hoy en día la incidencia de la psicopatología de la depresión y las graves repercusiones que tiene para la vida laboral, afectiva y cotidiana del individuo, no es difícil imaginar la gran importancia que tuvo la aparición accidental de los fármacos antidepresivos entre los años 50 y 60 (Stahl, 2002). Estos fármacos han transformado la evolución y la prognosis de la depresión y han permitido que la mayoría de los afectados, pese a los efectos secundarios, puedan recibir un tratamiento ambulatorio y continuar con normalidad su vida diaria (Amado-Boccaro y cols., 1995; Frazer, 1997).

Durante los años 70, los antidepresivos se recetaron poco, pero a partir de la década de los 80 se ha observado un incremento de su recomendación en la práctica psiquiátrica, debido en parte al descubrimiento de nuevos agentes farmacológicos (Olfson y Klerman, 1993).

Los fármacos antidepresivos, en general, mejoran el humor, los patrones del sueño, aumentan el apetito, incrementan la actividad física, ayudan a razonar con mayor claridad, etc. Además, estos disminuyen la sensación de culpabilidad, de inutilidad e inadecuación, y reducen la preocupación por el engaño y la ambivalencia (Bezchlibajyk-Butler, 1994); todos ellos rasgos característicos de la depresión. Estos fármacos producen cambios físicos, como por ejemplo hormonales (en los niveles de testosterona), alivio del dolor, etc. (Berilgen y cols., 2005; Haduch y cols., 2006); y conductuales, como es el caso de conductas alimentarias, actividad, estrés, ansiedad, comportamientos sociales, sueño, etc. (Bond, 2005; Cavaljuga y cols., 2003a, 2003b; Mayers y Baldwin, 2005; Saarto y Wiffen, 2005; Walsh y cols., 2006; West y Weiss,

2005; Wilson y Argyropoulos, 2005). El tratamiento con antidepresivos produce mejoras significativas entre el 65 y el 75% de los pacientes diagnosticados de depresión mayor, y la recuperación completa entre el 40 y el 50% de éstos (Frazer, 1997).

Antes de clasificar a los antidepresivos, es importante considerar algunos aspectos a nivel general (Bezchlibajyk-Butler, 1994):

1. Estos fármacos incrementan la actividad psicomotora, por lo que el riesgo de suicidio persiste y debe ser controlado.
 2. Algunos antidepresivos más clásicos, son tóxicos en sobredosis y es recomendable recetar cantidades limitadas a los pacientes que son propensos al suicidio.
 3. Puede aumentar la eficacia terapéutica si se combinan varios antidepresivos, pero también pueden aparecer interacciones.
 4. La profilaxis de la depresión es más efectiva si la dosis terapéutica se mantiene.
 5. Cuando existe un elevado índice de suicidio hay que tener en cuenta que su acción es lenta, necesitando unos 15 días para que aparezcan las primeras mejorías (Allain y cols., 1995; Schwaninger y cols., 1997), y para obtener un buen efecto terapéutico hemos de esperar de 4 a 6 semanas e incluso más tiempo (Frazer, 1997).
 6. Aunque estos fármacos producen mejoras en los pacientes, siguen teniendo múltiples efectos secundarios (Riedel y van Praag, 1995).
-

Los antidepresivos conforman un grupo de fármacos de difícil clasificación, aunque pueden agruparse en función de varios criterios. Por ejemplo, según Stahl (2002), los antidepresivos se pueden clasificar, basándonos en su especificidad en la recaptación de neurotransmisores cerebrales, en los siguientes grupos:

1. Los antidepresivos clásicos, que incluyen los inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs), que son inhibidores de la enzima monoaminoxidasa, responsable de la degradación de dopamina, noradrenalina y serotonina, lo que aumenta a la vez el nivel de los tres neurotransmisores (Del Rio, 1997); y los antidepresivos tricíclicos (ATCs), que inhiben la recaptación de noradrenalina, serotonina y la dopamina en menor medida.
 2. Los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (IRSSs).
 3. Los inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina (IRNs).
 4. Los inhibidores de la recaptación de noradrenalina y de dopamina (IRNDs).
 5. Los inhibidores duales de la recaptación de serotonina y de noradrenalina (IRSNs), ya que combinan las acciones tanto de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRSs) como de los inhibidores de la recaptación de noradrenalina (IRNs).
 6. Acciones duales serotoninérgicas y noradrenérgicas a través del antagonismo α_2 , que lo que hacen es que la neurotransmisión tanto noradrenérgica como la serotoninérgica se ven incrementadas por los antagonistas α_2 .
-

7. Acción dual de los antagonistas de la serotonina α_2 e inhibidores de la recaptación de serotonina (ASIRs), que comparten la capacidad de bloquear tanto los receptores de 5-HT_{2A} como la recaptación de serotonina.
8. Fármacos estabilizadores del estado de ánimo, que también tienen efectos antidepresivos.

En el Cuadro 3.a. se recoge una lista de los principales fármacos antidepresivos, elaborada principalmente a partir de Stahl (2002), pero también de Parra (1997), Del Río (1997), DeVane (2000), Gareri y cols. (2000) y Pinder (2001).

Antidepresivos clásicos

- Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs)
 - IMAO clásicos-irreversibles y no selectivos
 - Fenelcina*
 - Tranilcipromina*
 - Isocarboxácida*
 - Iproniácida*
 - Inhibidores selectivos de la MAO A
 - Clorgilina*
 - Inhibidores selectivos de la MAO B
 - Deprenyl (selegilina)*
 - Pargilina*
 - Inhibidores reversibles de la MAO A (IRMA)
 - Moclobemida*
- Antidepresivos tricíclicos (ATCs)
 - Clomipramina*
 - Imipramina*
 - Amitriptilina*
 - Nortriptilina*
 - Protriptilina*
 - Maprotilina*
 - Amoxapina*
 - Doxepina*
 - Desipramina*
 - Trimipramina*
 - Lofepramina*

Antidepresivos nuevos

- Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRSs)
 - Fluoxetina*
 - Sertralina*
 - Paroxetina*
 - Fluvoxamina*
 - Citalopram*
- Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina (IRNs)
 - Reboxetina*
- Inhibidores de la recaptación de noradrenalina y de dopamina (IRNDs)
 - Burpropión*
- Inhibidores duales de la recaptación de serotonina y de noradrenalina (IRSNs)
 - Velanfaxina*
 - Sibutramina*
 - Tramadol*
 - Milnacipran*
 - Duloxetina*
 - Velanfaxina*
- Acciones duales serotoninérgicas y noradrenérgicas a través del antagonista α_2
 - Mirtazapina*
 - Mianserina*
 - Setipilena*
- Acción dual de los antagonistas de la serotonina α_2 e inhibidores de la recaptación de serotonina (ASIRs)
 - Nefazodona*
 - Trazodona*

Cuadro 3.a. Clasificación de los fármacos antidepresivos agrupados y principales representantes. Tomado, principalmente, de Stahl (2002).

Es importante mencionar, que el tratamiento con antidepresivos pretende aliviar los síntomas de la depresión y prevenir la recurrencia de los mismos. En los últimos años, las investigaciones van encaminadas a conseguir un antidepresivo ideal, cuyas características serían (DeVane, 2000):

- **Eficacia:** (1) que cure o alivie los síntomas, (2) que sea efectivo para la mayoría de los pacientes, (3) que dicha efectividad se produzca rápidamente, (4) que sus

efectos terapéuticos se mantengan con un tratamiento continuo, y (5) que ofrezca una relación consistente y predecible dosis/efecto.

- **Seguridad y efectos adversos:** (1) baja incidencia de efectos adversos, (2) mínima posibilidad de toxicidad por sobredosis, (3) bajo o nulo deterioro cognitivo, y (4) efectos beneficiosos en la calidad de vida.
- **Farmacocinética:** (1) disposición consistente y predecible, (2) vías de eliminación múltiples, (3) ajustes de dosis convenientes, y (4) baja interacción con otros fármacos.

3.2. EFECTOS TERAPÉUTICOS DE LOS ANTIDEPRESIVOS

Los antidepresivos más recetados en la actualidad, son los ISRSs y los considerados de nueva generación (Servicio Nacional de Salud, 2005); aunque los antidepresivos tricíclicos son los antidepresivos de segunda elección, siendo la imipramina y amitriptilina unos de los tricíclicos clásicos que han sido más ampliamente empleados; y los inhibidores de la monoaminoxidasa se han utilizado cuando ha fallado el tratamiento con otros antidepresivos (Del Río, 1997). Sin embargo, si se comparan los efectos de los diferentes antidepresivos, por ejemplo los tricíclicos e inhibidores selectivos, se observa que no difieren en su eficacia a la hora de aliviar la depresión en los pacientes deprimidos (Fremantle y cols., 2000), aunque los más selectivos son los que se aconsejan para los tratamientos más largos y como prevención de posibles recaídas (Hirschfeld, 2000). En conjunto, todos los antidepresivos muestran una eficacia muy parecida y se escoge uno u otro en función de los síntomas del enfermo, el historial farmacológico, edad (los ancianos son más sensibles a los efectos de los fármacos) y sobre todo, los efectos secundarios (Freemantle y cols., 2000). La eficacia es relativa por cuanto se sabe que, sólo un 60-70% de la población responderá a

algún tipo de antidepresivo a la primera, y entre un 5-10% no reaccionará a ninguno de los tratamientos (Thase y Rush, 1995) o que de reaccionar, sólo se tratará de una remisión parcial (Fawcett, 1994). Hay un 50% de probabilidad de recaer después de un episodio, y este porcentaje se eleva a un 70% después de dos episodios y a un 90% después de tres (Stahl, 2002).

Debido a su mecanismo de acción, los antidepresivos actúan como tales transcurridos unos 15 días de su ingesta (Blier, 2001). Es aconsejable esperar de 4 a 6 semanas para poder determinar si un antidepresivo no produce mejoría, entonces se debe dejar un periodo en el cual no se tome ningún otro antidepresivo, el llamado “periodo de lavado”, para empezar con otra terapia farmacológica. Una vez determinado el tratamiento adecuado, su duración depende de muchos factores. Se recomienda que en caso de tratarse de un primer episodio o que el último se hubiera producido hace 5 años, el tratamiento durara entre 6 y 12 meses, y entre 3 y 5 años si el intervalo entre episodios fuese menor de 3 años. Cuando se han sufrido 3 o más episodios, o 2 pero se tiene más de 40 años se aconseja el tratamiento de por vida (Greden, 1993). Además, la mitad de las recaídas se evitarían si se mantuviera la medicación entre 3-6 meses aún después de notar la mejoría (Hirschfeld, 2000).

Los antidepresivos también se utilizan como tratamiento preventivo de los síntomas depresivos, ya que se ha comprobado la efectividad de muchos de ellos, como es el caso de la *imipramina* (Frank y cols., 1991), el *citalopram* (Hochstrasser y cols., 2001), la *fluoxetina* (Cheer y Goa, 2001), etc. Además, su acción en los neurotransmisores incide en una gran cantidad de estructuras cerebrales que regulan otras muchas funciones, de ahí que puedan ser empleados para aliviar otros tipos de desórdenes (Clayton, 1998; Davidson, 2001; Schatzberg, 2000).

Los inhibidores selectivos son los antidepresivos que mayor espectro de indicaciones clínicas presentan, como por ejemplo, los ISRSs o los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y de noradrenalina; que están indicados para algunos trastornos de ansiedad (Davidson, 2001; Keene y cols., 2005; Zohar y Westenberg, 2000) y para el tratamiento de la depresión asociada con ansiedad (Feighner y cols., 1998; Montgomery y Judge, 2000). Aunque los ISRSs provocan ansiedad al principio, ésta disminuye con el tiempo y, a largo plazo, estos fármacos funcionan como ansiolíticos (Stahl, 2002). La especificidad de los nuevos fármacos inhibidores, además, ha permitido investigar con detalle el papel de los sistemas de neurotransmisión en la depresión. Por ejemplo, la especificidad de la *reboxetina*, ha permitido estudiar el papel de la noradrenalina en el tratamiento de la depresión (Gorman y Sullivan, 2000) y de la depresión asociada a disfunciones sexuales (Baldwin y cols., 2006); así como su eficacia terapéutica en el trastorno afectivo estacional (Hilger y cols., 2001).

Además, los antidepresivos también se emplean como tratamiento secundario de otras enfermedades: para el tratamiento del dolor crónico, como analgésico (Ansari, 2000; Berilgen y cols., 2005; Fishbain y cols., 1998; Guler y cols., 2005; Krell y cols., 2005; Lynch, 2001; Magni, 1991; Saarto y Wiffen, 2005); tratamiento de la obesidad (Heisler y cols., 1999), como por ejemplo, cuando se receta la *sibutramina* (Ioannides-Demos y cols., 2005); en enfermedades crónicas, como el cáncer (Billing y Block, 1995) o la fibromalgia (Krell y cols., 2005); para dejar de fumar (por ejemplo, el *bupropión*) (Feighner, 1999; Ross y Williams, 2005); para el alivio de las migrañas, por ejemplo la *fluoxetina* (Lynch, 2001) y la *amitriptilina* (Khromov y cols., 2005); etc.

3.3. EFECTOS SECUNDARIOS DE LOS ANTIDEPRESIVOS

A la hora de prescribir antidepresivos, también hay que tener en cuenta los efectos secundarios; de la misma manera que se tiene en cuenta el historial farmacológico del paciente, la edad, etc. (Thase y Rush, 1995). Como sabemos, estos fármacos pueden tener acciones anticolinérgicas, como ocurre con los cíclicos y los IMAOs, entre otras acciones (antihistamínicas, adrenérgicas, etc.); o tener efectos relacionados con el sistema nervioso central (activación o sedación, somnolencia, temblor, etc.), hepáticos, cardiovasculares, etc.; como es el caso de los ISRSs (Parra, 1997). De todos los efectos secundarios que presentan los antidepresivos, a continuación vamos a resaltar aquellos que afectan a la memoria, ya que es uno de los aspectos relevantes en la presente tesis doctoral.

3.3.1. Antidepresivos cíclicos

Los antidepresivos tricíclicos son los que tienen una mayor incidencia a nivel central en la ejecución cognitiva, ya que de los receptores de la acetilcolina los muscarínicos son los que predominan en el cerebro y los que más relación parecen tener con las funciones que implican atención y memoria. Todos los antidepresivos tricíclicos poseen actividad anticolinérgica, pero difieren en su potencia. No sólo es esta carga la que incide en el funcionamiento cognitivo, sino que su acción antihistamínica y como antagonista α -adrenérgica es responsable de provocar sedación, problemas cognitivos (Riedel y van Praag, 1995) y psicomotores (Tucha y cols., 2002); además de los efectos anticolinérgicos como estreñimiento, visión borrosa, sequedad de boca, somnolencia, sudoración, retención urinaria, aumento de peso, etc. (Stahl, 2002). Esto limita en ocasiones la calidad de vida del paciente, sobre todo en los ancianos (Gareri y cols., 2000), por lo que son sustituidos por otros antidepresivos, con nuevos mecanismos de

acción, de igual eficacia antidepressiva, pero menores efectos secundarios. A veces se tiende a recomendar dosis demasiado bajas que en ocasiones no consiguen los beneficios terapéuticos (Donoghue e Hylan, 2001; Isometsa y cols., 1998).

3.3.2. Inhibidores de la monoaminoxidasa

Los pacientes que toman este tipo de antidepressivos no deben tomar alimentos que contengan tiramina (como por ejemplo, el queso), para evitar una grave reacción del sistema nervioso simpático; es decir, estos fármacos producen una peligrosa interacción con la tiramina. La tiramina se degrada por la actividad de la MAO, esto no ocurre bajo el efecto de los IMAOs, y la sangre sigue transportando la tiramina hasta las neuronas del sistema nervioso simpático (neuronas noradrenérgicas); concentrándose la tiramina en el interior de estas neuronas y provocando una intensa liberación de sodio (NA), cuyo almacenamiento se ha incrementado mucho por la inhibición de la MAO de los segmentos terminales de las neuronas. Esta explosión de NA es la que produce hipertensión arterial (Costentin, 1996; Gareri y cols., 2000; Stahl, 2002).

Además, debido a su acción anticolinérgica, pueden provocar sequedad de boca, estreñimiento, retención urinaria y visión borrosa. Y también, pueden producir agitación, irritabilidad, acatisia, temblor, somnolencia diurna, insomnio e hipomanía, ictericia, crisis hipertensiva, hipotensión postural y/o taquicardia (Parra, 1997).

3.3.3. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

Este grupo de fármacos presentan menos efectos secundarios que los anteriores antidepressivos, siendo sus efectos anticolinérgicos menos pronunciados que los de los tricíclicos (Frazer, 1997); sin embargo, presentan disfunciones sexuales, que se traducen en una disminución de la libido en los hombres y de anorgasmia en las mujeres, acatisia

(inquietud motora), discinesia, temblores y agitación. Como ocurría con los antidepresivos tricíclicos, también producen somnolencia, sedación (aunque no bloquean los receptores histaminérgicos) y con menor frecuencia problemas cardiovasculares (e.g. bradicardia o vasoconstricción coronaria). También pueden presentar efectos totalmente contrarios a la toma de los antidepresivos tricíclicos y así, se pueden sufrir vómitos y diarrea (en vez de estreñimiento, en aquellas personas con problemas ya existentes), y pérdida de peso (acción anoréxigena) (Parra, 1997). La probabilidad de provocar ataques epilépticos es menor a la establecida para los antidepresivos tricíclicos (Frazer, 1997). Parece que este grupo de fármacos son más seguros y se toleran mejor que los antidepresivos tricíclicos en el tratamiento agudo y crónico de la depresión mayor (Peretti y cols., 2000).

3.3.4. Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina

Se ha comprobado que la *reboxetina* se tolera bien, y que los efectos secundarios que presenta, son los relativos a la inhibición de la recaptación únicamente de noradrenalina, ya que no tiene afinidad por otros sistemas de neurotransmisión ni por otros receptores. Algunos de los síntomas secundarios que se han documentado son: sequedad de boca, insomnio, ligera taquicardia, estreñimiento y sudoración (Mucci, 1997), que también se presentan con la ingesta de antidepresivos tricíclicos, pero en el caso de la *reboxetina*, con menor frecuencia y, en pacientes ancianos, parece más segura, al no provocar hipertensión (Nutt, 2001).

3.3.5. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina

Los sujetos deprimidos que han sido tratados con *velanfaxina*, han mostrado en estudios clínicos únicamente un incremento de la presión sanguínea y sedación (Feighner, 1999; Schatzberg, 2000). Como no presenta interacción con otros fármacos

parece aconsejable para los ancianos que suelen estar bajo más de un tratamiento a la vez (Gareri y cols., 2000). A corto plazo, no tiene ningún efecto sobre el peso corporal, pero a largo plazo lo aumenta (Fava, 2000). El *milnaciprán* carece de toxicidad en caso de sobredosis, produce sedación, tiene ligeros efectos anticolinérgicos y no produce hipotensión (Mir y Taylor, 1997).

3.3.6. Inhibidores duales de la recaptación de noradrenalina y dopamina

Los efectos del *bupropión* a nivel endocrino pueden producir irregularidades menstruales (Stahl, 2002), pero entre sus efectos adversos apenas figura un pequeño porcentaje de disfunciones sexuales en comparación con los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (Chernin, 2001). Su administración crónica parece que conlleva pérdida de peso (Fava, 2000).

3.3.7. Antagonistas de los receptores de 5-HT_{2A} e inhibidores de la recaptación de serotonina

Se ha comprobado que la *trazodona* y la *nefazodona* provocan sedación, (por el bloqueo histaminérgico), mareos, empeoramiento de la concentración y producen letargia. El priapismo (erecciones prolongadas y normalmente dolorosas) puede presentarse con la *trazodona* y en menor medida con la *nefazodona*, con la cual además se puede presentar una ligera disfunción sexual (Feighner, 1999). A diferencia de otros antidepresivos, los pacientes tratados con *nefazodona* no varían su peso corporal, ni sufren de disfunción sexual (Robinson y cols., 1996), pero puede ocasionar sensación de boca seca, estreñimiento y náuseas (Cyr y Brown, 1996).

La *mirtazapina* no tiene efectos secundarios relacionados con el sistema colinérgico y son mínimos los ocasionados por el noradrenérgico o el serotoninérgico,

como sedación, incremento del apetito, aumento de peso (Fava, 2000) y disfunción sexual (Gorman, 1999).

A continuación, y a modo de resumen de lo expuesto en este apartado, en el Cuadro 3.b. podemos observar efectos secundarios de algunos de los antidepresivos más utilizados.

EFECTOS SECUNDARIOS DE ALGUNOS ANTIDEPRESIVOS					
	Anticolí néricos	Sedación	Hipotensión ortostática	Convul siones	Alteraciones cardíacas
Amitriptilina	↑	↑	↔	↔	↑
Amoxapina	↔	↓	↓	↔	↓
Citaloprán	-	-	-	↓	-
Clomipramina	↑	↑	↔	↔	↑
Desipramina	↓	↓	↔	↓	↔
Doxepina	↔	↔	↓	↔	↓
Fluoxetina	-	-	-	↓	-
Fluvoxamina	-	-	-	↓	-
Imipramina	↔	↔	↑	↔	↑
Lofepramina	↓	↔	↔	↓	↓
Maprotilina	↔	↔	↓	↑	↔
Mianserina	↓	↔	↓	↔	↓
Mirtazapina	-	↔	↓	↓	-
Moclobemida	-	-	↓	↓	-
Nefazodona	↓	↓	↓	↓	↓
Nortriplilina	↔	↔	↓	↓	↔
Paroxetina	-	↔	-	↓	-
Reboxetina	↓	-	↔	↓	↓
Sertralina	-	-	-	↓	-
Tranilcipromina	↔	-	↔	↔	↓
Trazodona	↓	↔	↔	↓	↓
Trimipramina	↑	↑	↔	↔	△
Venlafaxina	-	-	-	↓	-

Cuadro 3.b. Efectos secundarios de algunos fármacos antidepresivos. Nota: △ (muy alta), ↑ (alta), ↔ (moderada), ↓ (baja) y sin efectos (-). Adaptado de Azanza (2000).

Para finalizar, es interesante decir, que en ocasiones la mejoría ocasionada por los antidepresivos otorga a los pacientes la fuerza suficiente para llevar a cabo sus ideas suicidas y todos los antidepresivos, incluso los que se pensaban más seguros, como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, pueden aumentar el riesgo de suicidio (Müller-Oerlinghausen y Berghöfer, 1999). Esto se ha visto recientemente, en especial en niños y adolescentes (Brock y cols., 2005).

3.4. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIDEPRESIVOS

Aunque no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales los fármacos antidepresivos producen una mejoría en los síntomas depresivos (Roth, 1993; Bezchlibajyk-Butler, 1994), es probable que estén implicados uno o más de los efectos de los antidepresivos que resumimos con la ayuda del Cuadro 3.c.

EFFECTOS AGUDOS

- Inhibición del enzima MAO.
- Bloqueo de la recaptación de NA y 5-HT a nivel presináptico, así como la DA, aunque esta en menor medida.
- Bloqueo de receptores colinérgicos muscarínicos, de receptores histamínicos H₁, y de los receptores adrenérgicos α_1 .
- Inhibición dual de 5-HT/NA.
- Alteración de las proteínas G.

EFFECTOS A LARGO PLAZO

- Modificación de los sistemas de segundos mensajeros.
- Disminución de la sensibilidad de los receptores adrenérgicos (β y α_2).
- Incremento de 5-HT en los autorreceptores somatodendríticos y en los terminales axónicos.
- Desensibilización de los receptores β_2 y 5-HT₂.
- Regulación a la baja de los receptores de los neurotransmisores clave.

Cuadro 3.c. Principales efectos bioquímicos de los antidepresivos. Adaptado de Stahl (2002).

Aún hoy se desconoce con exactitud el mecanismo de acción de los antidepresivos, a pesar de ser ampliamente usados para el tratamiento de la depresión y de otras enfermedades desde hace décadas. En los últimos años, la farmacología se está centrando en los cambios intracelulares que los antidepresivos producen a largo plazo (durante un tratamiento crónico), desde la transcripción genética a las funciones cerebrales superiores, más que en los cambios extracelulares (Yamada e Higuchi, 2002).

Según Reid y Stewart (2001), si la depresión suponía anormalidades en el patrón y la respuesta de los sistemas de neurotransmisión a partir de la modificación de la sensibilidad y la función de los receptores, la mayoría de los antidepresivos tras su administración aguda incrementan estos bajos niveles de neurotransmisores y equilibran de nuevo la actividad mediante diversas acciones:

1. Inhibiendo la recaptación del neurotransmisor, por lo que éste permanece más tiempo en la sinapsis, como los antidepresivos tricíclicos que actúan inhibiendo de forma no selectiva la recaptación de serotonina y noradrenalina o la de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina o noradrenalina.
2. Evitando su destrucción, como ocurre con los inhibidores de la enzima monoaminoxidasa, que evitan que degrade los neurotransmisores del espacio sináptico.
3. Y favoreciendo la liberación de los neurotransmisores, como ocurre con la *mirtazapina*, un agente noradrenérgico y serotoninérgico, que bloquea selectivamente algunos receptores.

Ahora bien, con la administración crónica, las acciones de todos los antidepresivos parece que se unifican e inciden en las cascadas de los mensajeros

intracelulares, alteran la expresión genética y modulan la plasticidad neuronal para llevar a cabo sus acciones terapéuticas y muchas de las anomalías encontradas en el cerebro de los pacientes deprimidos van recuperando la normalidad (Vaidya y Duman, 2001).

A continuación se describe con mayor detalle cada uno de los mecanismos de acción de los antidepresivos y, en los siguientes apartados, los efectos terapéuticos y los efectos secundarios.

3.4.1. Antidepresivos cíclicos

El mecanismo de acción de los antidepresivos cíclicos consiste en inhibir principalmente la recaptación de los neurotransmisores serotonina y noradrenalina (Bose y cols., 2005), lo que les confiere propiedades antidepresivas. Estos permanecen por más tiempo en el espacio sináptico y de este modo se prolongan los potenciales sinápticos. Su perfil farmacológico así como sus efectos secundarios dependen de la afinidad hacia determinados receptores y su actividad sobre los distintos sistemas de neurotransmisión (Feighner, 1999). Los tricíclicos son en realidad cinco fármacos en uno: inhibidor de la serotonina y de la noradrenalina, anticolinérgicos/antimuscarínicos, antihistaminérgicos y antagonistas de los receptores adrenérgicos α (Stahl, 2002).

3.4.2. Inhibidores de la monoaminoxidasa

Los inhibidores de la enzima monoaminoxidasa (MAO) inhiben la actividad de esta enzima, encargada de destruir las monoaminas sobrantes de los botones terminales, lo que permite mayores niveles de los neurotransmisores liberados en el espacio sináptico. Se denominan irreversibles a aquellos inhibidores que se unen a la enzima y destruyen para siempre su función, mientras que los reversibles no se unen para siempre

a este enzima. Dentro del grupo de los inhibidores de la monoaminoxidasa irreversibles, se encuentran los selectivos de la MAO-A y de la MAO-B, ambos subtipos de esta enzima (Del Río, 1997).

3.4.3. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

El mecanismo de acción de los ISRS consiste en inhibir selectivamente la recaptación del neurotransmisor que mayor papel parece tener en las emociones y el estado de ánimo: la serotonina. El primer antidepresivo de este grupo que se comercializó en Europa fue la *fluoxetina* en 1983, marcando una época en la era de los nuevos antidepresivos. Estos eran una variación estructural de los antidepresivos tricíclicos y en esta modificación albergaba la esperanza de haber encontrado un fármaco que actuara casi exclusivamente en los sistemas relevantes para obtener efectos terapéuticos, pero posteriormente se comprobó que tal especificidad era teórica y que incidían de manera indirecta en otros sistemas de neurotransmisión, como por ejemplo en el noradrenérgico (Gorman y Sullivan, 2000). La administración crónica de estos antidepresivos conlleva cambios funcionales en el transportador de serotonina (Benmansour y cols., 1999). El mayor uso, que se ha hecho de los ISRSs no se debe a su mayor eficacia, sino a su mejor perfil de los efectos secundarios y a sus indicaciones para muchos otros trastornos (e.g. Cavaljuga y cols., 2003a, 2003b; Keene y cols., 2005; Milano y cols., 2005; West y Weiss, 2005), además de los trastornos del estado de ánimo (Nutt y cols., 1999; Fava y cols., 2005) y se pueden emplear en aquellos sectores de la población más sensible, como por ejemplo durante el embarazo, en la infancia, la adolescencia, la vejez, etc. (e.g. Emslie y Judge, 2000; Kasper y cols., 2005).

3.4.4. Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina

La *reboxetina* es un fármaco inhibidor selectivo de la recaptación de noradrenalina (e.g. Baldwin y cols., 2006; Krell y cols., 2005); siendo el primer antidepresivo de este grupo, y parece que bloquea únicamente la recaptación de dicho neurotransmisor. Los estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado que no tiene afinidad por la recaptación de serotonina ni por la de dopamina, ni por los receptores adrenérgicos e histaminérgicos y sólo una débil afinidad por los receptores muscarínicos (Feighner, 1999; Wong y cols., 2000).

3.4.5. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y noradrenalina

Uno de estos fármacos es la *venlafaxina*, que tiene acción sobre ambos sistemas de neurotransmisión (Sir y cols., 2005), como los antidepresivos tricíclicos, pero carece de sus propiedades anticolinérgicas (Harvey y cols., 2000). Su inhibición está en función de la dosis y así, a dosis bajas, inhibe con mayor fuerza la recaptación de serotonina y, a dosis altas, inhibe moderadamente la recaptación de noradrenalina y en menor medida la de dopamina (Frazer, 2001). No interacciona ni con los receptores colinérgicos, ni con los adrenérgicos ni tampoco con los receptores histaminérgicos (Feighner, 1999). El *milnaciprán*, es muy similar a la *venlafaxina* en su mecanismo de acción e inhibe de forma selectiva, al igual que ella, ambos sistemas de neurotransmisión (Delini-Stula, 2000; Sambunaris y cols., 1997).

3.4.6. Inhibidores duales de la recaptación de noradrenalina y dopamina

El *bupropión* es un bloqueador débil de la recaptación de noradrenalina y de dopamina (Argyelan y cols., 2005) y, sin embargo, es muy potente a nivel terapéutico, debido a su metabolito activo (Ascher y cols., 1995), no inhibe la MAO, ni interacciona con los receptores histaminérgicos, colinérgicos o adrenérgicos α_1 (Feighner, 1999).

3.4.7. Antagonistas de los receptores de 5-HT_{2A} e inhibidores de la recaptación de serotonina

La *trazodona* y la *nefazodona* tienen ambos acción dual, por un lado como inhibidores débiles de la serotonina y, por otro, interactúan con los receptores adrenérgicos α_1 . Pero la acción más potente de ambos, la tienen como antagonistas de los receptores presinápticos 5-HT_{2A}. La *nefazodona* no inhibe la recaptación de noradrenalina y carece de las propiedades antihistamínicas y antagonistas del receptor adrenérgico α_1 que tiene la *trazodona* (Taylor y cols., 1995; Feighner, 1999).

A continuación, en el Cuadro 3.d. se presenta un resumen de los efectos farmacológicos de algunos antidepresivos, viendo cual es su acción en los sistemas de neurotransmisión.

EFECTOS FARMACÓLOGICOS DE ALGUNOS ANTIDEPRESIVOS						
	Inhibición de la recaptación		Antagonismo sobre los receptores			
	5-HT	NA	M ₁	α1	DA	H ₁
Amitriptilina	↔	↔	↑	↑	↓ -	↑
Amoxapina	-	↔	↓	↔	-	-
Citaloprán	↑	-	-	-	-	-
Clomipramina	↑	↔	↔	↔	↓ -	↓
Doxepina	↓	↓	↔	↑	-	↑
Fluoxetina	↑	↓	-	-	-	-
Fluvoxamina	↔	-	-	-	-	-
Imipramina	↔	↔	↔	↔	-	↔
Lofepramina	↔	↔	↓	↔	-	↔
Maprotilina	-	↔	↓	↓	↓	↔
Mianserina	↓ -	↔	-	↑	-	↑
Nefazodona	↔	↓	-	↔	-	-
Nortriptilina	↓	↔	↓	↔	↓ -	↓
Paroxetina	↑	↓	-	-	↓	-
Sertralina	↑	-	-	-	-	-
Trazodona	↓	-	-	↔	-	-
Trimipramina	-	↓	↔	↔	-	↔
Venlafaxina	↑	↔	-	-	↓	-

	Liberación de neurotransmisores		Antagonismo sobre los receptores			
	5-HT	NA	M ₁	5-HT ₂	5-HT ₃	H ₁
Mirtazapina	↔	↔	-	↔	↔	↔
Moclobemida	↔	↔	-	↓	↓ -	-
Tranilcipromina	↔	↔	↓	↓	↔	↔

Cuadro 3.d. Efecto de algunos fármacos antidepresivos. Nota: ↑ (alta), ↔ (moderada), ↓ (baja) y sin afinidad (-). 5-HT (serotonina), NA (noradrenalina), DA (dopamina) e H (histamina). Adaptado de Azanza (2000).

Reid y Stewart (2001) realizan una revisión del mecanismo de acción de los antidepresivos, todo ello a raíz de los nuevos descubrimientos y de las nuevas hipótesis lanzadas, y concluyen que la regulación de la plasticidad neuronal es un proceso

esencial en la etiología de la depresión y en el mecanismo de acción de los antidepresivos. Ellos se apoyan, por un lado, en el modelo de Duman y cols. (1997) por el cual la plasticidad neuronal adquiere un papel muy importante en la etiología de la depresión y en el efecto de los antidepresivos y, por otro, la idea inicial de Schwaninger y cols. (1997) de relacionar los cambios en la transcripción genética, derivados de la administración de antidepresivos, con la plasticidad neuronal, la potenciación a largo plazo y la memoria. El objetivo de los nuevos antidepresivos se está centrando en las proteínas G, la fosforilación de proteínas, los segundos mensajeros, etc. (Pinder, 2001), todos ellos activadores de cambios intracelulares.

3.5. AMITRIPTILINA

Este fármaco es el elegido para la presente tesis doctoral, ya que ha sido uno de los antidepresivos más importante y se ha recetado ampliamente para el alivio de los síntomas depresivos. La amitriptilina pertenece al grupo de antidepresivos tricíclicos (Bose y cols., 2005; Saarto y Wiffen, 2005; West y Weiss, 2005; van Ophoven y Hertle, 2005), y fue introducida en el ámbito clínico en 1961 para el tratamiento de la depresión (Velasco y Álvarez, 1988). En muchos países es el más empleado como alternativa a la *fluoxetina* (Freemantle y cols., 2000), y algunos defienden su liderazgo como antidepresivo durante 40 años de existencia, incluso frente a los nuevos antidepresivos (Barbui y Hotopf, 2001). En la actualidad, en ciertos países se sigue recetando ampliamente (Vetulani y Nalepa, 2000) bajo diferentes nombres comerciales (Azanza, 2000; Budavari, 1996; Reynolds, 1982), y en España se comercializa bajo los nombres de: “Deprelio”, “Mutabase”, “Nobritol” y “Tryptizol” (Azanza, 2000).

3.5.1. Farmacocinética y farmacodinámica de la amitriptilina

3.5.1.1. Farmacocinética de la amitriptilina

La amitriptilina se presenta en forma de polvo cristalino, es inodora y totalmente soluble en agua (Reynolds, 1982; Thomson, 2005). A continuación, en la Figura 3.1. se muestra la estructura química de la amitriptilina.

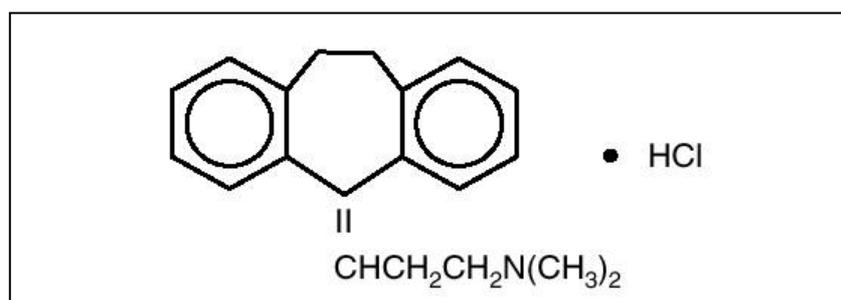


Figura 3.1. Estructura química de la amitriptilina. Tomado de Thomson, 2005.

Centrándonos en la *absorción*, los antidepresivos tricíclicos se absorben bien por vía oral, la más frecuente en el consumo humano, siendo la absorción de la amitriptilina muy rápida (Thomson, 2005). La biodisponibilidad de este fármaco es generalmente baja: 37-60% (Del Río, 1997) y su absorción completa se produce a las 10 horas siguientes a su administración, por el duodeno y el resto del intestino delgado (Velasco y Álvarez, 1988). En ratones, la absorción de la amitriptilina administrada (aguda o crónica) intraperitoneal (i.p.), se produce muy rápidamente: en plasma a los 37 minutos aproximadamente y en el cerebro a los 38-42 minutos (Coudoré y cols., 1994a; Uhr y cols., 2000).

En cuanto a la *distribución* diremos que, la alta liposolubilidad de los antidepresivos tricíclicos, incluida la amitriptilina, les permite atravesar con facilidad la

barrera hematoencefálica y también la placentaria, y se retienen sobre todo en el sistema nervioso central, el hígado y el riñón (Velasco y Álvarez, 1988).

La amitriptilina se *metaboliza* ampliamente en el hígado, dando lugar entre otros, al metabolito activo nortriptilina. Se *elimina* principalmente por la orina, de forma relativamente lenta (Del Río, 1997), siendo su semivida de eliminación entre 9-36 horas. La vida media de este fármaco en la población adulta, es decir, el tiempo en el que se reduce a la mitad su concentración en plasma, está entre las 16-26 horas, teniendo en cuenta una dosis media de 50-300 mg/día (Nemeroff y Schatzberg, 2001) y en los ancianos, con una dosis inferior (30-100 mg/día) de 10-22 horas (Gareri y cols., 2000). La amitriptilina presenta su pico plasmático a las 6 horas de administración oral en los seres humanos, momento en el que alcanza su mayor concentración en plasma (Reynolds, 1982). En ratones, la eliminación de este fármaco se produce aproximadamente pasadas 3 horas de la administración aguda i.p. de 20 mg/kg (Coudoré y cols., 1994a) ó de 10 mg/kg tras 6 administraciones sucesivas (Coudoré y cols., 1994b).

3.5.1.2. Farmacodinámica de la amitriptilina

Los antidepresivos tricíclicos, como hemos dicho anteriormente, son un grupo poco selectivo y actúa sobre muchos sistemas de neurotransmisión, como si fueran cinco antidepresivos en uno, debido a que inhiben la recaptación de noradrenalina, serotonina y dopamina (que les confiere sus propiedades antidepresivas) y bloquean los receptores postsinápticos muscarínicos, histamínicos y adrenérgicos α_1 (los causantes de los efectos secundarios) (Stahl, 2002). A diferencia de los demás antidepresivos, la amitriptilina consigue en humanos efectos secundarios apreciables desde dosis bajas hasta dosis altas. El estudio *in vitro* de los antidepresivos en distintas áreas del cerebro

humano la sitúan entre los antidepresivos con mayor afinidad por los receptores H₁, por los receptores muscarínicos y por los receptores α_1 (Cusak y cols., 1994; Richelson y Nelson, 1994).

A continuación, en el Cuadro 3.e. se muestra el *mecanismo de acción* de la amitriptilina en los distintos sistemas de neurotransmisión en los que actúa:

ACCIÓN DE LA AMITRIPTILINA SOBRE LOS NEUROTRANSMISORES		
Acetilcolina	<ul style="list-style-type: none"> • Afinidad por los receptores muscarínicos • Potencia anticolinérgica 	↑ ↑
Histamina	<ul style="list-style-type: none"> • Afinidad por los receptores histaminérgicos H₁ 	↑
Noradrenalina	<ul style="list-style-type: none"> • Afinidad por los receptores adrenérgicos α_1 • Afinidad por los receptores adrenérgicos α_2 • Actividad inhibidora de la recaptación de noradrenalina 	↑ ↔ ↔
Serotonina	<ul style="list-style-type: none"> • Afinidad por los receptores serotoninérgicos 5-HT₁ • Afinidad por los receptores serotoninérgicos 5-HT_{2C} y 5-HT_{6/7} • Actividad inhibidora de la recaptación de serotonina 	↓ ↔ ↔
Dopamina	<ul style="list-style-type: none"> • Afinidad por los receptores dopaminérgicos D₂ • Actividad inhibidora de la recaptación de dopamina 	↓ ↓

Cuadro 3.e. Acción de la amitriptilina sobre los sistemas de neurotransmisión. Nota: ↑ (alta), ↔ (moderada) y ↓ (baja). Elaborado a partir de: Azanza (2000), Brunello y Racagni (1998), Cusak y cols. (1994), Richelson (1987).

3.5.2. Indicaciones terapéuticas y efectos secundarios de la amitriptilina

La amitriptilina está indicada principalmente para el tratamiento de la depresión, pero además de ser un eficaz antidepresivo (Sauer y cols., 2003), también se emplea como analgésico, para aliviar los dolores de cabeza, el dolor crónico y migrañas (Guler y cols., 2005; Khromow y cols., 2005; Lynch, 2001), utilizándose también como tratamiento preventivo de la migraña (Berilgen y cols., 2005); y para tratamiento de la cistitis (van Opheven y Hertle, 2005), estrés (Cavaljuga y cols., 2003b), etc. Puede ser tan efectiva como los ansiolíticos en las depresiones que cursan con síntomas ansiógenos (Davidson, 2001). Dicho fármaco, que es un potente anticolinérgico (Sein y cols., 2005), se suele usar como comparación para los efectos de otros antidepresivos, por ejemplo, para ver cual es el efecto anticolinérgico en humanos (e.g. Thompson, 1991) y en animales (e.g. Takahashi y cols., 1995). Además, como sabemos, la población anciana es más sensible a todo tipo de fármacos que el resto de ella; por lo que, la amitriptilina no está muy indicada para ellos, ya que potencia los efectos adversos que provoca el fármaco en sí (Helton y cols., 2006), como por ejemplo cardiopatías (Taibjee y cols., 2005).

En el Cuadro 3.f. se resumen algunos efectos secundarios de la amitriptilina, teniendo en cuenta el mecanismo de acción de los neurotransmisores.

ALGUNOS EFECTOS ADVERSOS DE LA AMITRIPTILINA SOBRE LOS NEUROTRANSMISORES		
Acetilcolina	Afinidad por los receptores muscarínicos.	Sequedad de boca, estreñimiento, excesiva sudoración, taquicardias, visión borrosa y retención urinaria.
Histamina	Afinidad por los receptores histaminérgicos H ₁ .	Acción sedativa, ganancia de peso, sensación de fatiga, descoordinación psicomotora, aturdimiento y enlentecimiento motor.
Noradrenalina	Afinidad por los receptores adrenérgicos α_1 y α_2 . Actividad inhibidora de la recaptación de noradrenalina.	Hipotensión postural (mareos y caídas) y sedación. Taquicardias, hipotensión ortostática, arritmias, síncope y trombosis.
Serotonina	Afinidad por los receptores serotoninérgicos 5-HT. Actividad inhibidora de la recaptación de serotonina.	Insomnio, hipotensión, aumento del apetito y aumento de peso. Náuseas, dolores de cabeza y diarrea.
Dopamina	Afinidad por los receptores dopaminérgicos D ₂ . Actividad inhibidora de la recaptación de dopamina.	Efectos sexuales, acatisia, temblores y cambios endocrinos. Débil activación psicomotora.

Cuadro 3.f. Algunos efectos secundarios de la amitriptilina sobre los sistemas de neurotransmisión. Elaborado a partir de: Azanza (2000), Brunello y Racagni (1998), Cusak y cols. (1994), Cookson (1993), Del Río (1997), Frazer (1997, 2001), Fava (2000), Hindmarch (1999), Richelson (1987), Richelson y Nelson (1984), Sachs y Guille (1999).

3.5.3. Amitriptilina y procesos cognitivos

3.5.3.1. Amitriptilina y procesos cognitivos en humanos

Los deterioros cognitivos asociados a los estados depresivos pueden mejorar con la administración de antidepresivos (Deuschle y cols., 2004), pero también pueden persistir o incluso ser los responsables de tales problemas (Amado-Boccaro y cols., 1995). Si bien es cierto que todos los antidepresivos parecen poseer la misma

efectividad clínica, no todos tienen el mismo impacto sobre la memoria. En concreto, el tratamiento crónico con amitriptilina alivia los síntomas depresivos, pero además deteriora el funcionamiento de otros procesos: dificultad para concentrarse, pensar, calcular, tomar decisiones o juicios, comprender el lenguaje y recordar información general o sobre todo eventos personales, con respecto a los sujetos que toman antidepresivos y también en una clara perturbación de la vida diaria del paciente (Amado-Boccarda y cols., 1995; Bassuk y cols., 1998; Dozois y Dobson, 2001; Fossati y cols., 1999; Pelosi y cols., 2000; Riedel y van Praag, 1995; Thompson, 1991).

La investigación pone de manifiesto que este fármaco afecta negativamente a la memoria, tanto en su administración aguda como crónica (Amado-Boccarda y cols., 1995; Lane y O'Hanlon, 1999; Riedel y van Praag, 1995; Thompson, 1991), en sujetos no deprimidos como en deprimidos, jóvenes o ancianos (Knegtering y cols., 1994; Lane y O'Hanlon, 1999; Riedel y van Praag, 1995). La amitriptilina es el fármaco más empleado para evaluar las funciones cognitivas, entre ellas la memoria (Thompson, 1991) debido a sus propiedades anticolinérgicas y sedativas (Cusak y cols., 1994; Epstein y cols., 2003; Sein y cols., 2005) y sobre todo en los primeros días, ya que con la toma continuada, la depresión se alivia y los efectos remiten en algunos estudios (Danion, 1993).

En algunos estudios donde se ha experimentado con sujetos no deprimidos y a los que se les ha administrado amitriptilina de forma aguda, se ha observado que la dosis de 25 mg deteriora la memoria a corto plazo, necesaria para identificar de entre una serie de dígitos un par de estímulos, apenas segundos después de su presentación, y además redujo su habilidad psicomotora, incrementó el tiempo de reacción y redujo su atención, incluso cuando la evaluación se pasaba a las 1, 2.25, 3.5, 6 ó 9 horas del tratamiento (Hindmarch, 1998; Kerr y cols., 1996), ó 2, 4 y 6 horas después (Hindmarch

y cols., 2000). Además, según Amado-Boccaro y cols. (1995) la administración aguda de este fármaco en sujetos deprimidos, generalmente también ha provocado deterioro cognitivo.

En la literatura especializada, la mayoría de los trabajos muestran una mejoría de la memoria aproximadamente a la cuarta semana de tratamiento con antidepresivos en sujetos deprimidos. En el caso de la amitriptilina, la normalización en las pruebas de atención se produce tras la tercera semana de tratamiento, ya que el impacto sedativo va desapareciendo poco a poco, por efecto de la tolerancia (Amado-Boccaro y cols., 1995; Lane y O'Hanlon, 1999). Aunque se ha visto, en algunos estudios, que persiste el deterioro cognitivo, en concreto, para la memoria implícita; como es el caso de Lamping y cols. (1984) que administraron 105 mg/día de manera crónica durante 28 días, y comprobaron que afectó negativamente a la ejecución de unas pruebas de memoria de reconocimiento del material, pero no a las de recuerdo ni a la ejecución psicomotora. Además, la administración de 116 mg/día durante una semana, afectó negativamente a la memoria a largo plazo, de manera que los sujetos apenas recordaban palabras presentadas 45 minutos antes, pero este efecto desapareció cuando el tratamiento se alargó hasta tres semanas (McNair y cols., 1984). Para la memoria a largo plazo, la tolerancia a la amitriptilina no mejoró los resultados hasta pasadas 4 semanas (Riedel y van Praag, 1995), lo que quedaría por esclarecer es si dicha mejoría obedece a un efecto directo o indirecto del antidepresivo. La memoria inmediata no fue diferente a la de los controles en ningún momento del tratamiento, ni tampoco se vio afectada la memoria a corto plazo e incluso los que estaban bajo tratamiento contestaban más rápido, aunque pasadas 2 ó 3 semanas de tratamiento; por lo que, las pruebas de atención mostraron que los deprimidos contestaban un poco más rápido que los controles, pero en detrimento o disminución de la rapidez de acertar más (McNair y cols., 1984). Tucha y cols. (2002) comprobaron que el enlentecimiento propio de los

deprimidos se agravaba con el tratamiento de la amitriptilina. Su administración crónica en ancianos deprimidos, aumentó los fallos de memoria a partir de 3 semanas de tratamiento e incluso con dosis bajas y en el caso de darse mejoría, esta era más lenta que la observada con otros antidepresivos (Knegtering y cols., 1994).

La investigación de Sternberg y Jarvick (1976) es una de las pocas en las que se describe tras el tratamiento crónico durante 26 días, una mejoría clínica acompañada de un mejor recuerdo inmediato de figuras, datos personales y asociación de pares de palabras, que antes del tratamiento estaban muy por debajo de la ejecución de los controles; sin embargo, la memoria a largo plazo, ni estaba deteriorada en los deprimidos, ni se modificó con el tratamiento.

3.5.3.2. Amitriptilina y procesos cognitivos en animales

Los efectos derivados de la administración de antidepresivos en animales han sido muy variados en cuanto a tareas, procedimientos, cepas, dosis, etc. La administración antes del entrenamiento, de manera aguda, de 4 mg/kg de amitriptilina deterioró la adquisición de la evitación inhibitoria, lo cual mostró en las latencias del test efectos significativamente deteriorantes en ratas (e.g. Shimizu-Sasamata y cols., 1993) y en ratones (e.g. Takahashi y cols., 1995). En ratones modificados genéticamente a los que se les había acelerado el proceso de envejecimiento, se ha observado que la administración aguda de amitriptilina 45 minutos antes del entrenamiento, no tuvo efecto sobre la evitación inhibitoria (Suzuki y cols., 1995).

En otros casos, administrada de manera crónica durante 14 días, mejoró el aprendizaje en aquellas ratas a las que se les sometió a efectos deteriorantes de la bulbectomía, antes del entrenamiento, pero no se observaba este efecto si la administración era aguda o se daba sólo durante 7 días (Takeuchi y cols., 1997). El

deterioro inducido por la escopolamina se potenció cuando se administró amitriptilina antes (Yamaguchi y cols., 1995) ó después de aprender el condicionamiento (Kumar y Kulkarni, 1996). Éstos últimos administraron tras el entrenamiento de evitación inhibitoria 1, 5 ó 10 mg/kg de amitriptilina a ratones y comparados con el grupo control, sólo los tratados con la dosis de 10 mg/kg mostraron una peor consolidación. En nuestros estudios, la administración de 7.5, 15 y 30 mg/kg también bloqueó la consolidación de la evitación inhibitoria en los ratones machos, y en las hembras en la dosis de 7.5 y 15 mg/kg (Everss y cols, 1999). Además, en una tarea de evitación inhibitoria con la administración de 30 mg/kg de amitriptilina, se ha observado que: (1) la administración aguda y crónica, deteriora la memoria en machos y hembras, (2) el piracetán contrarresta el efecto deteriorante que ha provocado la amitriptilina administrada de forma aguda en machos y hembras, y (3) el piracetán también contrarresta el deterioro de la amitriptilina administrada de manera crónica en machos, pero no en hembras (Arenas y cols., 2005; Everss y cols., 2005; Parra y cols., 2006).

En ratas, la administración pretest no influyó en el recuerdo del aprendizaje de la evitación inhibitoria (Klint, 1991). Sansone (1978) encontró que la administración de 2.5 y 5 mg/kg deterioraba la adquisición del condicionamiento de evitación activa al administrarla 15 minutos antes de cada sesión y, en un estudio posterior y de diseño similar, replicó los resultados: la administración de 5 ó 7.5 mg/kg de amitriptilina 15 minutos antes de cada sesión (3 sesiones de 50 ensayos cada una), ó de 5 mg/kg 15 minutos antes de cada sesión (3 sesiones de 100 ensayos cada una), también deteriora el condicionamiento de evitación activa (Sansone y cols., 1999). Y para finalizar, diremos que en otro estudio del mismo grupo de trabajo, se evaluó el efecto de la tacrina y el piracetán donde se revirtió el deterioro inducido por la amitriptilina sobre el condicionamiento de evitación activa (Pavone y cols., 1997).

Resumiendo, podemos decir que la amitriptilina parece afectar, en gran medida, a los procesos cognitivos, tanto administrándola de manera aguda como crónica. Estas cualidades de dicho antidepresivo, han de ser tenidas en cuenta antes de recetar este fármaco a los pacientes; y también, no podemos olvidar la investigación animal cuando se va a realizar un estudio conductual, como es nuestro caso.

4. MEMORIA

4.1. INTRODUCCIÓN

Los individuos somos el fruto de nuestras experiencias pasadas. Lo que conocemos, lo que experimentamos, va configurando nuestras características individuales. Este proceso es posible gracias a la intervención de las capacidades de aprendizaje y memoria, mediante las cuales adquirimos nuevas respuestas que podrán influir, de forma más o menos determinante, en nuestra conducta futura. Aunque es difícil comprender procesos tan complejos, Squire (1987) definió el *aprendizaje* como el proceso por el cual se adquiere nueva información, y *memoria*, como la persistencia del aprendizaje en un estado al que se pueda acceder posteriormente. En cualquier caso, ambos conceptos están entrelazados. De hecho, el aprendizaje también suele definirse como el proceso por el cual se adquiere la memoria y para poder constatar si ha tenido lugar un aprendizaje o una memoria es necesario que induzcamos su evocación o “recuerdo” (Sandi y cols., 2001). Así, se tiende a pensar en la memoria como un ente aislado, independiente y tangible; sin embargo, aprendizaje y memoria están íntimamente unidos y es difícil hablar del uno sin hacer referencia al otro. Es decir, al hablar de memoria debemos referirnos a otro proceso importante, el aprendizaje (Tarpy, 1986) y, de hecho, no se puede saber si algo se ha aprendido hasta que se intenta recuperar posteriormente de la memoria. Si entendemos por memoria los cambios más o menos duraderos que se producen en el sistema nervioso como fruto de una experiencia, antes necesariamente se ha tenido que dar esa experiencia para que se produzca el aprendizaje (Kein, 1994).

Comprender la fisiología de la memoria es el desafío fundamental de la investigación en Neurociencia (e.g. Barbeau y cols., 2005; Peters y cols., 2005). El cerebro es complejo, y también lo son el aprendizaje y la memoria. Aunque los cambios individuales que tienen lugar en las células cerebrales pueden ser relativamente simples,

el cerebro se estima que consta de unas cien mil millones de neuronas. Por consiguiente, aislar e identificar los cambios específicos responsables de un tipo concreto de memoria resulta extremadamente difícil. De manera parecida, aunque los elementos de una determinada tarea de aprendizaje pueden ser simples, sus implicaciones para un organismo pueden resultar muy complejas. Puede que la conducta que el investigador observa y mide, constituya solo uno de los múltiples cambios resultantes de una determinada experiencia. Sin embargo, a pesar de estas dificultades, los largos años de trabajo parecen estar dando su fruto al fin. Se han desarrollado enfoques y métodos nuevos a partir de los antiguos, habiéndose producido un progreso real en la comprensión de la anatomía y la fisiología del aprendizaje y el recuerdo (Carson, 2006).

Los organismos vivos adquieren, conservan y utilizan todo un conjunto de informaciones y de conocimientos que son tratados y almacenados por el sistema nervioso; no hay conocimiento ni inteligencia sin memoria. De todos modos la memoria no es un registro pasivo de experiencias vivas. La máquina neural crea información, el recuerdo que tenemos de un hecho está impregnado de impresiones y de imágenes que reflejan nuestra interpretación de ese hecho y nuestra propia historia, a lo que se añaden las señales elementales transmitidas por nuestros sentidos. De este modo nuestra memoria no solo encierra nuestras percepciones, nuestros actos y sus fines; sino también nuestros sentimientos, nuestra imaginación e incluso el camino seguido por nuestro pensamiento. El conjunto de experiencias almacenadas en el cerebro es la marca de nuestra identidad (Laroche, 1999).

4.2. ESTADIOS DE MEMORIA

Los intentos de clasificación de la memoria han sido múltiples y, por tanto, se han propuesto distintas divisiones. Basándonos en Sandi y cols. 2001, existen dos tipos principales de clasificación de la memoria centrándonos en dos criterios: (1) de acuerdo al curso temporal de la memoria (fases de la memoria), y (2) atendiendo a los contenidos o procesos de memoria (tipos de memoria).

4.2.1. Fases de la memoria

La información requiere un tiempo en adquirirse y dicha información también necesita tiempo para ser accesible al recuerdo, por lo que, se han distinguido varias fases de la memoria. A continuación se expone una serie de conceptos que aglutinan un alto consenso en el área de la Neurociencia conductual, por haberse formulado a partir de numerosos datos empíricos obtenidos mediante la aplicación de diversas técnicas (farmacológicas, de lesión, neurodegenerativas) en distintas especies animales (moscas, pollos, roedores) (DeZazzo y Tully, 1995). Se ha propuesto una clasificación que parte de una idea antigua, como por ejemplo la de Atkinson y Shiffrin que propusieron en 1968, que existen tres etapas en el almacenamiento de la información: memoria sensorial, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo.

La *memoria sensorial o inmediata* recoge durante un breve periodo de tiempo (0.25 a 4 segundos) copias exactas de estímulos externos (visuales, auditivos, etc.). Por supuesto, no todos los estímulos presentes en un determinado momento son objeto de ésta, sino solo aquellos para los cuales prestamos atención (labor selectiva). Aquí, la información no sufre ningún tipo de procesamiento, y desaparece con la entrada de estímulos nuevos (Duka y cols., 1996; Klein, 1994).

Dentro de los diversos tipos de memoria centradas en los órganos sensoriales, destacan, la *memoria icónica* y la *memoria ecoica*. La memoria icónica almacena copias visuales (iconos), y dura entre 0 y 1 segundo; y la memoria ecoica almacena copias auditivas (ecos), tendiendo una duración entre 2 y 4 segundos. La duración de la ecoica es mayor que la icónica, debido a la mayor permanencia de los ecos (Klein, 1994).

La *memoria a corto plazo* es un sistema para almacenar una cantidad limitada de información durante un corto periodo de tiempo (de 15 a 30 segundos), la información es interpretada y organizada para poder acceder a la memoria a largo plazo o decaer paulatinamente; es decir, es una memoria frágil y transitoria que enseguida se desvanece y que resulta muy vulnerable a cualquier interferencia (Morgado, 1998; Sandi y cols., 2001). Sin embargo, otros autores han considerado el término memoria a corto plazo, el cual se desarrolla en unos pocos segundos o minutos y dura algunas horas, como opuesto a la denominada memoria inmediata y a la memoria a largo plazo, ya que esta última se consolida lentamente y es relativamente permanente (Izquierdo y cols., 2000c; Medina y cols., 1999). Por otro lado también se ha visto, en el desarrollo de tests de retención, que casi siempre hay una disminución entre la memoria medida inmediatamente después del entrenamiento y la memoria medida entre 1.5 y 3 horas después del entrenamiento; esto refleja la diferencia en los registros de retención entre memoria de trabajo, memoria a corto plazo y no extinción (Medina y cols., 1999).

Un tipo peculiar de memoria a corto plazo es la *memoria de trabajo*, pero en ocasiones se utiliza como sinónimo de ésta. Este término se aplica al almacenamiento temporal de información que necesita mantenerse accesible mientras está siendo objeto de un procesamiento. Se trata de un tipo de memoria particularmente empleada durante el aprendizaje de destrezas complejas que requieren la representación simultánea de distintos tipos de información para su procesamiento cognitivo. Por ejemplo, la

memoria que utilizamos cuando realizamos mentalmente un problema matemático complejo, o cuando entramos por primera vez en unos grandes almacenes, donde debemos orientarnos, etc. (Sandi y cols., 2001). Hay otros autores que consideran la memoria de trabajo como una especie de memoria explícita a corto plazo (Kandel y cols., 1997; Morgado, 1998), y otros que es independiente de la memoria a corto plazo o es una especie de transición a la memoria a largo plazo, diciendo que hoy en día se diferencia entre memoria a corto plazo, memoria de trabajo y memoria a largo plazo (Laroche, 1999). Por lo tanto, existen autores que nos dicen que no hay que confundir la memoria de trabajo con la memoria a corto plazo, ya que son tipos de memoria separadas y que están integradas en áreas cerebrales diferentes (Barros y cols., 2002a, 2005; Izquierdo y cols., 1998, 2002).

La *memoria intermedia* es un tipo de almacén necesario e intermedio entre la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo (Farkas y Crowe, 2000; Kandel y cols., 1997; Matthies, 1989; Rosenzweig y cols., 1993). Esta memoria intermedia funcionaría como un sistema de búsqueda o recuperación y sería relativamente susceptible de alteración. Izquierdo y cols. (2000b) no apoyan la existencia de este almacén intermedio de la información y consideran que este tipo de memoria, que se forma en unos segundos o minutos y que perdura durante varias horas, constituye realmente la memoria a corto plazo.

La *memoria a largo plazo o de referencia* es un sistema para almacenar una gran cantidad de información durante un tiempo ilimitado. A diferencia de la memoria a corto plazo, es una memoria estable y duradera, muy poco vulnerable a las interferencias (Morgado, 1998; Sandi y cols., 2001). Sin embargo, no siempre se consigue recordar toda la información almacenada en la memoria a largo plazo, la recuperación de la misma, según Klein (1994) puede verse impedida por sucesos como:

la interferencia (la presencia de otros recuerdos en la memoria a largo plazo puede impedir el recuerdo de una experiencia concreta) y la ausencia de estímulo específico (también el recuerdo de esta información puede verse alterado por la falta de un estímulo que permite recuperar esa memoria).

El proceso por el cual la memoria a corto plazo se convierte en memoria a largo plazo ha sido denominado *consolidación de la memoria*, porque los recuerdos se hacen “sólidos”. Una vez consolidadas, las memorias son relativamente estables, pero el proceso mismo de consolidación parece ser gradual y la memoria a largo plazo suele presentar grados crecientes de estabilidad a medida que pasa el tiempo y con la repetida evocación de la información almacenada (Carlson, 2006; Morgado, 1998); siendo dicho periodo de evocación de la memoria variable y con diversidad de opiniones (e.g. Alberini, 2005; Boccia y cols., 2005; Cammarota y cols., 2004; Dudai y Eisenberg, 2004).

Sin embargo, hay estudios realizados que muestran que la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo implican mecanismos separados (Izquierdo y cols., 2000c; Walz y cols., 2005). Estos autores administran sustancias para ver la actividad neural en zonas restringidas del hipocampo y áreas vecinas, y miden su repercusión en la evitación inhibitoria en ratas. Izquierdo y cols. (2000c) han administrado cuatro tratamientos experimentales, y han observado que se puede bloquear la memoria a corto plazo sin que se vea afectada la memoria a largo plazo. Esto nos sugiere que para que se de la memoria a largo plazo no es necesario que se procese primero la memoria a corto plazo, sino que se trata de procesos paralelos (Izquierdo y cols., 1998, 1999, 2000c; Medina y cols., 1999).

A modo de resumen, se podría decir que en el entorno neurobiológico se considera que para que llegue a formarse una memoria a largo plazo, han de tener lugar las dos fases previas; es decir, la información se establecería en una memoria a corto plazo, a continuación vendría una memoria intermedia, y finalmente una memoria a largo plazo (Sandi y cols., 2001). Por tanto, la formación de la memoria requiere una serie de etapas sucesivas (ver Figura 4.1.): (1) recibir y codificar la información que llega al almacén a corto plazo (Adquisición), (2) para que después pueda almacenarse gradualmente en la memoria a largo plazo (Consolidación); y gracias a las etapas anteriores, (3) acceder a esa información mediante el recuerdo (Evocación o Recuperación). Todas estas etapas están relacionadas entre sí, por lo que un fallo en alguna de ellas repercutiría en las demás (Baddeley, 1994).



Figura 4.1. Modelo esquematizado de los procesos cognitivos durante la formación de la memoria. Tomado de Sandi y cols., 2001, p. 78.

El estudio de estas fases por separado es complicado, ya que las técnicas tradicionalmente empleadas pueden estar afectando a más de una durante el proceso, aunque el empleo de nuevas técnicas farmacológicas, genéticas o lesiones reversibles, están concretando cada vez más dichas características (Abal y Lattal, 2001; Izquierdo y McGaugh, 2000).

En la Figura 4.2. se presenta un esquema de las fases de la memoria descritas en este punto.

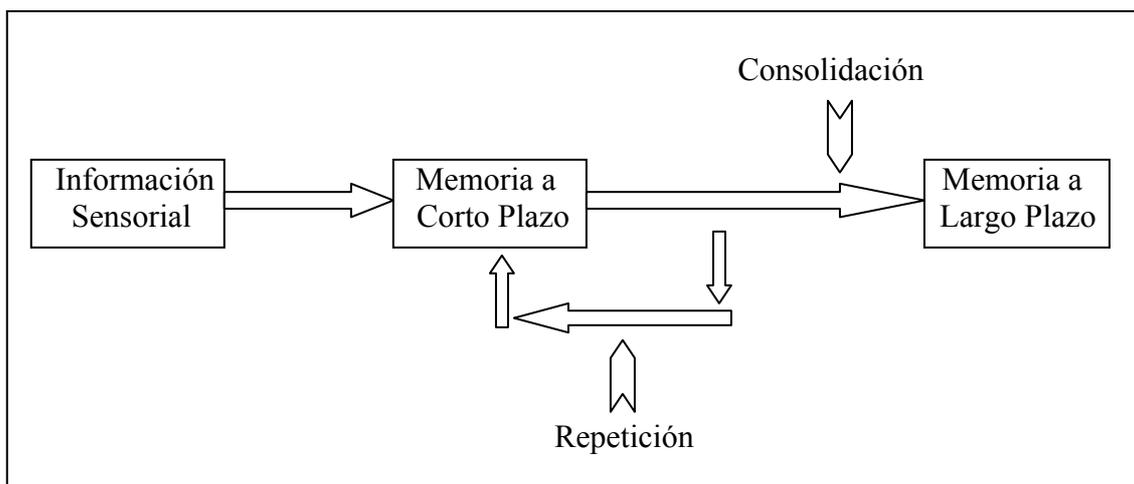


Figura 4.2. Modelo secuencial de la adquisición de la información. Extraído de Carlson (2006).

4.2.2. Tipos de memoria

Como se ha comentado anteriormente, son diversas las clasificaciones de la memoria, bien atendiendo a su duración o al contenido de ella. En este punto se expondrán tipos de memoria en función de la clase de información que almacenan, es decir, en base a su contenido.

Una de las ideas más debatidas es establecer la distinción de cuales son los diversos componentes de la memoria a largo plazo, los cuales dependen de estructuras cerebrales distintas (Potlster, 1993; Squire y Zola, 1996). A continuación seguiremos la clasificación de Thompson y Kim (1996), que es una adaptación de Squire y Zola (1996); diciendo que la memoria a largo plazo se divide en: memoria no declarativa o implícita y memoria declarativa o explícita.

La *memoria no declarativa o implícita* es la memoria sobre habilidades y destrezas, y sobre reacciones emocionales ante estímulos del ambiente. Generalmente

no es accesible al conocimiento consciente y no puede expresarse con palabras. Su aprendizaje es lento, pero más seguro que en el caso de la memoria declarativa (Squire y Zola, 1996) y menos flexible, es decir, más específica de las condiciones en las que la información se adquiere (Reber y cols., 1996). En este tipo de memoria se acumula destreza y automatización a través de ensayos reiterados, aunque no haya consciencia de la información y del aprendizaje logrados.

La memoria implícita puede ser de dos tipos: aprendizaje no asociativo y aprendizaje asociativo. El *aprendizaje no asociativo* se produce cuando se expone a un sujeto, una o repetidas veces, a un solo tipo de estímulo, adquiriendo experiencia y no teniendo necesariamente una relación temporal. Hay dos tipos de aprendizaje no asociativo que son muy frecuentes en la vida diaria: la habituación y la sensibilización. La “habituación” es un descenso de la respuesta a un estímulo moderado, repetitivo. La “sensibilización” es un fortalecimiento de la respuesta a una amplia variedad de estímulos, que sigue a un estímulo intenso o nocivo. Además, un estímulo sensibilizador puede anular los efectos de la habituación, llamándose a este proceso “deshabitación”. La sensibilización y la deshabitación no dependen del momento exacto en que se da el estímulo intenso respecto al estímulo más débil: no se necesita una asociación entre los dos estímulos (Kandel y cols., 1997).

El *aprendizaje asociativo* implica asociaciones entre eventos, bien un estímulo y una respuesta, una respuesta y sus consecuencias o bien entre dos o más estímulos. Los dos paradigmas experimentales que se han estudiado ampliamente son: el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante. El “condicionamiento clásico” implica aprendizaje de una relación entre dos estímulos, mientras que el “condicionamiento operante o instrumental” implica aprendizaje de una relación entre un estímulo y la conducta de un organismo (Kandel y cols., 1997). Como vemos, se ven

implicadas respuestas emocionales y respuestas musculares esqueléticas. Algunos autores incluyen las habilidades y los hábitos como procesos pertenecientes a la memoria no declarativa (Squire y Zola, 1996; Thompson y Kim, 1996). Las “habilidades”, a diferencia de los hábitos, son procedimientos motores, perceptibles y cognitivos que sirven para desenvolverse en el mundo; mientras que los “hábitos” son como tendencias que guían la conducta y que se desarrollan a partir de una determinada situación, hecho de lo que podemos ser o no conscientes.

La *memoria declarativa o explícita* se refiere a la capacidad de mantener en la memoria los acontecimientos relacionados con el aprendizaje (Baddeley, 1994), que también se puede llamar relacional. Esta memoria nos permite tener consciencia de la tarea aprendida, siendo capaces de describirla (Thompson y Kim, 1996). Además, codifica información sobre acontecimientos autobiográficos, así como sobre conocimientos de hechos. Su formación depende de procesos cognitivos tales como evaluación, comparación e interferencia. Las memorias explícitas pueden recordarse por un acto deliberado de evocación (Kandel y cols., 1997); su aprendizaje es rápido pero no seguro, ya que es posible que se produzca el fenómeno de olvido, pero es flexible. Sería un tipo de memoria perceptiva sobre la que podemos pensar y hablar. Anatómicamente, depende de estructuras y proyecciones ubicadas en el lóbulo temporal medial, siendo fundamentalmente el hipocampo, la zona cerebral más implicada para este tipo de memoria (Carlson, 2006).

Según Rolls (2000) hay dos tipos de memoria declarativa o explícita: la memoria episódica (memoria para episodios particulares o acontecimientos vividos) y la memoria semántica (memoria para los datos concretos aprendidos).

La *memoria episódica* es un tipo de memoria autobiográfica, necesaria para aquello que sucede en el contexto espacio-temporal concreto y que nos permite conservar experiencias personales (Nyberg y Tulving, 1996). Sirve principalmente para orientarse en el tiempo y en el espacio, permitiendo también el recuerdo de sucesos puntuales, con lo que aumenta la memoria semántica. Algunos autores postulan que la memoria episódica es indispensable para la memoria semántica (Baddeley, 1994), mientras que para otros esto se pone en duda (Squire y Zola., 1996). La *memoria semántica* es más genérica y hace referencia al conocimiento que se tiene del mundo (Nyberg y Tulving, 1996).

La *memoria espacial*, muy estudiada en los animales (e. g. Bunce y cols., 2003; Clapcote y cols., 2005; Lu y cols., 2005; Melo y cols., 2005; Yau y cols., 2002), es otro ejemplo de memoria explícita. El animal explora el ambiente, se desplaza y construye un mapa cognitivo de su entorno, que le permite representar simultáneamente las relaciones espaciales entre diferentes puntos significativos (como por ejemplo, formar mapas cognitivos utilizándolos para guiarse hasta la comida u otras recompensas). Este mapa, construido gracias a la integración de las informaciones sensoriales adquiridas sucesivamente a lo largo de sus desplazamientos, proporciona un marco de referencia en el que se encuentran ubicados los objetos, el mismo sujeto y todo el lugar, ocupado o no. O'Keefe y cols. (1971) descubrieron que en el hipocampo hay neuronas que se activan específicamente cuando un animal pasa por un determinado lugar de su entorno. Estas neuronas, llamadas neuronas de lugar, son muy numerosas en el hipocampo (Laroche, 1999). Experimentos con procedimientos tales como el laberinto radial de Olton o el laberinto acuático de Morris, han ayudado a establecer que este tipo de memoria tiene una capacidad y una duración mucho mayor en animales que la memoria a corto plazo normal en humanos. De todas formas, algunos autores defienden que este mismo tipo de memoria podría existir a largo plazo (Carlson, 2006; Laroche, 1999).

No obstante, hay que añadir, que mencionados tipos de memorias explícitas (memoria episódica, semántica y espacial) se siguen estudiando en la actualidad para poder seguir esclareciendo dudas sobre ellas; viendo así cómo actúan en nuestro cerebro y que existen múltiples teorías al respecto (e.g. Buzsaki, 2005; Moscovitch y cols., 2005).

En el Cuadro 4.a. se presenta un esquema de los diversos tipos de memoria definidos en este punto.

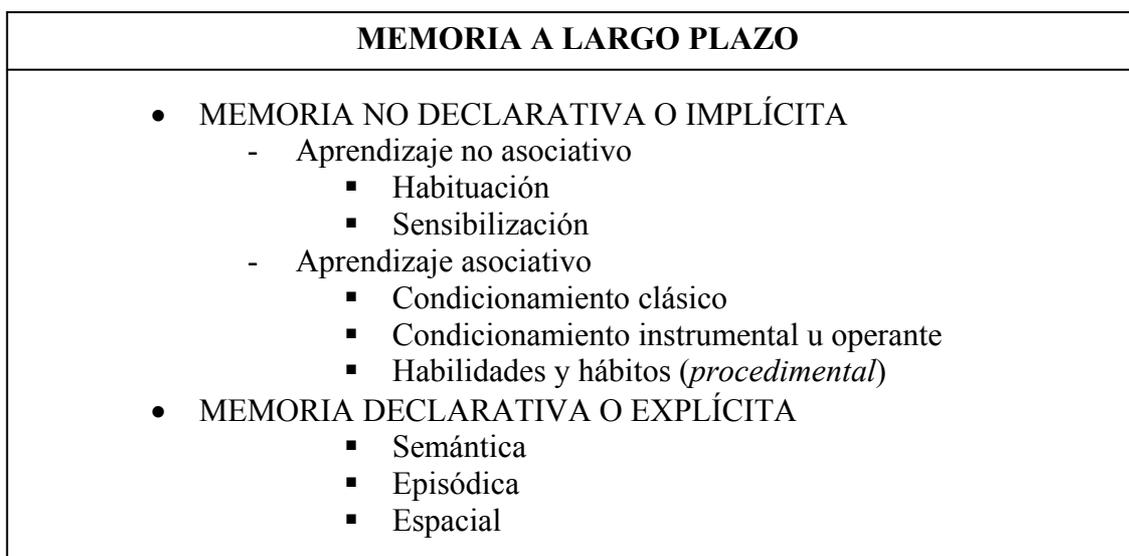


Figura 4.a. Tipos de memoria.

4.3. NEUROBIOLOGÍA DE LA MEMORIA

Conocer bien los mecanismos cerebrales implicados en la organización de las funciones cognitivas es una tarea extremadamente difícil, dada la enorme complejidad del cerebro en todos y cada uno de sus elementos, niveles e interrelaciones entre los mismos. No obstante, el avance reciente en este área es patente (Sandi y cols., 2001).

No existen centros nerviosos aislados ni un único centro donde se almacene o “localice” la memoria. La memoria no es un concepto unitario mediado por un único sistema neuroanatómico. La mayoría de las investigaciones y aportaciones sobre las estructuras cerebrales que podrían estar implicadas en el aprendizaje y almacenamiento de las experiencias, se ha producido en las últimas décadas. El estudio de pacientes con lesiones cerebrales subcorticales, con síndrome de Wernicke-Korsakoff o Alzheimer, han contribuido enormemente a este auge. Un ejemplo que podemos citar y que ha sido muy estudiado, es el caso del paciente H.M. (e.g. Carlson, 2006; Kandel, 1997; Laroche, 1999; Morgado, 1998). A este paciente le extirparon las áreas mediales de sus lóbulos temporales para aliviarle de su epilepsia. Esta lobectomía temporal medial bilateral también eliminó parte del hipocampo, la amígdala y la corteza adyacente; estructuras todas ellas de gran importancia en la memoria. La operación, aunque fue un éxito a nivel clínico, le produjo graves daños en la memoria: H.M. fue incapaz de recordar eventos recientes aun cuando su memoria de trabajo, el recuerdo de eventos menos recientes y el aprendizaje de habilidades permanecían intactos. Sin embargo, para la ciencia, su evaluación supuso el postulado de nuevas teorías acerca de la memoria y del almacenamiento de la información, siendo “la piedra Roseta” de las bases neurales de la memoria, a partir de la cual, se generó una actividad investigadora amplísima (Pinel, 2001).

Se han realizado experimentos controlados con animales y se han seguido investigando casos clínicos de pacientes, con algún tipo de amnesia, para así avanzar en el estudio. Además, en los últimos años se ha incrementado el interés por estudiar los procesos moleculares y estructurales de la memoria. Prueba de ello es la concesión en 2000 del Premio Nobel en Fisiología y Medicina a Eric Kandel, por su contribución a la investigación sobre mecanismos moleculares implicados en la formación de la memoria.

4.3.1. Neuroanatomía de la memoria

No hay actividad nerviosa que no se vea afectada en alguna medida por el aprendizaje y la memoria, dada la gran cantidad de aprendizajes y memorias posibles. La capacidad de adquirir, almacenar y evocar información implica muchas áreas cerebrales de las cuales algunas desempeñan un papel más relevante que otras. Como dijeron Kandel y cols. (1997) “las bases neurales de la memoria se resumen en dos principios generales: (1) la memoria tiene fases, y (2) la memoria se localiza en diferentes lugares en todo el sistema nervioso.

A continuación, se destacan las áreas relevantes en la memoria, no sin antes señalar y coincidir con Jarrard (2001) en que la dificultad de entender e integrar todos los estudios reside en considerar ciertas estructuras como pertenecientes o no a determinadas áreas, en entender la importancia del área lesionada y su extensión, así como a diferencias en la terminología empleada en la literatura científica.

El *cerebelo* es una estructura esencial en el aprendizaje (Chen y Desmond, 2005; Chen y Wolpaw, 2005; Sacchetti y cols., 2005), siendo ampliamente investigado su papel en el condicionamiento de respuesta de la membrana nictitante en conejos (Stanton, 2000; Thompson y Krupa, 1994) y en otros circuitos (Raymond y cols., 1996). Aunque en un principio se le dio un papel limitado en el control motor, más tarde se ha reconocido su implicación en la memoria de trabajo, la memoria implícita y la explícita (Desmond y Fiez, 1998; Wiggis y cols., 1999).

Sobre el *tálamo*, sus conexiones y estructuras adyacentes, se han realizado numerosas investigaciones en memoria (Bailey y Mair, 2005; Henry y cols., 2004; Mitchell y Dalrymple-Alford, 2005; Sarnthein y cols., 2005; Saunders y cols., 2005). El estudio de la amnesia anterógrada, propia de recuerdos explícitos, y la amnesia

retrógrada (como es el caso del síndrome de Korsakoff), han mostrado que están dañados los núcleos mediodorsales del tálamo y, en algunos casos, los cuerpos mamilares (Pinel, 2001), complejo de núcleos subcorticales cuya lesión deteriora el aprendizaje de la respuesta condicionada a estímulos auditivos (la mayoría de la información sensorial pasa por el tálamo). Según Squire y Zola (1996) el tálamo medial y el lóbulo temporal medial (de quien recibe proyecciones) juegan un importante papel en el aprendizaje y la memoria. Una lesión en el tálamo medial tiene repercusiones en la memoria explícita, aunque los lóbulos temporales mediales estén intactos (Gabrieli, 1998). El tálamo, junto con otras estructuras, se activa ante tareas que requieren el recuerdo de información episódica (Wiggs y cols., 1999).

Para Gaffan (2001) un sistema de memoria sería un área cortical especializada cuya única y esencial función fuera la memoria, pero reconoce que quizás la memoria no tenga una función localizada en la *corteza cerebral*. Las áreas relevantes para la memoria declarativa son el hipocampo y las estructuras del lóbulo temporal medial junto con la corteza cerebral (Eichenbaum y cols., 1996). Los pacientes con lesiones en la corteza prefrontal tienen dificultades para recordar la secuencia temporal de los acontecimientos (Wood y cols., 2000). Sus conexiones con las áreas corticales motoras, además de las sensoriales, permiten la planificación y adaptación de la conducta a las informaciones que se reciben en ese momento (memoria de trabajo) (Arnsten, 1998; Eichenbaum y cols., 1996). También la corteza de asociación en sus distintas modalidades sensoriales es esencial para el reconocimiento de objetos (Carlson, 2006). Squire y Zola (1996) postulan que las áreas corticales adyacentes a la formación hipocampal son una parte esencial del sistema del lóbulo temporal medial que sostiene la memoria declarativa. El estudio mediante técnicas de neuroimagen refleja que las zonas de la corteza parietal, del giro frontal y la corteza prefrontal anterior responden más a las palabras estudiadas que a las nuevas (recuerdo explícito), mientras que zonas

de la corteza temporal y del giro frontal responden menos a las estudiadas que a las nuevas (en el recuerdo implícito) (Donaldson y cols., 2001). En la mayoría de los estudios se describe que es en la corteza cerebral donde la información adquirida, y guardada temporalmente en el hipocampo, se establece de forma permanente (Matynia y cols., 2001); como también es el caso de la relación que se establece entre la memoria de trabajo y la corteza prefrontal (Astur y cols., 2005). Tanto la corteza prefrontal como la amígdala son dos componentes vitales del circuito que sustenta las emociones en el cerebro (Davidson e Irwin, 1999). Además, la corteza prefrontal también está involucrada en los procesos de aprendizaje espacial (Melo y cols., 2005).

Los *lóbulos temporales* son regiones pertenecientes al telencéfalo (Carson, 2006). El paciente E.P. tenía lesionados los lóbulos temporales mediales por una encefalitis (incluyendo la amígdala, el hipocampo y la corteza entorrinal); él conservaba la memoria inmediata, la no declarativa y recuerdos de su infancia, pero tenía amnesia anterógrada y retrógrada para los hechos y conocimientos personales semánticos (Stefanacci y cols., 2000). Se ha observado que el lóbulo temporal medial se activa con el recuerdo de las memorias declarativas, lo cual parece que se correlaciona con mayor exactitud en la información; su activación también se refleja en el aprendizaje procedimental que está mediado por el cuerpo estriado y que es esencial para el comienzo del aprendizaje de habilidades y para la memoria declarativa reciente (Gabrieli, 1998). Además, las nuevas memorias son almacenadas en las estructuras del lóbulo temporal medial a corto plazo, pero que luego se reorganizan y consolidan en la neocorteza hasta consolidarse a largo plazo (Murria y Bussey, 2001).

Aunque la *formación hipocampal* parece estar muy implicada en varios tipos de memoria, es la estructura cerebral que parece estar más relacionada con la memoria declarativa (Eichenbaum, 1997, 1999; Eichenbaum y cols., 1996; Squire, 1992). La

formación hipocampal es una región especializada localizada en el *sistema límbico*, concretamente en su corteza y en el lóbulo temporal. Se ha observado que un daño bilateral de la formación hipocampal produce una amnesia anterógrada severa (Squire y Zola, 1996).

El papel principal de la formación hipocampal parece provenir de la organización de la memoria, manteniendo conexiones entre recuerdos adquiridos de forma independiente y permitiendo el acceso a un conjunto de memorias relacionadas una vez se activa la recuperación de una memoria particular (Alkon y cols., 1991). Esta estructura estaría involucrada en las representaciones que implican cualquier tipo de relación entre estímulos o recuerdos (Alkon y cols., 1991; Eichenbaum, 1997; Eichenbaum y cols., 1996). En dicha formación cerebral la información circula de la corteza entorrinal hacia el giro dentado, de ahí al hipocampo, subículum y vuelve a la corteza entorrinal antes de regresar a las áreas sensoriales (Gluck y Myers, 1998). El subículum media las interacciones entre la formación hipocampal y la corteza cerebral (O'Mara y cols., 2000), y solo la información muy integrada alcanza la formación hipocampal (Lavenex y Amaral, 2000). Las lesiones de la formación hipocampal revelan deterioro de la memoria declarativa y de la memoria de acontecimientos recientes (Squire y cols., 2001).

La importancia del “giro dentado” viene determinada por su relación con los subcampos hipocampales CA1 y CA3 en la amnesia anterógrada (Gabrieli, 1998). Se sabe que la serotonina estimula la proliferación de neuronas en este área (Gould, 1999) y que la administración repetida de descargas eléctricas en ratas, dobla el número de células creadas en este área (Madsen y cols., 2000).

La “corteza entorrinal” es la fuente principal de entradas hacia la formación hipocámpal y además de proyectar a la circunvolución dentada, tiene proyecciones directas y recíprocas a las regiones CA1 y CA3 del hipocampo y al subículum (Lavenex y Amaral, 2000). Parece que su papel es transitorio y temporal por cuanto disminuye la información de distintos lugares de la neocorteza para su almacenamiento gradual y esta de nuevo a punto para adquirir nueva información. En la neocorteza se producen cambios en las conexiones entre las áreas corticales que son las que permiten el almacenamiento duradero de la memoria explícita (Squire y Zola, 1996). También integra la información procesada por la amígdala y el hipocampo durante y después del entrenamiento (Izquierdo y Medina, 1997a) y es fundamental para la memoria de reconocimiento (Suzuki y cols., 1993).

El “hipocampo” es crítico para el aprendizaje y la memoria al establecer extensas y recíprocas conexiones con la neocorteza (Gluck y Myers, 1998; Lavenex y Amaral, 2000; Rosenbaum y cols., 2001). Es esencial para la memoria declarativa en humanos, tanto semántica como episódica (Cipolotti y cols., 2001; Eichenbaum, 1997; 1999; 2001; Eichenbaum y cols., 1996; Gluck y Myers, 1998; Nadel y Moscovitch, 1997, 2001; Roll, 2000; Squire, 1992; Suzuki y Clayton, 2000). Concretamente, el hipocampo media el recuerdo de la secuencia y el contexto de la información de los eventos que componen la memoria episódica, identificando los rasgos comunes entre episodios para unirlos, gracias a lo cual se puede generalizar e inferir soluciones para nuevos problemas (Eichenbaum, 2001). Aunque su papel es más limitado que en los humanos, en los animales el hipocampo es relevante para el aprendizaje relacional, espacial, olfativo y en los condicionamientos (Ambrogio Lorinzini y cols., 1999; Chan y cols., 2001; Eichenbaum, 1996, 1999; Squire, 1992). Las lesiones del hipocampo confirman el paralelismo entre animales y humanos, ya que en ambos habría amnesia para las memorias que necesitan claves contextuales (Rosenbaum y cols., 2001).

Aunque se creyó en principio que era el almacén de la memoria, ahora se defiende que sería el almacén temporal de la información a consolidar (Squire, 1992) que con el tiempo deja de ser esencial (Matynia y cols., 2001) y que quizás la memoria: (1) es adquirida y temporalmente guardada en el hipocampo, pero gradualmente se independiza de éste para ser almacenada en otros sistemas de manera permanente; (2) se guardaría en la corteza, pero necesitaría la participación del hipocampo para su consolidación y recuerdo, mientras que la memoria fuera todavía nueva; y (3) estaría guardada en el hipocampo y en la corteza cerebral. Sin embargo, para Nadel y Moscovitch (1997), el hipocampo y las estructuras adyacentes siguen siendo el almacén permanente de la información a través de la estabilización de diversas formas de memoria guardadas en otras áreas del cerebro (teoría del trazo múltiple). Es decir, las investigaciones nos dicen que forma parte de la consolidación y retención de la memoria (Bevilaqua y cols., 2005; Bonini y cols., 2003; Cammarota y cols., 2004; Ferreira y cols., 2003; Pape y cols., 2005).

El hipocampo no es solo esencial para las primeras fases de la memoria, sino además para el recuerdo en el que se generan nuevas codificaciones que también lo implican (Nadel y Bohbot, 2001). La pérdida de volumen hipocampal asociada con la depresión explicaría los problemas de memoria en estos trastornos conductuales (Sheline y cols., 1996, 1999) y podría ser el resultado del incremento de la muerte neuronal por niveles anómalos de glucocorticoides en las células piramidales CA3 del hipocampo (Sapolsky, 2000; Sapolsky y cols., 1983, 1986). Es en este área donde también se ha descubierto la neurogénesis en el cerebro de adultos (Gould y cols., 1998), nuevas células cuya función no se ceñiría a añadir memoria sino a situar estratégicamente nuevos guardianes en la entrada de la memoria (Kempermann, 2002).

Es importante mencionar que la potenciación a largo plazo pertenece a la biología molecular de la memoria (Pollak y cols., 2006), siendo un tipo de neuroplasticidad celular descubierta al principio del hipocampo y más tarde en otras áreas cerebrales, y parece ser el cambio neuronal capaz de proporcionar una base para la memoria (Malenka y Nicoll, 1999).

Como hemos mencionado, la región hipocámpal es crítica para el aprendizaje y la memoria. En la Figura 4.3. se esquematiza la región hipocámpal, con las estructuras cerebrales localizadas en el interior del lóbulo temporal medial.

El *fórnix* es la mayor proyección hipocámpal subcortical que existe en nuestro cerebro, y sus lesiones provocan efectos leves en la memoria (Squire y Zola, 1996). En experimentación animal, se ha visto que el entrenamiento en algunas tareas, incrementa la fosforilización hipocámpal del CREB, pero no en aquellos en los que el fórnix está lesionado y a los que les fue imposible aprender (Taubenfeld y cols., 1999).

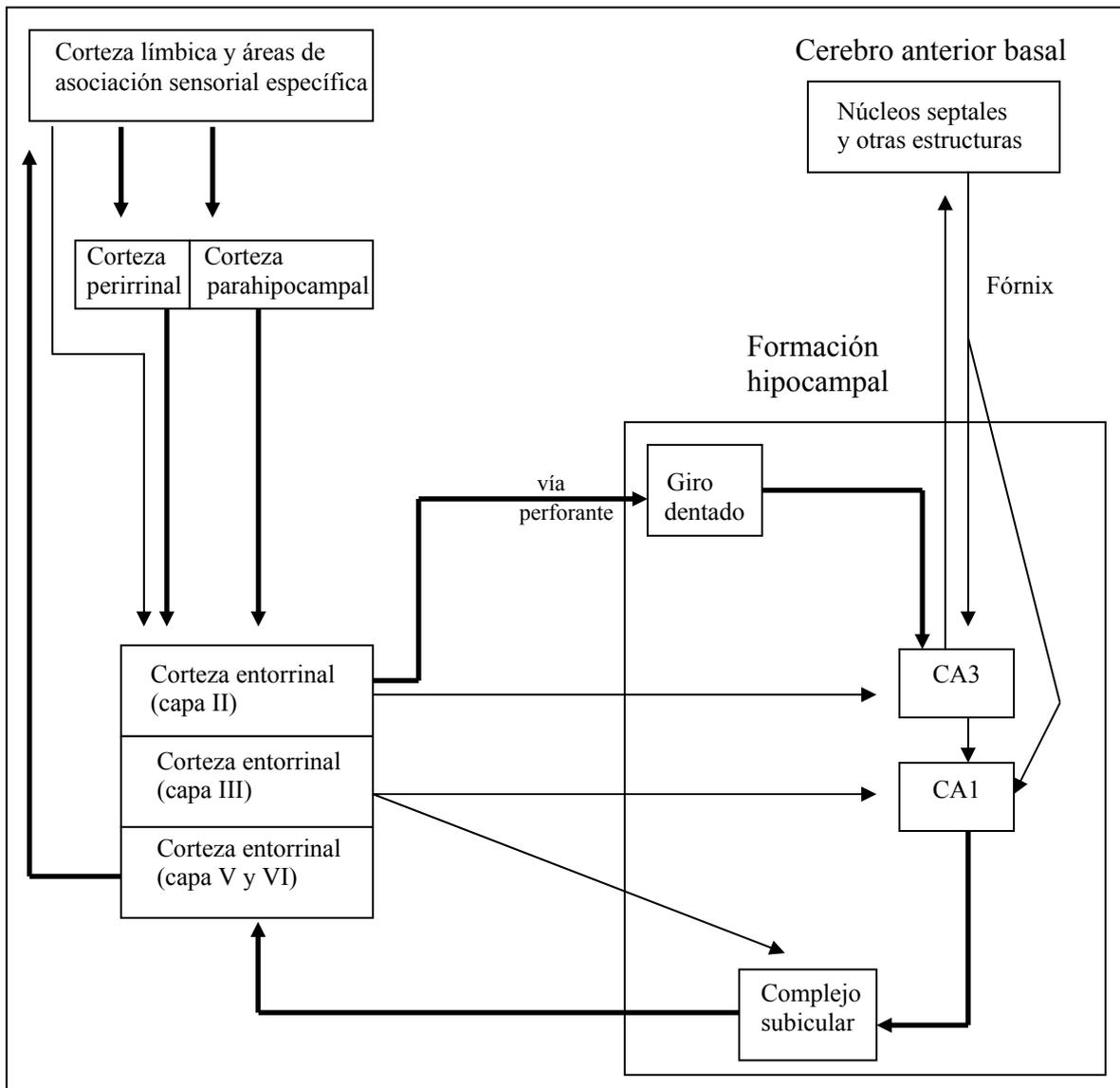


Figura 4.3. Estructuras de la región hipocampal. Esta región incluye el hipocampo y cerca están el giro dentado, el complejo subicular y la corteza entorrinal. La estructura más externa (la corteza entorrinal) recibe información altamente procesada de las modalidades sensoriales y de las áreas de asociación. La información circula bruscamente de manera unidireccional de la corteza entorrinal hacia el giro dentado, de ahí al hipocampo, al complejo subicular y vuelve a la corteza entorrinal antes de regresar a las áreas sensoriales. El camino por donde circula la información tiene muchas conexiones entre las estructuras de esta región. Además, el hipocampo tiene “inputs” o “outputs” a través del fórnix que conexionan con estructuras subcorticales. Adaptado de Gluck y Myers (1998).

La *amígdala* ha sido una estructura muy estudiada y guarda una estrecha relación con la memoria (Barros y cols., 2002, 2005; Bonini y cols., 2005; Lalumiere y cols., 2005; Miranda y McGaugh, 2004; Schafe y LeDoux, 2000; Schafe y cols., 2005; Schneider y cols., 2003), siendo vital para la consolidación de la memoria emocional, como han demostrado los estudios en los que su lesión la bloquea (McGaugh, 2000; McGaugh y cols., 1996; Roozendaal, 2000; Roozendaal y McGaugh, 1996). Para Torras y cols. (2001) la amígdala sería un sistema modulador de la memoria: (1) si su activación facilita/deteriora la memoria; (2) si no fuera necesaria para los procesos de aprendizaje y memoria, pero sí para la manifestación de los efectos moduladores de otras sustancias; y (3) si modula el almacenamiento de la memoria en otras zonas, como por ejemplo el hipocampo. El papel de los glucocorticoides y de la epinefrina en la memoria también está mediado por la amígdala (McGaugh y cols., 1996; Roozendaal, 2000), así como la potenciación a largo plazo (Kim y Jung, 2006; Maren, 1999, 2005).

La amígdala está relacionada con los aprendizajes emocionales y con el almacenamiento de memorias afectivas, por lo que posibilitaría la formación de asociaciones entre estímulos y recompensas que ayudarían a establecer el significado emocional de diferentes situaciones, tanto en animales como en seres humanos (Adolphs y cols., 1998; Anderson y Phelps, 2001; García y cols., 1999; Maren, 1999; McGaugh y cols., 1996; Morris y cols., 1998; Torras y cols., 2001) y juega un papel fundamental en los condicionamientos clásicos (Schafe y LeDoux, 2000; Wilensky y cols., 2000). La amígdala tiene un papel modulador en los condicionamientos clásicos y en la evitación inhibitoria, pero no en el condicionamiento de miedo (Wilensky y cols., 2000). Sin embargo, el entrenamiento de este condicionamiento, la consolidación y la reconsolidación se bloquean si se impide la síntesis de proteínas con la administración de anisomicina después del entrenamiento y antes del test, respectivamente (Nader y cols., 2000).

En el *cuerpo estriado* parece que se almacenan los recuerdos que se forman a lo largo de muchos ensayos (formación de destrezas y hábitos), para establecer relaciones sistemáticas entre los estímulos-respuestas, y que actúa en paralelo junto al hipocampo y la amígdala (Ambrogio Lorenzini y cols., 1999).

En la Figura 4.4. se resumen los tipos de memoria y las diferentes áreas cerebrales implicadas. De cualquier modo, conseguir localizar el circuito cerebral implicado en cada tipo de memoria no significaría que se pudiera localizar en un área concreta, dada la naturaleza compleja del cerebro de los vertebrados. Además, incluso localizándolas para cada función, podemos encontrar variaciones y así, por ejemplo, algunas investigaciones han mostrado que los cerebros de los ancianos emplean para la misma tarea, áreas diferentes que las empleadas por los jóvenes (Grady, 2000).

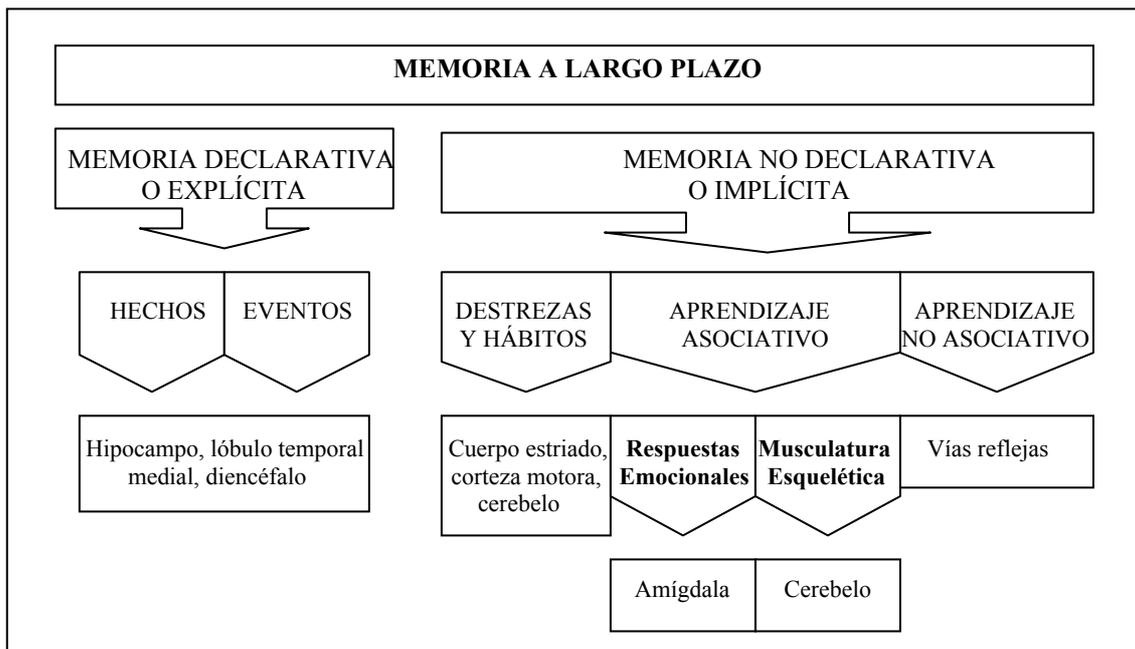


Figura 4.4. Taxonomía de la memoria a largo plazo y las estructuras cerebrales asociadas. Adaptado de Thompson y Kim (1996).

4.3.2. Neuroquímica de la memoria

La farmacología conductual ha ayudado a esclarecer los procesos de memoria y los sistemas implicados en la regulación y consolidación de la misma, lo cual se ha hecho más evidente en estudios, como por ejemplo, las microinfusiones en zonas cerebrales muy específicas (Izquierdo y McGaugh, 2000); es decir, estos estudios, junto con otras investigaciones, han permitido determinar la implicación de los sistemas de neurotransmisión, siendo varios los que son partícipes en los procesos de aprendizaje y memoria (Barros y cols., 2002a; Bonini y cols., 2003; Both y cols., 2005; Egashira y cols., 2003; Ferreira y cols., 2003; Gold, 2003; Lalumiere y cols., 2005; Li y cols., 2001; Metha y cols., 2005; Rossato y cols., 2004; Schneider y cols., 2003; Schroeder y Packard, 2004; Shim y cols., 2003; Tazavara y cols., 2003; Williams y cols., 2004). El sistema colinérgico ha sido el que mayor atención ha despertado en los investigadores. No obstante, en este apartado revisaremos también el papel de los sistemas noradrenérgico, dopaminérgico, serotoninérgico, histaminérgico, GABAérgico y glutamatérgico; así como la implicación que diferentes hormonas tienen sobre procesos cognitivos y los déficits asociados a estos procesos.

4.3.2.1. Sistema colinérgico

Las neuronas colinérgicas están presentes de modo abundante en el sistema nervioso central y a nivel periférico (Hozumi y cols., 2003), la fuente principal de las proyecciones colinérgicas a la corteza cerebral se encuentra en el llamado núcleo basal de Meynert, y también en la banda diagonal de Broca adyacente y el septum, y se proyectan ampliamente en la corteza cerebral y en el hipocampo (Flórez y Pazos, 1997). Los receptores colinérgicos se dividen en dos categorías: nicotínicos y muscarínicos; los nicotínicos son los encargados de medir la rápida transmisión sináptica del sistema

nervioso central y del periférico. Los receptores muscarínicos son los que parecen estar más implicados en los procesos de memoria, ya que estructuras como el hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral están densamente poblados de ellos (Flórez y Pazos, 1997; Power y cols., 2003a).

Antiguas investigaciones, como la de Deutsch (1971), permitieron hipotetizar que la formación de la memoria implicaba un nivel óptimo y dependiente en el tiempo de acetilcolina (ACh) en las sinapsis colinérgicas; y estudios más recientes, como los de Hasselmo (1999), dicen que se sabe que es esencial para las diferentes etapas de la memoria. Además, este sistema de neurotransmisión y concretamente los receptores colinérgicos muscarínicos están implicados en diferentes procesos de memoria (e.g. memoria de adquisición, consolidación y memoria de trabajo), ya que existen trabajos que aplicando tratamientos concretos sobre alguna área cerebral (e.g. la amígdala), han producido cambios en estos receptores cerebrales (Barros y cols., 2002; Power y cols., 2003a; Power y McGaugh, 2002). Por lo que, el sistema colinérgico tiene componentes esenciales del circuito neural del aprendizaje y la memoria (Williams y Messer, 2004). En muchos estudios se ha demostrado que, si este sistema se ve afectado, los procesos de memoria también se ven influidos. Como por ejemplo, si disminuimos la neurotransmisión colinérgica mediante la administración antes del entrenamiento de colina oxidasa, la adquisición de la evitación inhibitoria se deteriora (Ikasahi y cols., 2000).

Las lesiones del núcleo basal magnocelular (NBM) en ratas desencadenan deterioros en la memoria que son contrarrestados con la administración de sustancias que aumentan la actividad colinérgica, como por ejemplo, la fisostigmina (Dekker y cols., 1991). También se ha visto que una menor actividad de la colina acetiltransferasa en la corteza y en el hipocampo son, entre otras, las anormalidades más consistentes y

graves que se encuentran en los enfermos de Alzheimer (Blokland, 1996; Fibiger, 1991; George-Hyslop, 2001), lo que conlleva problemas de aprendizaje y memoria (Everitt y Robbins, 1997; Flórez y Dierssen, 1997). Por lo que, en los procesos cognitivos es crucial el papel de los receptores muscarínicos, como por ejemplo los M_2 y M_4 , en el hipocampo (Tzavara y cols., 2003). Además, hay numerosos estudios en los que se han descrito los efectos facilitadores del aprendizaje de algunos agonistas muscarínicos que incrementan la actividad colinérgica y el efecto inverso de algunos antagonistas colinérgicos en seres humanos (e.g. Dekker y cols., 1991; Fibiger, 1991; Levey, 1996; Riedel y van Praag, 1995) y en animales (e.g. Farr y cols., 2000b; Martos y cols., 1999; McDonald y Overmier, 1998; Sansone y cols., 1993; Schroeder y Packard, 2004; Senda y cols., 1997; Vinader-Caerols y cols., 1996).

A continuación, se expondrán con más detalle, trabajos de investigación realizados con *agonistas colinérgicos*, ya que en la presente tesis doctoral se ha trabajado con tres tipos de fármacos diferentes; siendo dos de ellos agonistas colinérgicos: la “oxotremorina” y la “fisostigmina”.

Existen diversos trabajos que demuestran que la estimulación directa de los receptores colinérgicos, utilizando agonistas muscarínicos, producen una mejora en las tareas de memoria (e.g. Bartus y cols., 1987; Heise, 1997; Hock, 1987; Jenden, 1987; Li y cols., 2001; Ruske y White, 1999). Ruske y White (1999) observaron que la administración durante tres días de un agonista de los receptores M_1 (AF150), antes de la adquisición de una tarea de aprendizaje espacial, produce una mejora en la memoria espacial a corto plazo. Estos autores trabajan con ratas jóvenes y ancianas, y observaron que aunque las dosis estudiadas tienen efecto en ambas, en las ancianas la dosis más efectiva es la mayor. Los autores consideran que esta diferencia se puede deber a la disminución de las funciones colinérgicas que ocurren con el envejecimiento. Li y cols.

(2001), trabajando con ratones en una prueba de aprendizaje espacial, también observaron que la administración de oxotremorina (otro agonista colinérgico muscarínico) durante los cinco días de adquisición de la prueba, mejora la memoria en ratones. Además, al administrar fisostigmina, también agonista colinérgico muscarínico, junto con la realización de tareas de estimulación visual, atención espacial y memoria de trabajo; se ha observado que en algunas áreas cerebrales se produce activación colinérgica (Bentley y cols., 2004).

También la administración de agonistas muscarínicos, inmediatamente después de la adquisición del aprendizaje, produce efectos facilitadores sobre los procesos de memoria. Este efecto podemos observarlo en los estudios de Farr y cols. (2000b) con la arecolina. También la oxotremorina presenta este efecto facilitador sobre la memoria (Baratti y Kopf, 1996; Castellano y cols., 1996; Frick y cols., 1996; Miranda y McGaugh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a; Schroeder y Packard, 2004).

Castellano y cols. (1996) observaron que incluso una dosis de oxotremorina que por sí sola no produce ningún efecto sobre la memoria (0.02 mg/kg) es capaz de eliminar el efecto deteriorante sobre la memoria que produce un antagonista de los receptores NMDA. Estos autores concluyen que existe una relación entre el sistema colinérgico y el glutamatérgico en la modulación de la consolidación de la memoria. Existen otros estudios que también nos indican que la oxotremorina atenúa los efectos deteriorantes de otros fármacos, como es el caso de Li y cols. (2001) que han mostrado que este fármaco revierte el efecto deteriorante que provoca la morfina en una tarea de aprendizaje espacial; y el de Mohamed y cols. (2000), que han encontrado que la oxotremorina atenúa el deterioro producido por la escopolamina en una tarea de aprendizaje de evitación inhibitoria.

También, existe relación entre el sistema colinérgico y el dopaminérgico, ya que la fisostigmina atenúa los efectos deteriorantes de la morfina en ratones sometidos a una tarea de evitación inhibitoria (Zarrindast y cols., 2006); y en aprendizaje espacial dicho fármaco contrarresta el deterioro que ocasiona la MK-801 (Csernansky y cols., 2005).

Además, no podemos olvidar la relación existente entre el sistema colinérgico y el GABAérgico, ya que la administración intracraneal de fisostigmina en el hipocampo y en la corteza entorrinal, por sí sola, no ha causado efecto; sin embargo, atenúa el déficit que produce un agonista GABAérgico (Degroot y Parent, 2001).

Pavone y cols. (1993), señalan también una posible relación entre el sistema colinérgico y el serotoninérgico. Estos autores comprobaron que el efecto facilitador de la oxotremorina es eliminado cuando se administra junto con un agonista de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}. Este efecto también se observa cuando se administra un agonista serotoninérgico preentrenamiento y fisostigmina postentrenamiento, ya que bloquea la mejora inducida por la fisostigmina en ratas en evitación inhibitoria (Santucci y Haroutunian, 2005).

Por último, decir que la administración de agonistas colinérgicos parece ser que influye sobre los procesos de recuperación de la memoria. Barros y cols. (2001) observaron que la administración directa de oxotremorina en diferentes estructuras cerebrales, implicadas en una tarea de evitación inhibitoria, produce una mejora dependiente de dosis en los procesos de recuperación. Además, la inyección intracraneal postentrenamiento de fisostigmina en el hipocampo y en la amígdala, también mejora la retención en evitación inhibitoria (Safari-Sabet, 2006a, 2006b).

4.3.2.2. Sistema dopaminérgico

Según Cami y Farre (2003), la dopamina forma parte de los circuitos neuronales implicados en la adicción de las principales drogas, además del papel que ejerce en los procesos de aprendizaje y memoria. La exposición prolongada a las drogas de abuso produce efectos en los circuitos cognitivos y de recompensa. Lo que tienen en común todas las drogas, es que estimulan la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Le Foll y cols., 2005), que desempeña un papel importante en el refuerzo de la conducta. Las recientes investigaciones, no solo han identificado las áreas cerebrales y los circuitos neuronales implicados en la adicción a las principales drogas, sino que han "reafirmado el liderazgo dopaminérgico" (Cami y Farre, 2003; Homberg y cols., 2002; Le Foll y cols., 2005; Trinh y cols., 2003); como es el caso de estudios realizados con ratas que al autoadministrarse cocaína, provoca efectos reforzantes cuando a los sujetos se les ha inducido estrés, interviniendo el sistema de neurotransmisión dopaminérgico en las estructuras cerebrales como la corteza prefrontal y en la amígdala (Homberg y cols., 2002).

Las neuronas dopaminérgicas se originan principalmente en la sustancia negra y el área tegmental ventral y tienen proyecciones al estriado, el sistema límbico y la corteza cerebral (Flórez y Pazos, 1997). Además, también están implicadas estructuras cerebrales como: el núcleo olfatorio anterior, la corteza frontal de asociación, la corteza orbitofrontal, la corteza singular, el núcleo caudado y putamen, el globo pálido, etc.; siendo el núcleo central la amígdala (Trinh y cols., 2003). Durante la ejecución de algunas pruebas cognitivas se incrementa la liberación de dopamina en la amígdala (Fried y cols., 2001) y algunos experimentos corroboran la interacción entre acetilcolina y dopamina en relación con la memoria (Castellano y cols., 1996). Sin embargo, Lalumiere y cols. (2005) indican que no es crítica la actuación del sistema

dopaminérgico en la amígdala y en el núcleo acumbes en el proceso de la consolidación de la memoria. Aunque, Mehta y cols. (2005) consideran que la dopamina tiene mucha importancia en las tareas de aprendizaje espacial.

4.3.2.3. Sistema noradrenérgico

Las neuronas noradrenérgicas se encuentran principalmente localizadas en las regiones tegmentales de la protuberancia y el bulbo, formando núcleos que se proyectan extensamente a todo el sistema nervioso central, alcanzando desde la corteza cerebral hasta la médula espinal; su densidad máxima se haya en la neocorteza (Flórez y Pazos, 1997). Los tres tipos principales de receptores adrenérgicos son: los α_1 , α_2 y los β -adrenoreceptores, que abundan tanto en el hipocampo como en la amígdala (Meana y García-Sevilla, 1997).

La administración de agonistas noradrenérgicos, como los antidepresivos, incrementa la actividad de este sistema y tiene repercusiones en la memoria (ver punto de Antidepresivos y Amitriptilina de la presente tesis doctoral). Además, la activación dopaminérgica intracerebral realizada en la amígdala, modula la consolidación de la memoria, pero en esta modulación están implicados los receptores D_1 y D_2 que concurren con los β -adrenérgicos y los colinérgicos (Lalumiere y cols., 2004).

4.3.2.4. Sistema serotoninérgico

La mayoría de las neuronas serotoninérgicas tienen sus somas en los núcleos del rafe, pero desde ahí hay proyecciones a la mayoría de las áreas cerebrales implicadas en el aprendizaje y la memoria (Flórez y Pazos, 1997). El sistema serotoninérgico juega un papel muy importante en el aprendizaje y la memoria (Meneses, 1999; Meneses y Hong, 1995). Las vías y los receptores serotoninérgicos se encuentran distribuidos por áreas

cerebrales relevantes para estos procesos (Barnes y Sharp, 1999). De hecho, algunos de los fármacos que bloquean su recaptación y aumentan el nivel de serotonina en la hendidura sináptica (e.g. algunos antidepresivos), mejoran la ejecución de tareas aprendidas tanto en animales (Flood y Cherkin, 1987; Meneses y Hong, 1995) como en humanos (Amado-Boccaro y cols., 1995). Los fármacos antagonistas de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ y los agonistas de 5-HT₄ mejoran el aprendizaje (Barnes y Sharp, 1999; Meneses, 1999). Además, estudios realizados por Schneider y cols. (2003), han mostrado que el sistema serotoninérgico modula la retención de la memoria en evitación inhibitoria al activarse los receptores 5-HT_{1A} en la amígdala. Sin embargo, en ocasiones la literatura muestra resultados contrarios (por ejemplo, con la administración de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina). Su reducción en el hipocampo se ha relacionado con desórdenes cognitivos presentes en trastornos como la depresión y la enfermedad de Alzheimer y, de hecho, algunos autores defienden que los tratamientos con antidepresivos inciden en esta estructura incrementando o disminuyendo la neurotransmisión de serotonina y de noradrenalina (Mongeau y cols., 1997). La influencia serotoninérgica en la neurogénesis de la formación hipocampal es relevante en los procesos de aprendizaje y memoria (Brezun y Daszuta, 1999).

4.3.2.5. Sistema glutamatérgico

La memoria también se relaciona con el sistema glutamatérgico, cuyo neurotransmisor es el glutamato. Además de su participación en la depresión, se ha descubierto que, en las personas con demencia los terminales de las neuronas glutamatérgicas están degenerados, sin que los receptores postsinápticos estén necesariamente mermados (Belsham, 2001). El NMDA, uno de sus receptores, está implicado en la potenciación a largo plazo (Smith y McMahon, 2005; Zhao y cols.,

2005), proceso que inicia la formación de la memoria y que lo necesita en las primeras fases de diversas tareas (Izquierdo y McGaugh, 2000; Izquierdo y cols., 2000c; Schroder y cols., 2000). La potenciación de la actividad de los sistemas colinérgico y glutamatérgico inducida, por ejemplo con estrógenos, corrobora también esta interacción, ya que esta unión mejora los procesos de memoria (Farr y cols., 2000a). Los receptores NMDA son indispensables en la consolidación de la memoria (Rossato y cols., 2004). Además, la participación de estos receptores en el CA1 hipocampal es esencial para la consolidación de la memoria de diversas tareas (test de Morris y de preferencia de lugar), pero no para su recuperación (Shimizu y cols., 2000).

4.3.2.6. Sistema histaminérgico

Los cuerpos celulares de las neuronas histaminérgicas se encuentran en el núcleo tuberomamilar del hipotálamo, cuya inactivación facilita la consolidación de la memoria de evitación inhibitoria (Frisch y cols., 1999). Los receptores histaminérgicos H₁, H₂ y H₃ se encuentran ampliamente distribuidos por todo el cerebro de las ratas de la siguiente forma: (a) la mayor concentración de H₁ se encuentra en: el hipotálamo, el hipocampo, la amígdala y en las capas exteriores de la corteza del núcleo pontino; y, (b) los H₃, están distribuidos en las áreas donde hay inervación histaminérgica (Passani y cols., 2000). Diversos estudios sugieren la idea de que la histamina modula procesos tales como la locomoción, la agresividad o el aprendizaje y la memoria, aunque su contribución necesita ser más investigada (Yanai y cols., 1998). Además, el sistema histaminérgico interactúa con el colinérgico en la retención de la memoria en una tarea de evitación inhibitoria en ratas (Eidi y cols., 2003).

4.3.2.7. Sistema GABAérgico

El GABA, es el neurotransmisor inhibitorio que se ha investigado en modelos de ansiedad, depresión, sedación y memoria (Both y cols., 2005); siendo el más importante del sistema nervioso central, y está presente en muchas de las áreas relevantes para los procesos de memoria. La presencia de neuronas GABAérgicas en la corteza cerebral, la amígdala, el septum, el hipocampo y el núcleo basal magnocelular (Flórez y Pazos, 1997), sugiere su papel modulador en los procesos de consolidación de la memoria (Brioni, 1993). Además, se sabe que este sistema interactúa con el colinérgico (Clements y Bourne, 1996) y así, por ejemplo, en monos, las células colinérgicas del núcleo basal reciben sinapsis de los axones GABAérgicos (Smiley y Mesulam, 1999). La memoria parece ser más susceptible a los cambios en la actividad de este sistema que a los cambios en los sistemas colinérgicos o dopaminérgicos (Rammsayer y cols., 2000).

4.3.2.8. Hormonas

Las hormonas trabajan como neuromoduladores de los procesos de aprendizaje y memoria, y actúan alterando la acción de los neurotransmisores (Alesio-Lautier y cols., 2000).

Son varios los autores que sugieren que los neuropéptidos de origen hipotalámico y pituitario, pueden influir en los procesos de aprendizaje y memoria (e.g. Fehm y cols., 2000; Hock, 1987). Así, los análogos de la corticotropina y la vasopresina han demostrado mejorar el aprendizaje y la memoria. Se ha considerado que los neuropéptidos relacionados con la *corticotropina* afectan a los procesos motivacionales y atencionales, mientras que aquellos relacionados con la *vasopresina* están más implicados en los procesos de memoria (Dawson y cols., 1992; Hock, 1987).

La *oxitocina*, otra hormona hipofisiaria, también produce un efecto sobre los procesos mnésicos. La administración de esta hormona suele tener efectos disruptores sobre la memoria. No obstante, no existen muchos estudios sobre el efecto oxitocina en los procesos cognitivos y no se tiene claro cuales son los mecanismos a través de los cuales ejerce su acción (Coll y Morgado, 1992).

Otro péptido presuntamente implicado en los procesos cognitivos es la *angiotensina*. En un fragmento de esta hormona (la angiotensina ₃₋₇) se ha demostrado que tiene efectos beneficiosos sobre los procesos de aprendizaje y memoria (Braszko y cols., 1991).

Se ha comprobado que los receptores de *insulina* están ampliamente distribuidos en el cerebro, especialmente en el bulbo olfatorio, en el hipocampo y en la neocorteza. También se conoce que la activación de estos receptores puede afectar a las funciones cognitivas (Fehm y cols., 2000).

Aunque es difícil determinar los efectos que tienen los *opiáceos* endógenos sobre el aprendizaje debido a sus efectos sobre otras conductas, las tres familias de péptidos opiáceos (β -endorfinas, encefalinas y dinorfinas) han demostrado estar implicados en la modulación de la memoria (Carlson, 2006; Coll y Morgado, 1992). Los efectos más claros de los opiáceos sobre los procesos mnésicos se han observado sobre el aprendizaje de las conductas motivadas por estímulos aversivos (Carlson, 2006). Así, Li y cols. (2001) observaron que la administración de morfina (agonista opiáceo) en ratones produjo un daño en la memoria espacial, y Kalias y cols. (2001) también comprobaron este efecto deteriorante de los agonistas opioidérgicos sobre la memoria espacial en ratas.

Uno de los sistemas hormonales más estudiado y que parece actuar como un sistema endógeno de modulación de la memoria es el de la *adrenalina* (Costa y cols., 1995; Talley y cols., 2000). Diversos trabajos realizados con animales mostraron que la adquisición en tareas de memoria (evitación inhibitoria) produce una disminución de la concentración de adrenalina en la médula adrenal y un aumento de los niveles plasmáticos de esta hormona. El aumento de liberación de adrenalina puede estar ayudando a la consolidación de la memoria (Coll y Morgado, 1992; Costa y cols., 1995). Además, la administración de adrenalina tanto antes como después de la adquisición de una tarea de aprendizaje, así como antes de la recuperación, puede afectar a la memoria (Coll y Morgado, 1992). No obstante, existen estudios que no mostraron efecto facilitador de la adrenalina a dosis moderadas en ratas y ratones (Lee y cols., 2001).

En este punto se ha analizado como diferentes sistemas de neurotransmisión y hormonas, así como la interacción entre algunos de ellos, pueden estar modulando los procesos de aprendizaje y memoria. Por supuesto existen otras muchas sustancias que pueden afectar a los procesos mnésicos, como por ejemplo, el etanol y la morfina. No obstante, estos efectos parecen estar más relacionados con efectos estimulantes, depresores o reforzantes que con aspectos relacionados específicamente con la memoria (Heise, 1981). En los últimos años el interés sobre el estudio de los procesos de memoria está recayendo en el estudio de los mecanismos moleculares implicados en la memoria produciéndose grandes descubrimientos a nivel intracelular.

5. EVITACIÓN INHIBITORIA

5.1. INTRODUCCIÓN

El condicionamiento de escape-evitación es uno de los paradigmas básicos en el condicionamiento y, en él, la conducta del animal, bien impide (evitación), bien interrumpe (escape) la presentación del estímulo aversivo (estímulo incondicionado, EI). La respuesta de evitación constituye tanto un condicionamiento clásico como instrumental, mientras que la respuesta de escape es solo instrumental. Para que el animal evite es necesario que asocie primero el estímulo condicionado (EC) (e.g. una luz) con el EI (e. g. una descarga eléctrica de determinada intensidad) y luego asocie la respuesta efectiva (cruzar al otro lado) con el refuerzo negativo (cese de la descarga eléctrica). En cambio para que escape, solo necesita asociar la respuesta efectiva con el refuerzo negativo (Klein, 1994). En el caso de la evitación podemos diferenciar entre evitación activa e inhibitoria (también llamada pasiva). La evitación activa supone actuar, es decir, impedir que un suceso se presente mediante una determinada conducta. La evitación inhibitoria, en cambio, supone impedir que un estado aversivo se presente mediante una no-respuesta.

En el apartado que se expondrá a continuación, se describe con más detalle el condicionamiento de evitación inhibitoria, paradigma principal en todos los experimentos que componen la presente tesis doctoral, así como los diferentes tipos de evitación inhibitoria y los principales factores que influyen en los procesos de memoria.

5.2. DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE EVITACIÓN INHIBITORIA

Dentro de la experimentación animal, podemos encontrar una gran variedad de tareas de aprendizaje según el tipo de memoria que se quiera estudiar. Una de las más utilizadas es la tarea de evitación inhibitoria, llamada también evitación pasiva.

El término “evitación inhibitoria” es empleado para describir pruebas en los que el animal aprende a evitar un acontecimiento nocivo suprimiendo una conducta concreta (inhibición de una actividad innata o de un hábito adquirido). En general, y para cualquier tipo de evitación inhibitoria, frente a otros tipos de aprendizaje, este condicionamiento tiene unas peculiaridades que deben ser tomadas en consideración a la hora de planificar y evaluar un experimento (Bures y cols., 1983). A continuación se detallan algunas de las más importantes:

1. La conducta activa e inhibida debe estar bien definida, ser reproducible y de fácil medición.
 2. El estímulo aversivo debe ser claramente asociado con la conducta activa e inhibida.
 3. El hecho de que sea una situación aprendida con una gran carga emocional, como es el miedo y el dolor, y la ausencia de la conducta; hace que el proceso de adquisición de esta conducta sea muy rápido. La mayoría de las tareas de aprendizaje que tienen una única sesión de adquisición son tareas de evitación inhibitoria.
 4. La rapidez en la adquisición facilita establecer el momento exacto en el cual la información entra en el sistema nervioso.
 5. La retención se mide mediante la comparación de la conducta antes y después de haberse producido el aprendizaje, o bien comparando la conducta de animales no entrenados y animales que sí lo han sido.
-

5.3. PROCEDIMIENTOS DE EVITACIÓN INHIBITORIA

Se pueden utilizar diversos tipos de evitación inhibitoria como modelo de aprendizaje. Según Bures y cols. (1983) existen cuatro modelos: “descenso de escalón” (step-down), “test de dos compartimentos” (two-compartment test), “supresión de picoteo” (suppression of pecking) y “cruzar a través de” (step-through). A continuación se exponen dichos modelos con más detalle.

5.3.1. Descenso de escalón

La técnica básica de este procedimiento fue descrita por Jarvik y Essman en 1960 (recogido en Bures y cols., 1983). En dicho procedimiento se usa una caja rectangular en cuyo centro, sobre el suelo electrificado, se sitúa una plataforma de madera elevada. Además, se coloca un cilindro para tapar al animal. Cuando colocamos al roedor en lo alto de la plataforma elevada, su tendencia espontánea es descender al suelo casi inmediatamente para explorar el espacio y aproximarse a las paredes de la caja. El animal al descender al suelo recibe una descarga eléctrica en las patas. La retención se evalúa colocando de nuevo al animal en la plataforma (test) y midiendo el tiempo que tarda en saltar de nuevo al suelo. El cilindro se utiliza para evitar la tendencia innata del animal a escapar de la mano humana al dejarlo encima de la plataforma, colocado directamente con la mano. Este tiende a escapar debido al contacto humano, pudiendo entonces hacer las latencias más cortas; por lo que se le tapa durante 10 segundos con el cilindro, y posteriormente se levanta rápidamente el cilindro y se mide la latencia de bajada.

Este procedimiento de evitación inhibitoria ha sido ampliamente utilizado en la experimentación animal (e. g. Bammer, 1982; Bures y cols., 1983), y sigue usándose en la actualidad (Barros y cols., 2005; Bevilaqua y cols., 2005; Bonini y cols., 2005;

Cammarota y cols., 2004, 2005; Chen, 2005; Kazlauckas y cols., 2005; Walz y cols., 2005). Muchos son los autores que, en la última década, han escogido este modelo experimental para investigar la memoria y los efectos que diversos fármacos tienen sobre ella, tanto en ratones (Hiramatsu y cols., 1994; Sansone y cols., 1993; Senda y cols., 1997; Zarrindast y cols., 1995, 1996;) como en ratas (Barros y cols., 2002; Bernabeu y cols., 1997; Bonini y cols., 2005; Ferreira y cols., 2003; Izquierdo y cols., 1997, 2000a, 2000b; Paratcha y cols., 2000; Quevedo y cols., 1997; Rubin y cols., 2000, 2001; Schröder y cols., 2000; Vianna y cols., 2001; Zanatta y cols., 1996). No obstante, hay que señalar que entre ellos pueden existir ligeras diferencias en los parámetros empleados como pueden ser: tamaño de la plataforma, tamaño del compartimento, intensidad y duración de la descarga eléctrica, intervalos entre sesiones y tiempo que se le da al animal para que lleve a cabo la conducta. En muchas ocasiones estas diferencias vendrán marcadas por la especie animal empleada (e.g. varia el tamaño de la plataforma y del compartimento), la cepa de animales empleada (varia la intensidad y la duración de la descarga eléctrica, ya que existen diferencias entre cepas en la resistencia a los estímulos aversivos) o el tipo de fármaco estudiado (varia el intervalo de tiempo entre las sesiones, en muchas ocasiones se deja transcurrir más de veinticuatro horas con el fin de que el animal metabolice todo el fármaco antes de pasar por la sesión de recuperación).

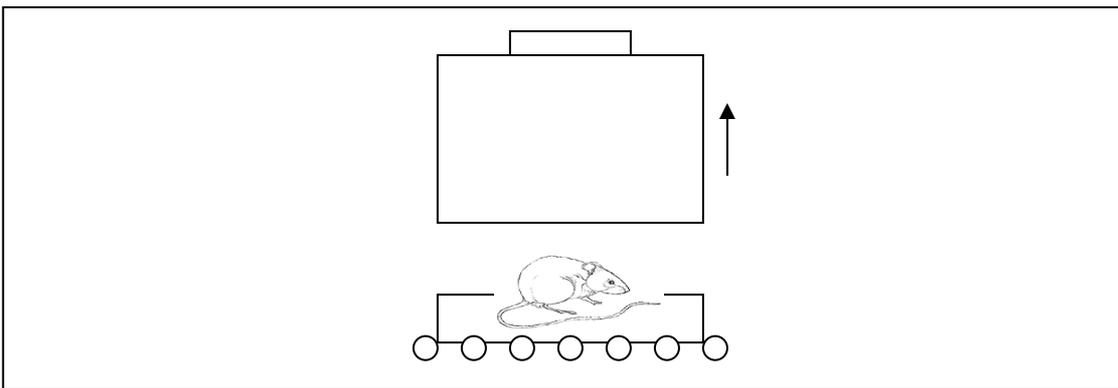


Figura 5.1. Representación esquemática del procedimiento de evitación inhibitoria “descenso del escalón”. Adaptado de Bures y cols. (1983).

5.3.2. Test de dos compartimentos

Esta técnica fue desarrollada por Kurt y Peral en 1960 (recogido en Bures y cols., 1983). En general los roedores cuando están en un campo abierto tienden a entrar en cualquier hueco del muro y a permanecer allí (Bures y cols., 1983), prefiriendo los sitios pequeños y oscuros a los grandes y con luz; por lo tanto cuando son colocados en un compartimento grande conectado con un pequeño compartimento oscuro a través de estrecha apertura, las ratas rápidamente encuentran la entrada, entran en el recinto oscuro y permanecen en él la mayoría del tiempo. El aparato utilizado en este paradigma, consta de una caja con dos compartimentos de distintas dimensiones y con diferente luminosidad. Cuando colocamos al animal en el compartimento grande e iluminado, conectado a otro pequeño y oscuro, el roedor encuentra y cruza rápidamente la entrada del oscuro y, permanece y explora en él la mayor parte del tiempo que está en el aparato. El procedimiento consiste en castigar con una descarga eléctrica esta tendencia innata. Una vez transcurrido el tiempo de exploración, se encierra al roedor en el compartimento oscuro y se le administra una descarga eléctrica intermitente durante un tiempo determinado. La retención se evalúa repitiendo la exploración libre del

aparato a las 24 horas de haber administrado la descarga eléctrica. Como medidas se toman los registros del tiempo total gastado, en uno y otro compartimento, en ambas ocasiones. Además, pueden tomarse como medidas adicionales, la latencia de la primera entrada y el número de cruces.

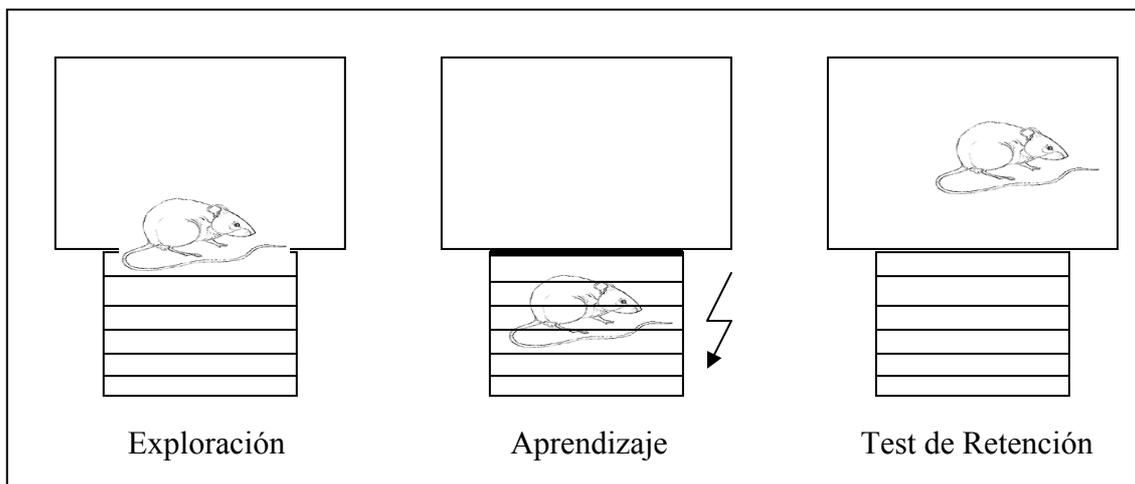


Figura 5.2. Representación esquemática del procedimiento de evitación inhibitoria “test de dos compartimentos”. Adaptado de Bures y cols. (1983).

5.3.3. Supresión de picoteo

Sabemos que los animales hambrientos poseen una tendencia innata a conseguir comida para alimentarse, por lo que se aprovecha ese momento concreto, para provocar una reacción de evitación inhibitoria. Este procedimiento fue utilizado en primer lugar en 1961 con gatos por McCleary, siendo el estímulo aversivo una descarga eléctrica. El resultado no tiene que ser una evitación completa, más bien una evaluación cautelosa de la comida por la presencia de un estímulo aversivo, siendo éste el objetivo de este procedimiento en el que se suelen utilizar polluelos recién nacidos. Esta técnica fue desarrollada por Cherkin y Lee-Teng en 1965 (recogido en Bures y cols., 1983),

caracterizada por su simplicidad y bajo coste. A pesar de su bajo coste, esta técnica no es muy empleada para el estudio de la memoria, y cuando se lleva a cabo los animales experimentales suelen ser aves. No obstante, en la última década podemos encontrar trabajos con este procedimiento, aunque con ligeras modificaciones en los parámetros empleados (Clements y Bourn, 1996; Farkas y Crowe, 2000).

En este procedimiento, a los polluelos se les presenta un cebo adulterado, recubierto de metilantranilato, que es una sustancia incolora muy inapetente para su especie. Como medidas se registra la latencia de respuesta (el tiempo que tardan los polluelos en dar el primer picotazo) y el número de respuestas dadas (picotazos). El test de retención se realiza transcurridas veinticuatro horas desde que el animal recibe el estímulo aversivo.

5.3.4. Cruzar a través de

La técnica estándar para condicionar la evitación inhibitoria en ratones fue desarrollada por Jarvick y Kopp en 1967 y posteriormente modificada por King y Glasser en 1970 (recogido en Bures y cols., 1983). Es algo innato que los roedores evitan la luz intensa y prefieren la tenue, por eso, cuando se les pone en un espacio iluminado conectado con uno oscuro, prefieren permanecer en el oscuro. En este procedimiento se utilizan dos compartimentos de las mismas dimensiones comunicados, uno de ellos está iluminado con una bombilla y el otro no. Se coloca al roedor en el compartimento iluminado o de salida y, tras unos segundos de adaptación al aparato, se abre la puerta que comunica los dos espacios. Los animales, por la tendencia natural mencionada anteriormente, cruzan rápidamente al compartimento oscuro. En cuanto el animal ha introducido sus patas en la zona oscura recibe una descarga eléctrica a la vez que se cierra la puerta que separa ambos compartimentos, quedándose incomunicado en

esa parte, posteriormente es retirado y devuelto a su jaula. Generalmente 24 horas después se les introdujo de nuevo en el aparato, empleándose como índice de retención del aprendizaje, el tiempo que tardan en cruzar (latencia de respuesta).

Este es el procedimiento que se ha elegido para realizar los experimentos de esta tesis doctoral, por ello se va a describir con más detalle a continuación. En general, este paradigma experimental consta de dos fases bien diferenciadas:

1. *Familiarización o exploración.* Se coloca al animal en el compartimento iluminado con la puerta entre compartimentos cerrada, el animal permanece durante un tiempo, permitiéndole adaptarse al aparato. Cuando finaliza este tiempo se abre la puerta y el animal con rapidez accede al compartimento oscuro, generalmente. La latencia de paso se mide con un contador o cronómetro. Tras unos segundos, el ratón es devuelto a su jaula. El procedimiento se repite tres veces en intervalos de 30 minutos. En nuestro caso, como se verá más adelante, esta fase se redujo a un único periodo de adaptación de 90 segundos, inmediatamente anterior a la fase siguiente. A continuación de la exploración, se produce el *aprendizaje*. Inmediatamente después de cruzar al compartimento oscuro, el ratón recibe una descarga eléctrica en las cuatro patas, registrándose la latencia de respuesta; posteriormente es devuelto a su jaula.
 2. *Retención.* Tras 24 horas, el animal es colocado de nuevo en el compartimento de salida, registrándose así su latencia de cruce. El test termina cuando el ratón cruza al compartimento oscuro o cuando transcurre el tiempo máximo del ensayo que ha establecido el experimentador (evitación), sin que el animal cruce.
-

El aparato que se utiliza consta de una caja alargada de plástico que contiene un suelo de rejilla electrificado. La mitad del aparato (con sus paredes y techo) es negro y la otra mitad es transparente. El techo está formado por una tapa con dos bisagras colocadas en la mitad de la caja. El compartimento transparente está iluminado con una luz intensa de una bombilla. Su diseño permite fijar la intensidad y la duración de la descarga eléctrica. Tras la fase de aprendizaje, la mayoría de los animales cumplen el tiempo máximo del ensayo.

Este procedimiento de evitación inhibitoria, junto con el procedimiento de descenso del escalón, es el más utilizado en los últimos años tanto con ratones (Assi, 2001; Boccia y cols., 2004, 2005; Cabib y Castellano, 1997; Castellano y cols., 1996; Fagioli y cols., 1992; Hozumi y cols., 2003; Pavone y cols., 1993; Puglisi-Allegra y cols., 1994a, 1994b; Quartermain y cols., 1991; Rush y Streit, 1992; Sansone y cols., 1991; Tanabe y cols., 1997), como con ratas (Borowicz y cols., 2001; D'Agata y Cavallaro, 2003; Kuziemka-Leska y cols., 1999; Lalumiere y cols., 2004, 2005; Mathis y cols., 1994; Ogasawara y cols., 1999; Power y cols., 2003; Roldan y cols., 2001; Souza y cols., 2004; Tanabe y cols., 1999; Wilensky y cols., 2000; Zarrindast y cols., 2001). Como en los casos anteriores también podemos señalar diferencias entre unas investigaciones y otras en los parámetros empleados (tamaño de los compartimentos, intensidad y duración de la descarga eléctrica, intervalo entre sesiones y tiempo que se le da al animal para que cruce).

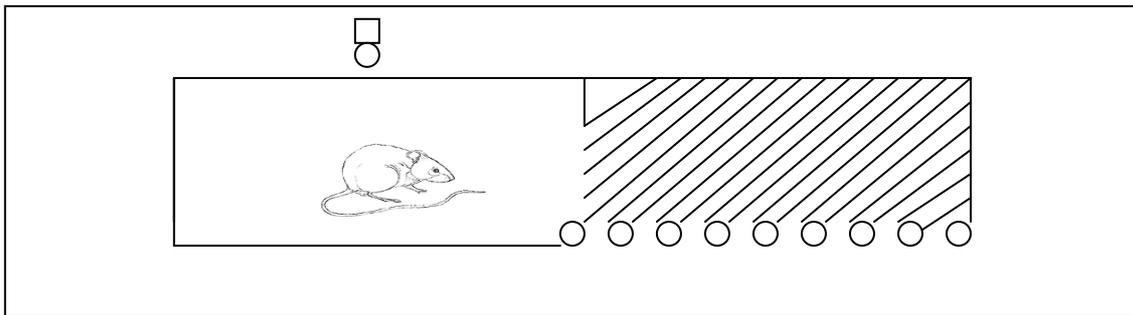


Figura 5.3. Representación esquemática del procedimiento de evitación inhibitoria “cruzar a través de”. Adaptado de Bures y cols. (1983).

5.4. EVITACIÓN INHIBITORIA Y PROCESOS DE MEMORIA

5.4.1. Introducción

Cualquier tipo de aprendizaje, incluido el de evitación inhibitoria, constituye un proceso por el cual cambia la conducta de un sujeto, pero no todo cambio es resultado del aprendizaje, por lo que es preciso distinguir entre los cambios que son consecuencia del aprendizaje y aquellos que no guardan relación con el mismo, por ejemplo, la fatiga (puede alterar la conducta, pero los cambios resultantes no se deben al aprendizaje), cambios de estímulos (apetitivos, aversivos...), etc. Estos cambios que no guardan relación con el aprendizaje pueden participar junto con determinadas sustancias administradas en el aprendizaje, de una tarea concreta, afectando a su ejecución; además, hay que tener presente estos cambios y comprobar que los efectos obtenidos de un fármaco sobre la tarea sean exclusivos del fármaco.

La administración de un fármaco se puede dar en distintos momentos, según sea el interés del investigador; por lo que en todo aprendizaje de una tarea se distinguen tres

procesos que varían dependiendo de la previa o posterior administración de un fármaco (Matthies, 1980; Heise, 1981; Alpern y Jackson, 1982; Bammer, 1982):

1. *Aprendizaje o adquisición*: el fármaco afectará a la adquisición (adquisición no transitoria de una nueva tarea o de una conducta diferente) si se administra antes de que éste ocurra.
2. *Retención o consolidación*: Si es administrado tras el aprendizaje de la tarea, afectará a la retención o consolidación.
3. *Recuperación o recuerdo*: Si es administrado antes de la recuperación, influirá en el recuerdo.

Las pruebas de evitación inhibitoria se han utilizado en muchas ocasiones para estudiar el efecto que diferentes tipos de fármacos tienen sobre la memoria y sobre los diversos componentes del cerebro implicados (Barros y cols., 2005; Bonini, 2005; Everss y cols., 2005; Farkas y Crowe, 2000; Ferreira y cols., 2003; Hozumi y cols., 2003; Lalumiere y cols., 2004; Shim y cols., 2003; Souza y cols., 2004); y existen numerosos estudios que indican que dependiendo de la forma de administración del fármaco, dicha sustancia actúa de diferente manera en el cerebro, interviniendo en mayor o menor medida en las estructuras cerebrales (e. g. Izquierdo y cols., 1998; Izquierdo y McGaugh, 2000), como por ejemplo, aquellas encargadas de aspectos cognitivos y de componentes emocionales. A continuación se expondrá con detalle las estructuras cerebrales, conexiones entre dichas estructuras, sistemas de neurotransmisión y farmacología implicada en la evitación inhibitoria.

5.4.2. Neuroanatomía de la memoria en evitación inhibitoria

5.4.2.1. Bases anatómicas de la memoria en evitación inhibitoria

Cada vez se están perfilando más las áreas cerebrales donde se localizan los procesos de aprendizaje y memoria. La evitación inhibitoria permite una buena medida indirecta de los mecanismos moleculares de la memoria (Izquierdo y McGaugh, 2000) y la diferenciación entre memoria a corto plazo y largo plazo (Barros y cols., 2005; Cammarota y cols., 2005; Izquierdo y cols., 1998, 2000a; Medina y cols., 1999; Souza y cols., 2002; Vianna y cols., 2000; Walz y cols., 2005).

Las regiones cerebrales como el hipocampo, amígdala, corteza entorrinal y parietal están implicadas en los procesos de memoria. Estas estructuras, que anatómicamente están relacionadas entre sí, intervienen en un orden secuencial (Bonini y cols., 2003, 2005; Izquierdo y cols., 1997, 2000a, 2000b; Izquierdo y Medina, 1997b; McGaugh, 2000; McGaugh y cols., 1996; Rossato y cols., 2004; Rubin y cols., 2001; Vianna y cols., 2000, 2001; Wilensky cols., 2000; Zanatta y cols., 1996). El hipocampo y la amígdala actuarían nada más acabar el entrenamiento, durante menos de 30 minutos y de forma simultánea, con un claro reparto de tareas: el hipocampo se encargaría de los aspectos cognitivos, y la amígdala de los componentes emocionales presentes en la respuesta condicionada de evitación inhibitoria. Aproximadamente, 30 minutos después del entrenamiento entraría en acción la corteza entorrinal y, a los 60 minutos más o menos, actuaría la parietal (con una duración superior a 180 o 200 minutos, respectivamente). En cualquier caso, estos procesos dependerían de los receptores NMDA de glutamato. El mecanismo de esta secuencia se desconoce, pero parece lógico por la naturaleza de sus conexiones. Podría ser que la potenciación a largo plazo generada en el hipocampo y en la amígdala, al mantenerse durante varios minutos,

ayudara a acrecentar la actividad en la corteza entorrinal; el proceso se repetiría entre ambas cortezas y en otras posibles conexiones. Todas estas estructuras estarían también implicadas en los procesos de recuperación de la información y actuarían de forma integrada. Su duración sería también secuencial: durante menos de un mes sería necesaria la intervención de las cuatro (hipocampo, amígdala, corteza entorrinal y parietal), hasta el primer mes se requeriría de la actuación de las dos cortezas, y solo la parietal se necesitaría para el segundo mes. Para que tenga lugar este acontecimiento, los receptores de glutamato deben estar intactos (Izquierdo y cols, 1997; Izquierdo y Medina, 1997b; Zanatta y cols., 1996).

Parece que la amígdala no está directamente implicada en el aprendizaje y en la memoria aversiva que se adquiere en la evitación inhibitoria, sin embargo, esta estructura modula la consolidación de la memoria que ocurre en otras estructuras extraamigdalares (McGaugh, 2000; McGaugh y cols, 1996), como por ejemplo, la corteza parietal (Bonini y cols., 2005). Aunque otros autores nos dicen que el glutamato juega un papel esencial, no solo en la consolidación, sino también en la adquisición y la recuperación; todo ello modulado por la amígdala (Barros y cols., 2003, 2005; Bianchin y cols., 1999; Bonini y cols., 2003).

Hay autores que consideran que en la prueba de evitación inhibitoria se mide solamente memoria a largo plazo (Borowicz y cols, 2001). Sin embargo, otros autores consideran que con esta prueba se mide tanto memoria a corto plazo (si la sesión de recuperación se realiza una hora y media después de la adquisición o antes) como memoria a largo plazo (si la sesión de recuperación se realiza veinticuatro horas después de la adquisición o más) (Vianna y cols, 2000). Según McGaugh (2000), la consolidación de la evitación inhibitoria comienza inmediatamente después de la adquisición. Esta consolidación puede llevar varias horas (Bernabeu y cols., 1997;

Izquierdo y Medina, 1997b; McGaugh, 2000). Una vez almacenada en la memoria a largo plazo, el recuerdo de la conducta adquirida en la evitación inhibitoria persiste un largo periodo. Además, aunque se lleve a cabo una extinción de la conducta se ha comprobado que puede haber recuerdo (Roldan y cols., 2001) o no (Boccia y cols., 2005) bajo determinadas circunstancias.

Otros autores señalan que aunque en la evitación inhibitoria la memoria a largo plazo coexiste con la memoria a corto plazo, la primera no parece depender de la segunda (Izquierdo y cols., 1999; Vianna y cols., 1999; Walz y cols., 1999). Izquierdo y cols. (2000a) sugieren que existe una diferenciación entre los procesos que subyacen a la memoria a corto plazo y a la memoria a largo plazo en una prueba de evitación inhibitoria. Estos autores señalan que esta diferenciación podría ocurrir en un mismo grupo de células a nivel postsináptico. Los datos obtenidos en su estudio sugieren diferencias entre las cascadas intracelulares producidas en estos dos tipos de memoria.

Según la revisión realizada por Vianna y cols. (2000), parece ser que los receptores AMPA, NMDA y metabotrópicos están implicados tanto en la memoria a corto plazo como en la memoria a largo plazo. También están implicados los receptores GABAérgicos y los receptores colinérgicos muscarínicos (Barros y cols., 2005). Esto sugiere que hay una cierta unión entre la cascada intracelular producida por la memoria a corto plazo y la producida por la memoria a largo plazo. Pero también es verdad que existen sustancias que, aunque estén afectando tanto a la memoria a corto plazo como a largo plazo, lo hacen en diferentes momentos. Este es el caso de la protein-kinasa dependiente del AMP cíclico y de la protein-kinasa dependiente del calcio. Además, existen receptores que solamente están implicados en la memoria a corto plazo (e. g. los receptores dopaminérgicos D₁ y los receptores serotoninérgicos 5-HT₁), mientras que otros receptores solamente están implicados en la memoria a largo plazo de la

evitación inhibitoria (e. g. los noradrenérgicos). Sin embargo, hay estudios como el de Lalumiere y cols. (2004) que reflejan que en la consolidación de la memoria está modulada por los receptores dopaminérgicos D₁ y D₂ que activan los receptores β-adrenérgicos y colinérgicos de la amígdala.

Se ha observado una gran similitud entre los procesos intracelulares que subyacen a la memoria a corto plazo y aquellos que se conocen con el nombre de potenciación a corto plazo, también se observan similitudes entre los procesos bioquímicos que subyacen a la memoria a largo plazo y los que se conocen como la potenciación a largo plazo (posible mecanismo subyacente a la consolidación de la memoria). Estos hallazgos llevaron a que varios autores hipotetizaran que la consolidación, en el aprendizaje de la evitación inhibitoria, se podría estar produciendo por una potenciación a largo plazo en las diferentes estructuras antes mencionadas (Bernabeu y cols., 1997; Bevilaqua y cols., 2005; Izquierdo y cols., 2000a; Quevedo y cols., 1997; Zanatta y cols., 1996). Además, no se sabe con certeza si dichas estructuras (e. g. el hipocampo) están implicadas en la potenciación a largo plazo (Rosatto y cols., 2004).

La mayoría de los autores consideran que el hipocampo, la amígdala, el septum medial, la corteza entorrinal, la corteza parietal, la corteza singular y otros sistemas son estructuras que, en mayor o menor medida, están implicadas en la consolidación de la memoria adquirida en una prueba de evitación inhibitoria (Izquierdo y cols., 1997, 2000a, 2000b; Izquierdo y Medina, 1997b; Lalumiere y cols., 2004; McGaugh, 2000; McGaugh y cols., 1996; Rubin y cols., 2001; Vianna y cols., 2000, 2001; Wilensky y cols., 2000; Zanatta y cols., 1996). Sin embargo, Barros y cols. (2001) observaron que todas ellas estaban también implicadas en la recuperación de la conducta adquirida. Izquierdo y cols. (1997) señalaron que estas estructuras también están implicadas de

manera secuencial en el proceso de recuperación. En esta ocasión parece que se requiere que sea el sistema glutamatérgico AMPA el que esté intacto. La implicación del hipocampo y de la amígdala en la recuperación de la conducta de evitación inhibitoria es de menos de un mes, la corteza entorrinal está implicada al menos un mes, mientras que la implicación de la corteza parietal perdura al menos dos meses (Izquierdo y cols., 1997).

Existe cierta discrepancia sobre el tipo de memoria que se mide en la prueba de evitación inhibitoria, aunque la mayoría de los autores consideran que se trata de una memoria explícita, que es un tipo de memoria a largo plazo (Izquierdo y cols., 1997, 2000a, 2000b; Vianna y cols., 2000). Además, el grupo dirigido por Izquierdo defienden la idea de que la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo se rigen por mecanismos diferentes; dicha idea se apoya en experimentación psicofarmacológica y también conductual (Barros y cols., 2005; Cammarota y cols., 2005; Walz y cols., 2005). Sin embargo, otros autores consideran dicha tarea de evitación, un aprendizaje instrumental en el cual la aplicación de la descarga eléctrica (o cualquier otro tipo de estímulo aversivo) es contingente o eventual a la respuesta del animal (Wilensky y cols., 2000).

La gran mayoría de estudios realizados sobre la consolidación de la memoria, han investigado exclusivamente momentos parciales de los procesos de memoria. Además, la evolución temporal de estos procesos todavía es ampliamente desconocida. Los procesos moleculares y neuronales que tienen lugar en las primeras fases de la consolidación de la memoria persisten en el tiempo en diferentes áreas cerebrales, siendo desconocida la influencia de estos procesos en las estructuras cerebrales (Alberini, 2005; McGaugh, 1966; Milekic y Alberini, 2002).

5.4.2.2. Sistemas de neurotransmisión de la memoria en evitación inhibitoria

Las pruebas de evitación inhibitoria se han utilizado en muchas ocasiones para estudiar el efecto que diferentes tipos de fármacos tienen sobre la memoria (Boccia y cols., 2005; Bonini y cols., 2005; Both y cols., 2005; Cammarota y cols., 2004; Eidi y cols., 2003; Everss y cols., 2005; Ferreira y cols., 2003; Hozumi y cols., 2003; Lalumiere y cols., 2004; Shim y cols., 2003; Souza y cols., 2004; Walz y cols., 2005). Los trabajos realizados con pruebas de evitación inhibitoria han puesto de manifiesto que el sistema colinérgico está implicado en este tipo de tarea (e. g. Eidi y cols., 2003; Ferreira y cols., 2003; Hozumi y cols., 2003). Los estudios que han utilizado fármacos antagonistas colinérgicos han mostrado que éstos parecen tener un efecto deteriorante sobre los procesos cognitivos implicados en la evitación inhibitoria (Ambrogi-Lorenzini y cols., 1992; Barros y cols., 2001; Castellano y cols., 1996; Cole y Jones, 1995; Eidi y cols., 2003; Ferreira y cols., 2003; Hiramatsu y cols., 1994; Hozumi y cols., 2003; Ikarashi y cols., 2000; Kopf y cols., 2001; Malmberg-Aiello y cols., 2000; Molinengo y cols., 1999; Roldan y cols., 2001; Rush y Streit, 1992; Senda y cols., 1997; Tanabe y cols., 1999). Los agonistas colinérgicos, por su parte, han mostrado una mejora en la conducta de evitación inhibitoria (Barros y cols., 2001; Ciamei y cols., 2001; Eidi y cols., 2003; Hozumi y cols., 2003; Kopf y cols., 2001; Miranda y McGaugh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003; Rush y Streit, 1992; Sansone y cols., 1993; Senda y cols., 1997; Zarrindast y cols., 1996).

También las catecolaminas influyen en el aprendizaje de evitación inhibitoria, aunque de una manera menos clara que otros sistemas de neurotransmisores. El sistema noradrenérgico ha demostrado estar implicado en este tipo de memoria, especialmente el sistema β -adrenérgico (Lalumiere y cols., 2005), ya que los inhibidores de este sistema neurotransmisor, al ser administrados antes de la adquisición (de forma crónica)

o antes de la recuperación de la tarea de evitación inhibitoria, producen un deterioro de la conducta de evitación (Barros y cols., 2001; Nelson y cols., 1999). Con el sistema α -adrenérgico se han obtenido resultados contradictorios y poco claros. No obstante, se ha observado que la administración de agonistas adrenérgicos α después de la adquisición de una tarea de evitación inhibitoria o antes de la sesión de recuperación, producen una mejora en la conducta de evitación (Barros y cols., 2001; Zarrindast y cols., 2001). También se ha observado que si se administran antagonistas adrenérgicos α después de la sesión de adquisición se produce un daño en la conducta de evitación inhibitoria (Zarrindast y cols., 2001).

Los trabajos realizados con el sistema dopaminérgico resultan contradictorios dependiendo, entre otras cosas, del momento de la aplicación (antes o después de la adquisición) y del tiempo que se deja transcurrir entre la adquisición y el momento de la administración del fármaco (inmediatamente después o dejando un intervalo), así como de la vía de administración que se utiliza (Barros y cols., 2001; Bernabeu y cols., 1997; Cabib y Castellano, 1997; Sansone y cols., 2000; Umegaki y cols., 2001; Vianna y cols., 2001; Zarrindast y cols., 1995, 1996). Generalizando, podemos decir que los agonistas dopaminérgicos parecen producir una mejora en la evitación inhibitoria (Barros y cols., 2001; Bernabeu y cols., 1997; Sansone y cols., 2000), mientras que los antagonistas empeoran la ejecución (Barros y cols., 2001; Lalumiere y cols., 2004; Umegaki y cols., 2001; Vianna y cols., 2001).

Los fármacos que actúan sobre el sistema serotoninérgico afectan a la conducta de evitación inhibitoria (Both y cols., 2005; Schneider y cols., 2003). Estas sustancias pueden afectar de manera diferente según su administración (antes de la adquisición o después de esta). La administración, posterior a la adquisición, de agonistas serotoninérgicos producen deterioro de la conducta inhibitoria (Pavone y cols., 1993),

mientras que la administración de antagonistas la mejoran (Altman y Normilla, 1987). Sin embargo, cuando la administración de antagonistas serotoninérgicos se lleva a cabo antes de la adquisición de una conducta de evitación inhibitoria, se observa un deterioro de la misma (Altman y normilla, 1987). Por su parte, Barros y cols. (2001) observaron que la administración de agonistas serotoninérgicos antes de la recuperación de la conducta de evitación producía un deterioro, mientras que si se administraban antagonistas se observaba una mejora. Este efecto de los agentes serotoninérgicos sobre la recuperación se asemeja al que producen sobre la adquisición de la conducta. Posiblemente este efecto se deba a que la recuperación de la conducta de evitación implica una readquisición.

También se ha comprobado que la facilitación de la transmisión histaminérgica mejora la conducta de evitación inhibitoria (Eidi y cols., 2003), ya sea activando los receptores histaminérgicos postsinápticos (Malmberg-Aiello y cols., 2000) o bloqueando la recaptación de histamina (Meguro y cols., 1995).

Los fármacos que actúan potenciando el sistema GABAérgico (ya sea a través de los receptores GABA_A, GABA_B o benzodiazepínicos), producen un deterioro en la tarea de evitación inhibitoria (Assi, 2001; Both y cols., 2005; Cole y Jones, 1995; Farkas y Crowe, 2000; Izquierdo y cols., 1997; Ogasawara y cols., 1999; Zarrindast y cols., 2001); mientras que los que inhiben la transmisión de este sistema mejoran la conducta de evitación (Farkas y Crowe, 2000).

El sistema glutamatérgico, actuando a través de los receptores NMDA, también modula los procesos mnésicos implicados en las tareas de evitación inhibitoria (e. g. Barros y cols., 2005; Cammarota y cols., 2005). Se ha comprobado que la potenciación de estos receptores produce una mejora en la conducta inhibitoria (Rubin y cols., 2000,

2001); mientras que los antagonistas glutamatérgicos provocan un daño conductual (Borowicz y cols., 2001; Castellano y cols., 1996; Ciamei y cols., 2001; Izquierdo y cols., 1997; Mathis y cols., 1994; Quevedo y cols., 1997; Rubin y cols., 2000, 2001; Vianna y cols., 2001; Zanatta y cols., 1996). Izquierdo y cols. (2000b) comprobaron que los receptores glutamatérgicos AMPA y los metabotrópicos también estaban implicados en los procesos de recuperación de la conducta de evitación. La administración de antagonistas de estos receptores en la amígdala, antes de la sesión de recuperación de la tarea de evitación inhibitoria, produjo un daño en el recuerdo.

No obstante, no todos los trabajos realizados con fármacos que actúan sobre un mismo neurotransmisor apuntan en la misma dirección. Estas diferencias, en muchas ocasiones se deben a: la cepa de animales empleada, el momento de administración del fármaco (antes de la adquisición, después de esta o antes de la recuperación), la vía de administración de los fármacos, el tiempo transcurrido entre la administración y la prueba, o los parámetros elegidos para el procedimiento (e.g. la intensidad de descarga eléctrica). Como hemos podido observar los sistemas de neurotransmisión implicados en los procesos mnésicos afectan, en mayor o menor medida, al tipo de memoria estudiado en las tareas de evitación inhibitoria. Por este motivo, además de su simplicidad y fácil aplicación, esta prueba se ha convertido en una de las más usadas por los investigadores en el estudio de la memoria y ello conlleva su utilización en la actualidad (Barros y cols., 2005; Bevilaqua y cols., 2005; Boccia y cols., 2005; Bonini y cols., 2005; Cammarota y cols., 2004, 2005; Chen, 2005; Kazlauckas y cols., 2005; Lalumiere y cols., 2005; Walz y cols., 2005) y probablemente en el futuro.

6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El objetivo fundamental de esta tesis doctoral ha sido investigar la intervención del sistema colinérgico en el efecto producido por la administración aguda de amitriptilina, sobre el aprendizaje de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

Está ampliamente constatado que la administración de amitriptilina provoca déficit de memoria (e.g. Everss y cols., 1999, 2005; Kumar y Kulkarni, 1996; Parra y cols., 2002, 2006, Shimizu-Sasamata y cols., 1993; Takahashi y cols., 1995). Además, es un fármaco con una potente acción anticolinérgica (e.g. Knegeting y cols., 1994; Sein-Anand y cols., 2005) y existe una gran cantidad de trabajos que señalan la necesidad de que los mecanismos colinérgicos se conserven intactos para un buen funcionamiento de la memoria (e.g. Bartus y cols., 1987; Drachman, 1982; Everitt y Robbins, 1997; Hock, 1987; Karczman, 1990; 1993a, 1993b, 1995; Snyder, 1992). Por ese motivo, se podría esperar que el deterioro de memoria producido sea debido a su acción anticolinérgica.

Partiendo de estos datos, la hipótesis general de la presente tesis doctoral es que la administración de amitriptilina daña la memoria implicada en una tarea de evitación inhibitoria en ratones de ambos sexos, y que ese deterioro está mediado, al menos en parte, a su acción sobre el sistema colinérgico. Para contrastar esta hipótesis se han llevado a cabo los siguientes experimentos:

Experimento 1

En el primer experimento se ha explorado el efecto agudo de amitriptilina (30 mg/kg) postentrenamiento en evitación inhibitoria con dos intensidades de descarga eléctrica (0.3 mA y 0.5 mA) en ratones machos y hembras. Como hemos dicho, la administración del fármaco se realizó después del entrenamiento, con el fin de estudiar si la amitriptilina afectaba a los procesos de memoria.

En este experimento, así como en la mayor parte de los experimentos realizados en la presente tesis doctoral, se utilizaron tanto ratones machos como hembras, con el fin de estudiar posibles diferencias de sexo. Existen trabajos realizados en animales que han demostrado diferencias de sexo en el efecto de diferentes fármacos sobre los procesos de aprendizaje y memoria (e.g. Monleón y Parra, 1997; Monleón y cols., 1998, 2002; Parra y cols., 1999a). Se sabe también que determinados antidepresivos presentan una eficacia mayor, a la hora de reducir los síntomas depresivos, en función del género de los pacientes (Kronstein y cols., 2000; Martényi y cols., 2001). Por este motivo, también cabe la posibilidad de que un antidepresivo tenga diferente efecto sobre la memoria en función del género del individuo.

Debido a que no se observaron daños cuando se administró la amitriptilina postentrenamiento, en el resto de experimentos también se estudió el efecto de dicho fármaco preentrenamiento.

Experimento 2

En el segundo experimento se ha pretendido observar el efecto agudo de amitriptilina (30 mg/kg) pre y postentrenamiento sobre evitación inhibitoria en ratones machos. De esta manera comprobamos si la administración de amitriptilina 30 minutos antes del entrenamiento daña la memoria y corroboramos la ausencia de efecto después del entrenamiento. Es decir, la administración de amitriptilina antes de entrenamiento provoca déficit en la adquisición, siendo este efecto observado anteriormente en otros estudios experimentales (e.g. Shimizu-Sasamata y cols., 1993; Takahashi y cols., 1995). Estos resultados se pueden ratificar si administramos, de la misma manera, dicho fármaco y utilizamos otras dosis diferentes a la usada hasta ahora (30 mg/kg).

Experimento 3

En el tercer experimento se ha pretendido ver cuál es el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 10 y 20 mg/kg) preentrenamiento sobre evitación inhibitoria en ratones machos y hembras. El objetivo fue comprobar si las dosis elegidas de amitriptilina dañaban la adquisición. En este caso también se usaron ratones de ambos sexos para estudiar la posible existencia de diferencias de género en el efecto de la amitriptilina sobre la memoria.

En este experimento, se han confirmado los resultados obtenidos en el experimento anterior, donde se ha observado que la administración de diversas dosis de amitriptilina deterioran la memoria al realizar dicha tarea.

Experimento 4

Los resultados obtenidos en el experimento anterior, nos dan pie a la utilización de otro fármaco favorecedor de la memoria y que afecte al sistema colinérgico, administrándolo después del entrenamiento, para observar así cual es su efecto sobre la memoria. En el cuarto experimento hemos investigado el efecto agudo de varias dosis de oxotremorina (0.05, 0.1, 0.2 mg/kg) postentrenamiento sobre la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras. De esta manera comprobamos si este fármaco tiene un efecto favorecedor en la consolidación de la memoria. Los resultados mostraron que no cumple nuestra hipótesis, ya que nos encontramos con una ausencia de efecto. Sin embargo, es interesante decir que hay una tendencia beneficiosa sobre la memoria. Además, en la literatura existen trabajos que nos indican que la administración de oxotremorina tiene efecto favorecedor en la memoria (e.g. Baratti y cols., 1983; Baratti y Kopf, 1996; Huygens y cols., 1980; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a). Aunque, la ausencia de efecto encontrada en nuestros resultados, también se ha

observado en la literatura (e.g. Maho y cols., 1988; Miyamoto y cols., 1989; Barros y cols., 2004). Además, se han visto diferencias de sexo con la dosis más alta de oxotremorina.

Así pues, decidimos reducir las dosis de amitriptilina para ver si el deterioro que ocasiona este fármaco se atenúa cuando se administra posteriormente la oxotremorina; ya que éste último es un fármaco que actúa también sobre el sistema colinérgico (Artigas, 1998), pero la amitriptilina como antagonista y la oxotremorina como agonista colinérgico, además de observar si se producen más diferencias de sexo.

Experimento 5

En el quinto experimento se ha observado el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 10 y 15 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.05 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

Basándonos en el posible deterioro dependiente de las dosis de amitriptilina, se ha hipotetizado que al utilizar dosis más bajas de este fármaco que en experimentos anteriores, el grado de déficit que ocasiona podría ser revertido por la dosis de oxotremorina administrada.

Dicha hipótesis parece ser que se ha cumplido, pero solo en la dosis más baja de amitriptilina (5 mg/kg) y solo en los sujetos hembra. También se observó que la oxotremorina produce un efecto beneficioso sobre la memoria en las hembras al compararlo con el grupo control, sin haber sido necesario haber administrado a ese grupo antidepressivo. Es decir, los resultados no han sido muy concluyentes con respecto al revertimiento del déficit ocasionado por la amitriptilina; diciendo que sigue existiendo una tendencia a la mejora, pero los resultados no son estadísticamente

significativos. Por lo que, en el siguiente experimento queremos ver dicho efecto en ambos sexos y corroborar este efecto favorecedor obteniendo nivel de significación estadística.

Experimento 6

En el sexto experimento se ha estudiado el efecto agudo de varias dosis de amitriptilina (5, 7.5 y 10 mg/kg) preentrenamiento y oxotremorina (0.1 mg/kg) postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras con diferente intensidad de descarga eléctrica (0.4 mA).

Utilizando las mismas dosis bajas de amitriptilina e introduciendo otra intermedia que no se había utilizado en el presente trabajo, y aumentando la dosis de oxotremorina, junto con una intensidad de descarga mayor que la utilizada hasta entonces; hemos pretendido que las condiciones experimentales fuesen más sensibles para detectar efecto en los sujetos que se les administra oxotremorina. Sin embargo, la hipótesis de la acción deteriorante de la amitriptilina, si que sigue apareciendo en los datos obtenidos; pero existe ausencia de efecto de la oxotremorina, además aquí tampoco se han observado diferencias de sexo.

Experimento 7

En el séptimo experimento se ha explorado el efecto agudo de amitriptilina (5 mg/kg) preentrenamiento y fisostigmina (0.3 mg/kg) postentrenamiento en evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

Como se ha comentado en los Experimentos 5 y 6, los resultados encontrados al coadministrar amitriptilina y oxotremorina no han sido concluyentes, ya que no se han obtenido resultados estadísticamente significativos. De forma que en este experimento

se introduce la fisostigmina, otro fármaco con unas características similares al anterior, en el sentido de que dicho fármaco es un facilitador de la memoria, porque hay diversos estudios que corroboran que inhibe el deterioro que ocasionan otros fármacos como por ejemplo: la escopolamina, la morfina, etc. (Dennes y Barnes, 1993; Dokla y Rydelek-Fitzgerald, 1991; Dunnett, 1985; Rush y Streit, 1992; Yamazaki y cols., 1991; Zarrindast y cols., 2006). Por tanto, la coadministración de dicho fármaco con otro que deteriore la memoria, como es el caso del antidepresivo utilizado hasta ahora, debe contrarrestar dicho déficit.

Los resultados obtenidos han alcanzado el nivel de significación estadística, diciéndonos que se cumple nuestra hipótesis, ya que la fisostigmina, administrada inmediatamente después del entrenamiento, revierte el deterioro que ocasiona la administración de amitriptilina 30 minutos antes del entrenamiento; habiendo provocado recuperación tanto en machos como en hembras.

Experimento 8

En el último experimento se ha pretendido observar el efecto agudo de amitriptilina (5 mg/kg) y varias dosis de fisostigmina (0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg) postentrenamiento en evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

En este experimento tenemos gran interés en ratificar el resultado obtenido en el experimento 7, junto con la posibilidad de saber si se repiten estos resultados con una dosis inferior y otra superior a la usada con fisostigmina. Hemos observado que los datos nos dan resultados más concretos con respecto a dicho fármaco, ya que la dosis inferior también restablece el aprendizaje en sujetos machos y hembras. Sin embargo, con la dosis alta solo ocurre en hembras. Además de que, en general, el aprendizaje lo realizan mejor la hembras, habiéndose encontrado diferencias de sexo en la

coadministración de amitriptilina y dosis baja de fisostigmina. Por lo que, de nuevo como en el experimento anterior, se verifica nuestra hipótesis de que este anticolinesterásico restablece la alteración de memoria que crea la amitriptilina. Es decir, los resultados obtenidos señalan a que, parece ser que, el sistema colinérgico participa en el deterioro de evitación inhibitoria producido por la amitriptilina.

7. EFECTO AGUDO DE AMITRIPTILINA
POSTENTRENAMIENTO EN LA EVITACIÓN
INHIBITORIA CON DOS INTENSIDADES DE
DESCARGA ELÉCTRICA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 1*)

7.1. INTRODUCCIÓN

Algunos antidepresivos pueden interferir en el aprendizaje y producir déficit de memoria, sobre todo a través de su acción anticolinérgica (Richelson y Nelson, 1984; Riedel y van Praag, 1995); y la disminución en el funcionamiento de este sistema conlleva problemas de memoria en las más variadas circunstancias (Kumar y Kulkarni, 1996; Pavone y cols., 1997; Sansone y cols., 1999). Así, podremos comprender la importancia que tiene conocer mejor los efectos cognitivos de la medicación que se administra a los pacientes. Una manera de aproximarse a este conocimiento consiste en investigar con animales para obtener ideas que han de ser sometidas a prueba en humanos (Amado-Boccarda y cols., 1995).

La amitriptilina es el antidepresivo tricíclico más anticolinérgico que se conoce. Si se parte de la hipótesis colinérgica de la memoria (Deutsch, 1971), entonces aquellos fármacos con propiedades anticolinérgicas, como los antidepresivos tricíclicos, pueden interferir en el aprendizaje y la memoria, produciendo algún tipo de deterioro en los pacientes tratados (Riedel y van Praag, 1995). Sin embargo, existen pocos estudios que investiguen la relación entre los efectos de los antidepresivos y la memoria (Riedel y van Praag, 1995). En nuestro laboratorio del Departamento de Psicobiología, se ha investigado y se está investigando el efecto de algunos antidepresivos sobre la memoria en animales (Everss y Parra, 1998; Everss y cols., 1999, 2005; Monleón y cols., 2001, 2002; Parra y cols., 2000, 2002; Vinader-Caerols y cols., 2006). Concretamente, los efectos de la administración aguda y crónica de amitriptilina, maprotilina y de fluoxetina sobre la evitación inhibitoria en ratones; técnica muy conocida en la investigación sobre el aprendizaje y la memoria animal, y una de las que más se usa cuando se quiere estudiar el efecto de determinados fármacos sobre la memoria (Heise, 1981). Estos estudios han desvelado diferente grado de deterioro en este

condicionamiento según el antidepresivo, siendo la amitriptilina la de efectos más consistentes y pronunciados.

Siguiendo nuestra línea de investigación, en este primer experimento, evaluaremos el efecto agudo postentrenamiento de una única dosis de amitriptilina (30 mg/kg) sobre evitación inhibitoria en ratones machos y hembras. Para ello se administrará dicho fármaco en diferentes intervalos de tiempo después del entrenamiento, y así comprobar la acción de la amitriptilina sobre la consolidación de la memoria, la memoria a largo plazo y el recuerdo. Hemos querido utilizar una dosis más alta que las utilizadas normalmente en la literatura para ampliar el estudio del impacto de otras dosis de amitriptilina sobre el condicionamiento de evitación inhibitoria 24 horas, 15 días y 22 días después del entrenamiento; aunque hay que decir que esta dosis ya ha sido utilizada en otros trabajos experimentales encontrados (e.g. Fundaro, 1998) y en nuestro grupo de investigación (e.g. Everss y cols., 1999, Parra y cols., 2002). Además, una de nuestras hipótesis de trabajo, para este experimento y posteriores de la presente tesis doctoral, plantea que si esta dosis o dosis futuras, producen un deterioro sobre la memoria, este efecto quedaría reflejado mediante una reducción de las latencias de cruce de los animales en la sesión de test de la prueba de evitación inhibitoria, en comparación con los animales controles. Los animales controles recordarían la conducta inhibitoria que habrían aprendido o consolidado durante diferentes sesiones y presentarían latencias de cruce más elevadas.

7.2. MATERIAL Y MÉTODOS

7.2.1. Sujetos

Se utilizaron un total de 96 animales (48 machos y 48 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia). Se eligió esta cepa porque son menos ansiosos y tienen mayor conducta exploratoria que otras cepas, como por ejemplo los C57BL/6J (Parmigiani y cols., 1999). A su llegada a nuestro laboratorio, fueron alojados en grupos de 5 animales en cajas de plástico translúcido ($25 \times 25 \times 14.5 \text{ cm}^3$) y el techo de barras de acero inoxidable, con agua y comida *ad libitum*. El ciclo invertido de luz-oscuridad se estableció de 12:12 horas (luz 19:00 a 7:00 horas), y la temperatura del animalario estaba controlada diariamente ($22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Desde la llegada al animalario hasta el comienzo del experimento, los animales estuvieron en periodo de adaptación en el laboratorio durante 10 días. Todas las pruebas se realizaron siempre durante la fase de oscuridad, entre las 9:00 y las 16:00 horas. El tratamiento experimental y el cuidado de los animales en éste y el resto de los experimentos de la presente tesis doctoral se realizaron siguiendo la Directiva del Consejo de la Comunidad Europea de 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC) y el Real Decreto español 1201/2005.

7.2.2. Fármaco

El fármaco utilizado fue clorhidrato de amitriptilina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), disuelto en suero salino (0.9 %) y se inyectó por vía intraperitoneal calculado el volumen a razón de 0.01 ml/g de peso corporal. También se empleó para el grupo control el mismo volumen de suero salino. En este experimento se utilizó una única dosis de fármaco (30 mg/kg).

7.2.3. Aparatos

Para la realización de este experimento se utilizó una caja de evitación inhibitoria para ratones (Ugo Basile, Comerio-Varese, Italia). El aparato consta básicamente de una caja rectangular y un controlador. La caja está compuesta por láminas de Perspex. Está dividida en dos compartimentos de iguales dimensiones, con la diferencia de que uno de ellos es de color blanco y el otro negro; estos dos compartimentos están comunicados por una puerta corredera controlada automáticamente. El compartimento claro está iluminado constantemente por una luz blanca de 24v-10w, localizada en el techo. Los valores de luminosidad en el compartimento claro de la caja de evitación son de 290 luxes (medidos con fotómetro gossen panlux electronic 2). El otro compartimento es totalmente opaco y permanece constantemente a oscuras. El techo de la caja, que incluye los dos compartimentos, es el único acceso que tenemos a su interior y funciona con un sistema de bisagras. El suelo es de varillas de acero inoxidable y funciona como un balancín regulable por peso, con un punto de apoyo central, estando electrificado el suelo del compartimento negro donde emite descarga eléctrica durante 5 segundos en la fase de entrenamiento, siempre inmediatamente después de cruzar el sujeto. En un lateral de la rejilla, dando al exterior, está instalado un sistema de pesas que permite adaptar el balanceo del suelo al peso del animal. Debajo de la rejilla se encuentra una bandeja de color negro, extraíble para su limpieza tras el paso por la caja de cada animal y en la que se recogen las defecaciones del mismo.

El controlador en su parte frontal tiene los mandos para seleccionar los parámetros de cada experimento (periodo de adaptación, intensidad de la descarga eléctrica, duración de la misma, duración total del ensayo y contador del tiempo de latencia). En la parte superior dispone de una rejilla de ventilación, y en la parte

posterior está localizado el botón de puesta en marcha, así como sus conexiones a la red eléctrica. Además, existe un pedal conectado al controlador mediante un cable, que se acciona para dar comienzo a cada ensayo.

Al inicio de cada ensayo, la puerta corredera permanece cerrada durante el periodo de adaptación al aparato, impidiendo el acceso del animal al otro compartimento. Al finalizar este periodo, la puerta corredera se abre automáticamente comenzando a funcionar el contador del tiempo de latencia. Las respuestas posibles del animal son dos: (1) si el animal cruza al compartimento negro cambia la inclinación del balancín provocando el bloqueo de la puerta, impidiendo que el animal pueda regresar al anterior compartimento, y el contador de latencia de respuesta se detiene, recibiendo una descarga eléctrica en las patas (con intensidad y duración establecidas con anterioridad en el controlador); y (2) si el animal no cruza evita la situación que le planteamos, permaneciendo la puerta abierta hasta que finaliza todo el periodo establecido de duración máxima de la prueba, volviendo a cerrarse automáticamente la puerta corredera.

Este experimento fue realizado con caja de aislamiento; es decir, la caja de evitación inhibitoria se introdujo dentro de otra caja con una ventana central para poder ver en su interior, que aísla de luz y sonidos del exterior, disponiendo dicha caja de ventilación.

7.2.4. Diseño experimental

En este experimento los sujetos fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos en cada sexo. Cada grupo tuvo su administración correspondiente por vía intraperitoneal de forma aguda inmediatamente después de pasar por la caja de evitación inhibitoria. Asimismo, se utilizaron dos intensidades diferentes de descarga eléctrica en la fase de

entrenamiento de 0.3 y 0.5 mA. A los cuatro grupos diferenciados se les administró: suero fisiológico (salino-0.3 y salino-0.5) y amitriptilina (amitriptilina-0.3 y amitriptilina-0.5), formando los grupos: S-0.3, S-0.5, A-0.3 y A-0.5. Y siendo la dosis de amitriptilina de 30 mg/kg. Se seleccionó esta dosis basándonos en trabajos previos realizados en nuestro grupo de investigación, donde se utilizaron dosis de 7.5, 15 y 30 mg/kg; siendo los resultados más pronunciados los de la dosis más alta (Everss y cols., 1999; Parra y cols., 2002).

7.2.5. Procedimiento

El orden en que los ratones pasaron por la prueba se fijó mediante sorteo entre todos los sujetos del experimento. La fase de entrenamiento empieza colocando al sujeto en el compartimento blanco de la caja, de espaldas a la puerta. Tras accionar el pedal, el animal permanece en un periodo de adaptación de 90 segundos, hasta que al finalizar dicho periodo se abre la puerta corredera, dejando que el animal acceda libremente al compartimento negro. Los animales que cruzaron recibieron una descarga eléctrica durante 5 segundos de 0.3 mA ó de 0.5 mA, registrándose de inmediato la latencia de respuesta; y los sujetos que no cruzaron fueron descartados del experimento. Cuando el animal se extrajo de la caja se le administró su dosis correspondiente al grupo al que pertenecía.

Transcurridas 24 horas de la fase de entrenamiento, se realizó la fase de test I. En ella se introdujeron los animales de nuevo en la caja de evitación inhibitoria estableciendo como duración máxima del ensayo 300 segundos. En la fase de test hay una diferencia con respecto a la fase de entrenamiento: se ha eliminado la descarga eléctrica; pero el resto del procedimiento es exactamente igual que en la fase de entrenamiento. Además, 15 días después del entrenamiento, los sujetos volvieron a

pasar por la fase de test, llamándola test II; y cuando transcurrieron 22 días del entrenamiento, de nuevo pasaron por la fase de test, llamándola test III. Así pues, los sujetos pasaron por la caja de evitación inhibitoria cuatro veces, la primera vez o fase de entrenamiento fue realizada con descarga eléctrica y los tres pases restantes o fases de tests (test I, II y III) se eliminó dicha descarga eléctrica. Aunque, hay que diferenciar el test II del I y el III. En este caso, los animales fueron sometidos a una extinción forzada, siendo los mismos parámetros que en cualquier test, con la diferencia de que si el animal cruzaba al compartimento negro se registraba la latencia, y se le dejaba allí durante 120 segundos, midiendo este tiempo con un cronómetro; si por el contrario el sujeto no cruzaba, se anotaba la latencia de cruce máxima (300 segundos) y se le colocaba en el compartimento negro durante 120 segundos antes de devolverlo a su jaula.

Tanto en la fase de entrenamiento como en las de test, cada animal fue devuelto a su jaula inmediatamente después del pase por la prueba. Asimismo se limpió la caja después del pase por la prueba. El experimento se realizó en el laboratorio a una temperatura controlada y en un estado de semipenumbra conseguido con una luz roja de 25w. El diseño y procedimiento de este experimento aparece esquematizado en la Figura 7.1.

Como medida de aprendizaje se utilizó las latencias de cruce del entrenamiento y del test de evitación inhibitoria. Dichas latencias, anotadas manualmente después de la realización de cada ensayo, pueden oscilar entre 0.0 y 300.0 segundos.

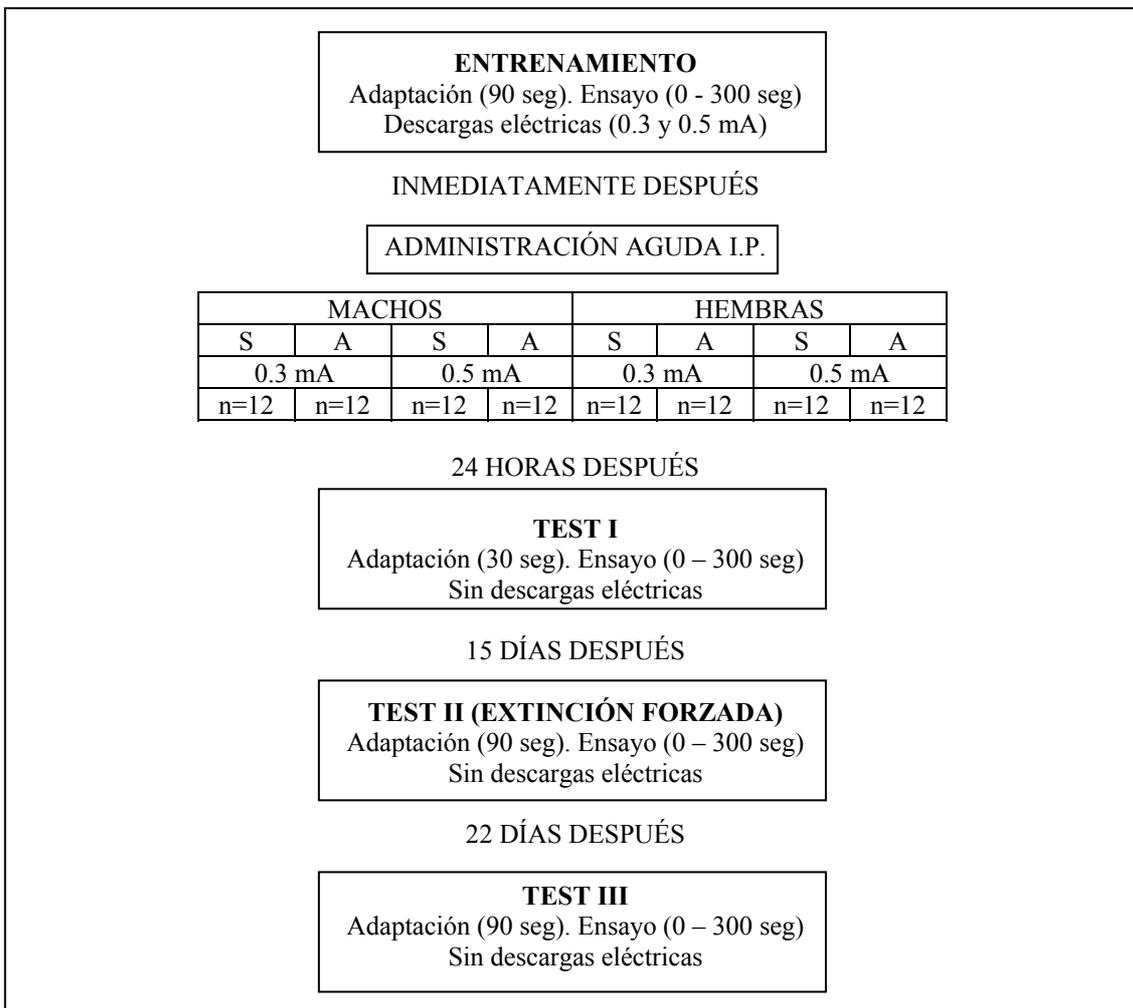


Figura 7.1. Diseño y procedimiento del Experimento 1. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A: 30 mg/kg de amitriptilina, n: número de sujetos por grupo.

7.2.6. Análisis estadístico

Como medida de aprendizaje se utilizó la latencia de respuesta del entrenamiento y el test, en décimas de segundo obtenidas de la caja de evitación inhibitoria. Los resultados se evaluaron utilizando estadística paramétrica, Análisis de Varianza (ANOVA), y se consideró $p < 0.05$ como nivel mínimo de significación estadística. Para dicho análisis los datos fueron transformados de la siguiente manera: (1) se calculó la proporción de cada dato con respecto a la respuesta máxima ($p = x / 300$), (2) se realizó la raíz cuadrada de dicha proporción (\sqrt{p}) y, (3) se obtuvo el arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción ($\arcseno \sqrt{p}$). Realizada la transformación de todas las latencias obtenidas de cada sujeto experimental, y en base a Snedecor y Cochran (1980) se hizo un Análisis de Varianza, debido a que los datos reunían los requisitos de normalidad. Por lo tanto, la variable dependiente se distribuyó normalmente, comprobándolo mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov; y homoscedasticidad, es decir, las varianzas de los grupos deben ser homogéneas, realizando el test de Cochran. Las variables independientes fueron el Tratamiento y el Sexo, y la variable dependiente la Fase (entrenamiento y test).

Después de realizar el ANOVA, se realizaron comparaciones post-hoc entre los diferentes tratamientos, donde se utilizó la prueba de Newman-Keuls. Dicha prueba, se hizo siempre, aunque la interacción en Análisis de Varianza no fue estadísticamente significativa; ya que nos pareció relevante realizarlo, para observar con más detalle cuales eran las diferencias entre los distintos tratamientos.

Además, para las comparaciones entre entrenamiento y test dentro del mismo grupo, se usó la t de Student para muestras dependientes. Todos los análisis se realizaron con el programa “Stadistica” versión 5.5 para Windows.

7.3. RESULTADOS

Independientemente del sexo, los resultados del Tratamiento en el entrenamiento nos indicaron que los datos no alcanzaron el nivel de significación estadística ($F_{3,88} = 1.52$, n.s.).

Sin embargo, la variable Tratamiento en el test I, fue estadísticamente significativa ($F_{3,88} = 5.08$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los dos tratamientos: salino (S) y amitriptilina (A) versus 0.3 mA ($p < 0.01$); presentando latencias mayores los grupos con intensidad de descarga de 0.5 mA con respecto a los de 0.3 mA (ver Figura 7.2).

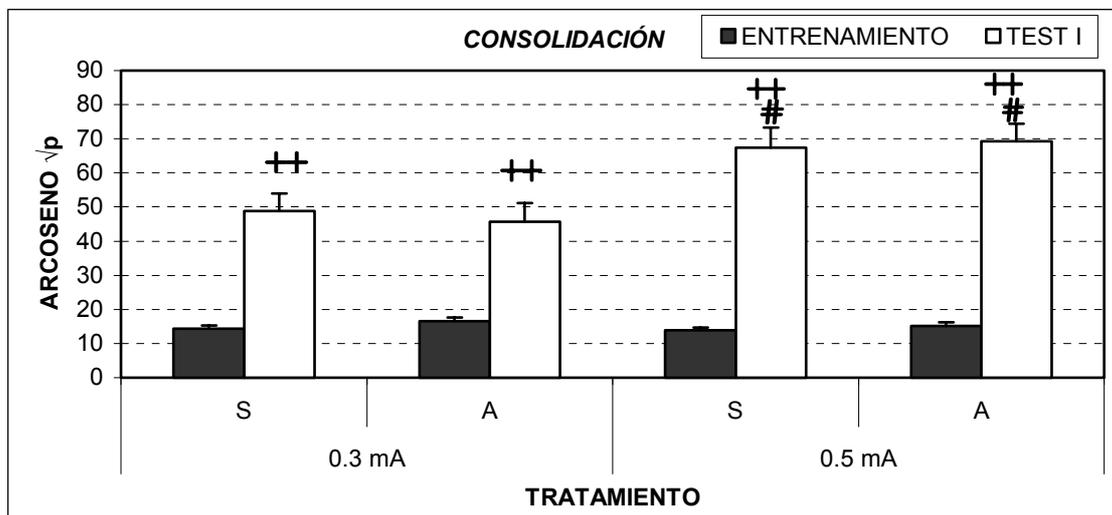


Figura 7.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test I fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento. # $p < 0.05$ vs S-0.3 mA y A-0.3 mA, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test I en machos: $F_{3,44} = 4.18$, $p = 0.01$; pero no en hembras: $F_{3,44} = 1.58$, n.s.. El post-hoc en machos, obtuvo significación estadística en el grupo de A-0.5 versus A-0.3 mA ($p < 0.05$) (ver Figuras 7.3 y 7.4).

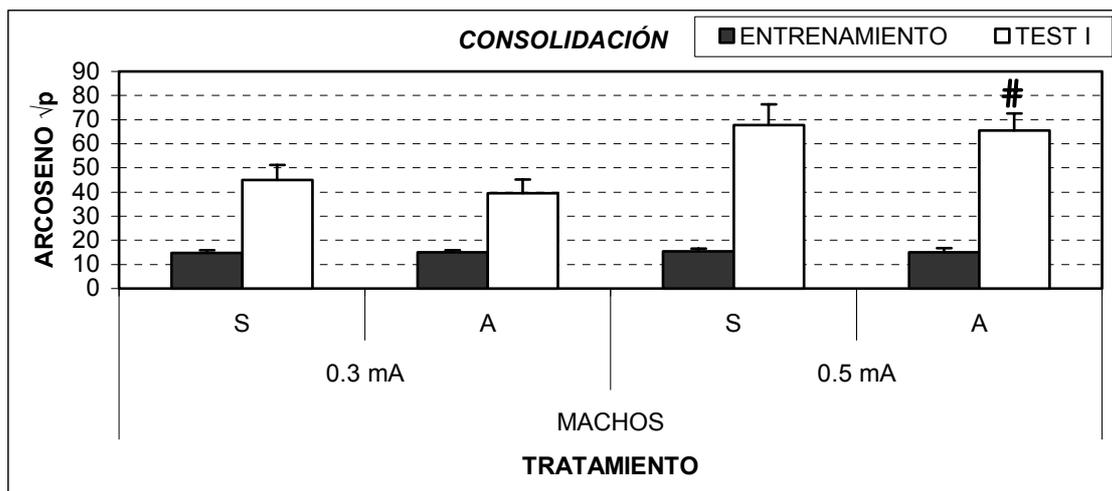


Figura 7.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test I fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento. # $p < 0.05$ vs A-0.3 mA.

Además, si observamos los resultados, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar machos y hembras en la fase de test I, con $F_{1,88} = 1.56$, n.s. (ver Figura 7.5.).

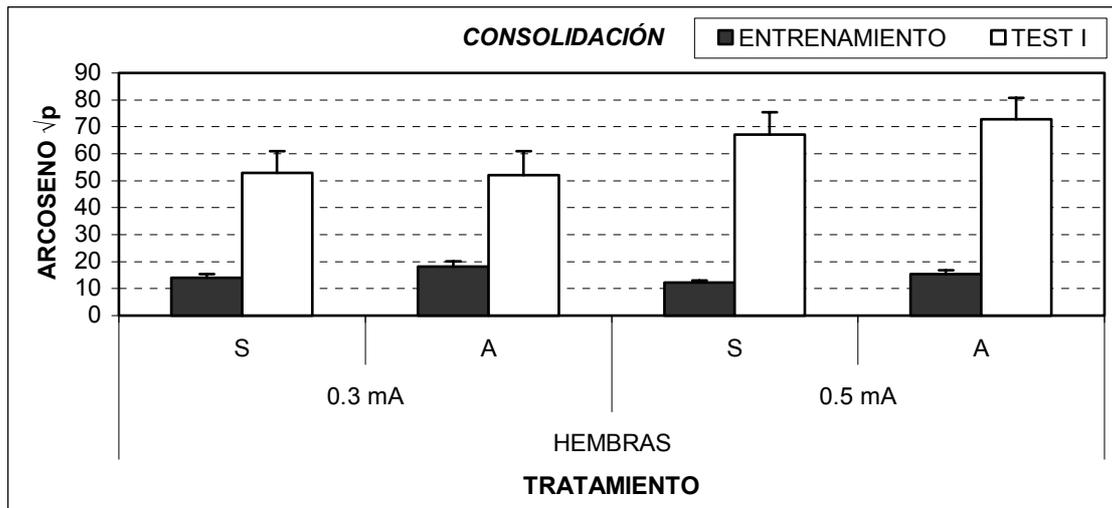


Figura 7.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test I fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento.

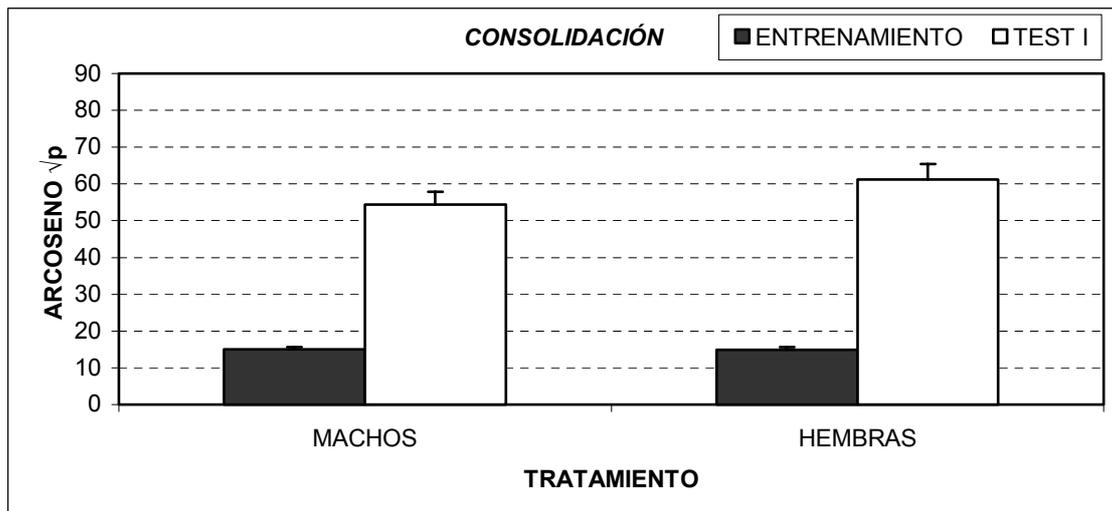


Figura 7.5. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test I fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento.

Las comparaciones entre entrenamiento y test I, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la *t* de Student en todos los tratamientos, tanto con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA (S: $t_{23} = 7.10$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 5.48$, $p < 0.01$) como de 0.5 mA (S: $t_{23} = 9.50$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 10.94$, $p < 0.01$) (ver Figura 7.2). También, aparecieron diferencias estadísticamente significativas al realizar dicho análisis en cada sexo por separado; siendo las comparaciones significativas en los siguientes grupos de machos: 0.3 mA (S: $t_{11} = 5.39$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 3.81$, $p < 0.01$) y 0.5 mA (S: $t_{11} = 6.72$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 7.92$, $p < 0.01$); y de hembras: 0.3 mA (S: $t_{11} = 4.85$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 3.96$, $p < 0.01$) y 0.5 mA (S: $t_{11} = 6.47$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 7.48$, $p < 0.01$) (ver Figura 7.6).

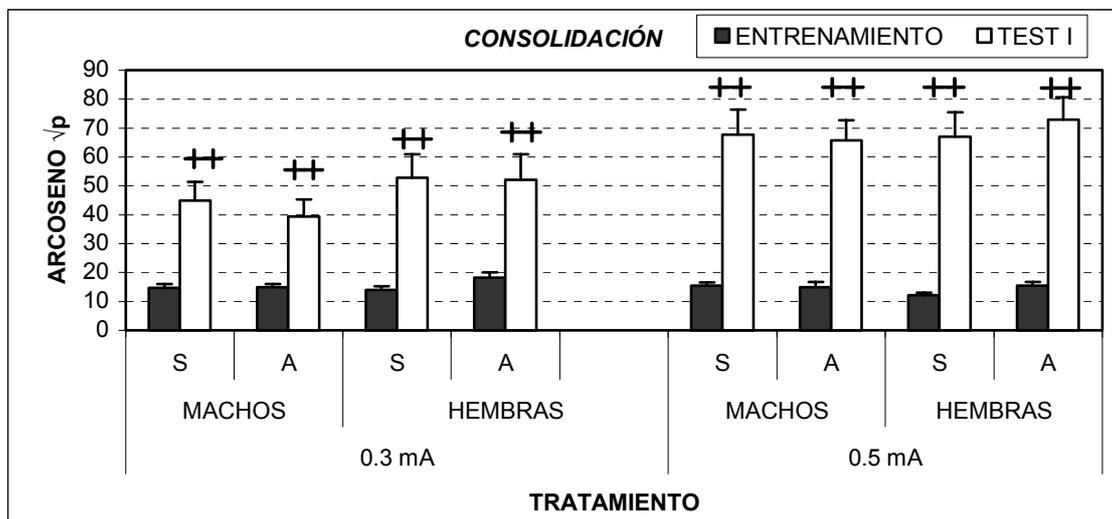


Figura 7.6. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test I fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento. ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

La variable Tratamiento en el test II, fue estadísticamente significativa ($F_{3,88} = 6.63$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en: S-0.5 versus S-0.3 mA y A-0.5 versus A-0.3 mA ($p < 0.01$, $p < 0.05$, respectivamente); presentando latencias mayores los grupos con intensidad de descarga de 0.5 mA con respecto a los de 0.3 mA (ver Figura 7.7).

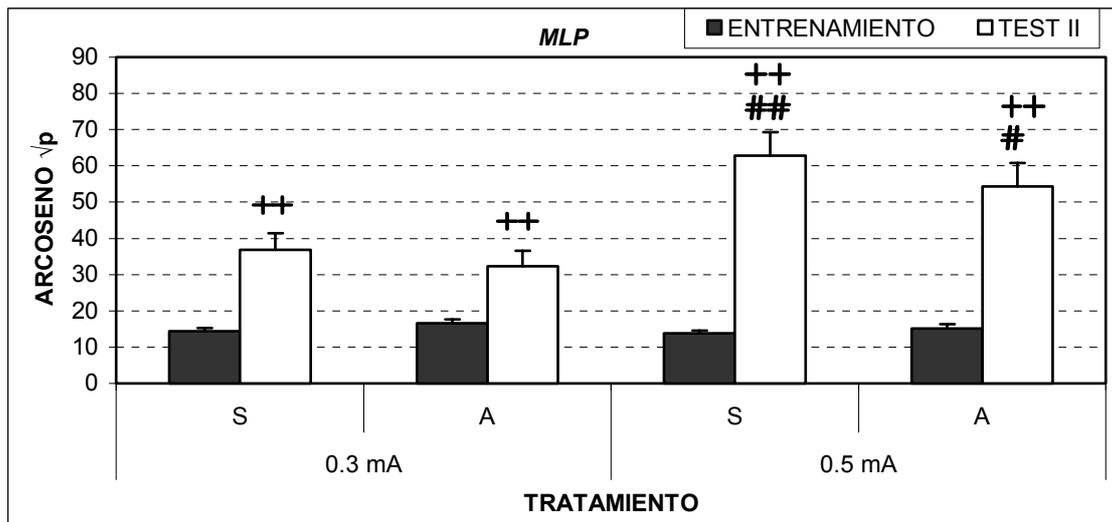


Figura 7.7. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test II fue realizada 15 días después de la fase de entrenamiento. ## $p < 0.01$ vs S-0.3 mA y # $p < 0.05$ vs A-0.3 mA, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test II en machos: $F_{3,44} = 2.95$, $p < 0.05$; y en hembras: $F_{3,44} = 3.96$, $p = 0.01$; donde el post-hoc en hembras, nos dijo que se obtuvo significación estadística en el grupo de A-0.5 versus A-0.3 mA ($p < 0.05$) (ver Figuras 7.8 y 7.9).

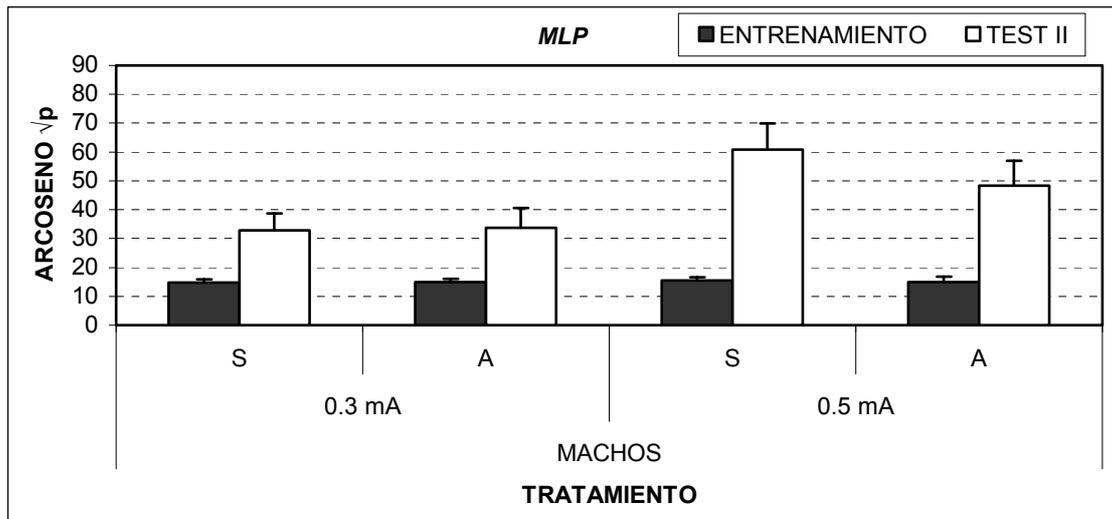


Figura 7.8. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test II fue realizada 15 días después de la fase de entrenamiento.

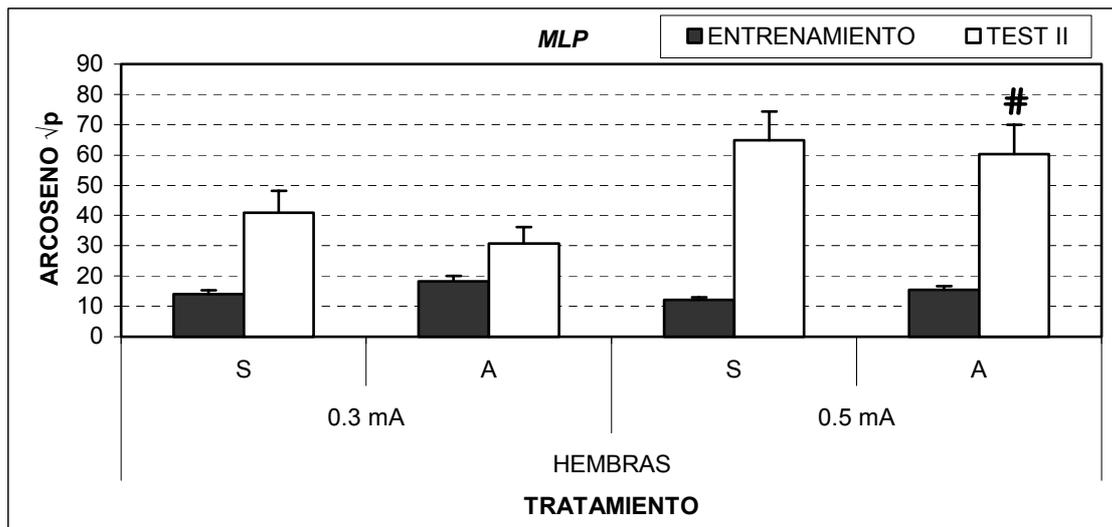


Figura 7.9. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test II fue realizada 15 días después de la fase de entrenamiento. # $p < 0.05$ vs A-0.3 mA.

Si observamos los resultados, también podemos ver que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar machos y hembras en la fase de test II, con $F_{1,88} = 0.89$, n.s. (ver Figura 7.10.).

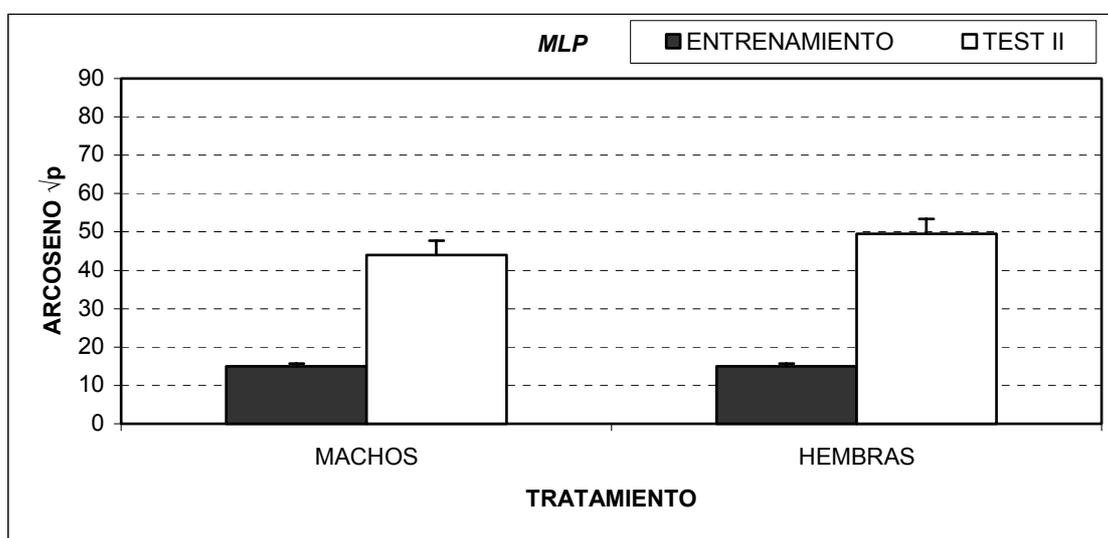


Figura 7.10. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test II fue realizada 15 días después de la fase de entrenamiento.

Las comparaciones entre entrenamiento y test II, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la t de Student en todos los tratamientos, tanto con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA (S: $t_{23} = 5.19$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 3.69$, $p < 0.01$) como de 0.5 mA (S: $t_{23} = 7.57$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 6.05$, $p < 0.01$) (ver Figura 7.7). También, aparecieron diferencias estadísticamente significativas al realizar dicho análisis en cada sexo por separado; siendo las comparaciones significativas en los siguientes grupos de machos: 0.3 mA (S: $t_{11} = 3.37$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 2.65$, $p < 0.05$) y 0.5 mA (S: $t_{11} = 4.93$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 3.66$, $p < 0.01$); y de hembras: 0.3 mA (S: $t_{11} =$

3.95, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 2.60$, $p < 0.05$) y 0.5 mA (S: $t_{11} = 5.62$, $p < 0.01$ y A: $t_{11} = 4.86$, $p < 0.01$) (ver Figura 7.11.).

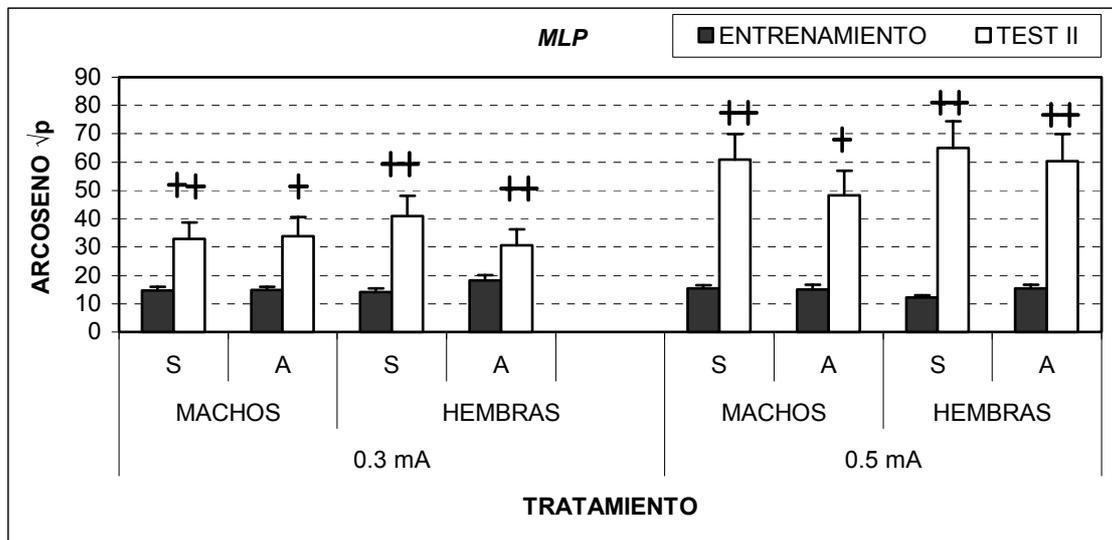


Figura 7.11. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test II fue realizada 15 días después de la fase de entrenamiento. ++ $p < 0.01$ y + $p < 0.05$ vs entrenamiento.

La variable Tratamiento en el test III no alcanzó el nivel de significación estadística ($F_{3,88} = 0.93$, n.s.) (ver Figura 7.12). Y tampoco, al realizar el análisis de varianza por separado machos y hembras, obteniendo los siguientes resultados en machos: $F_{3,44} = 1.61$, n.s.; y en hembras: $F_{3,44} = 0.54$, n.s. (ver Figuras 7.13 y 7.14).

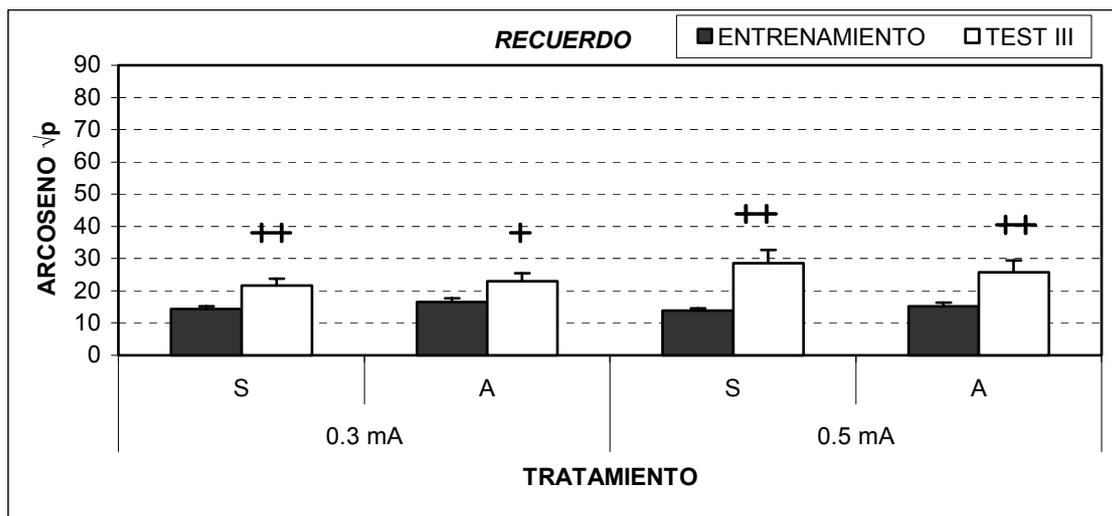


Figura 7.12. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test III fue realizada 22 días después de la fase de entrenamiento. ++ $p < 0.01$ y + $p < 0.05$ vs entrenamiento.

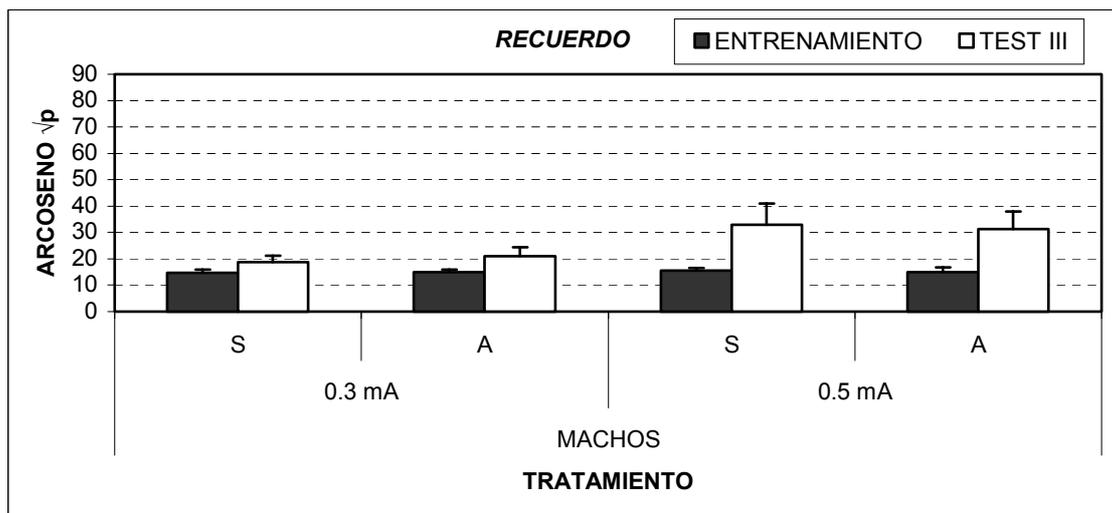


Figura 7.13. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test III fue realizada 22 días después de la fase de entrenamiento.

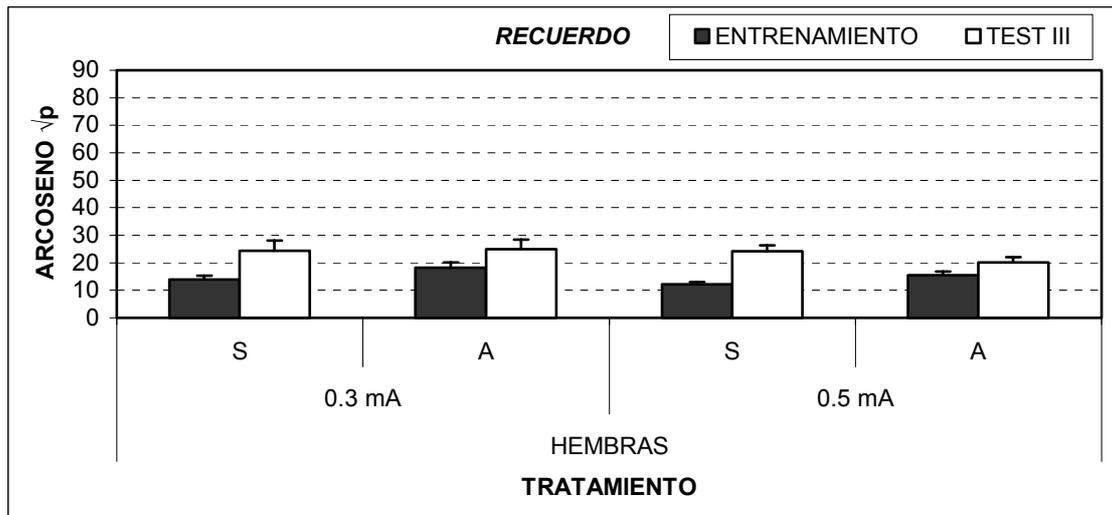


Figura 7.14. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test III fue realizada 22 días después de la fase de entrenamiento.

Teniendo en cuenta los resultados, podemos observar que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar machos y hembras en la fase de test III, con $F_{1,88} = 0.67$, n.s. (ver Figura 7.15.).

Además, las comparaciones entre entrenamiento y test III, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la t de Student en todos los tratamientos, tanto con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA (S: $t_{23} = 3.22$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 2.62$, $p < 0.05$) como de 0.5 mA (S: $t_{23} = 3.43$, $p < 0.01$ y A: $t_{23} = 3.03$, $p < 0.01$) (ver Figura 7.12). Realizando dicho análisis en cada sexo por separado, encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo de A-0.5 mA de machos ($t_{11} = 2.68$, $p < 0.05$); y en los de salino (0.3 mA: $t_{11} = 2.78$, $p < 0.05$ y 0.5 mA: $t_{11} = 4.59$, $p < 0.01$) de hembras (ver Figura 7.16.).

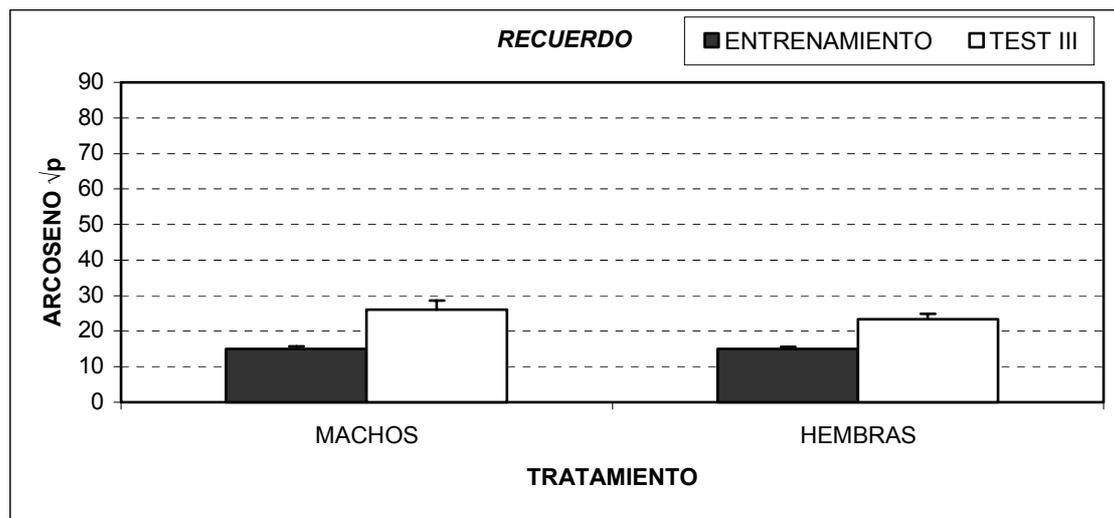


Figura 7.15. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test III fue realizada 22 días después de la fase de entrenamiento.

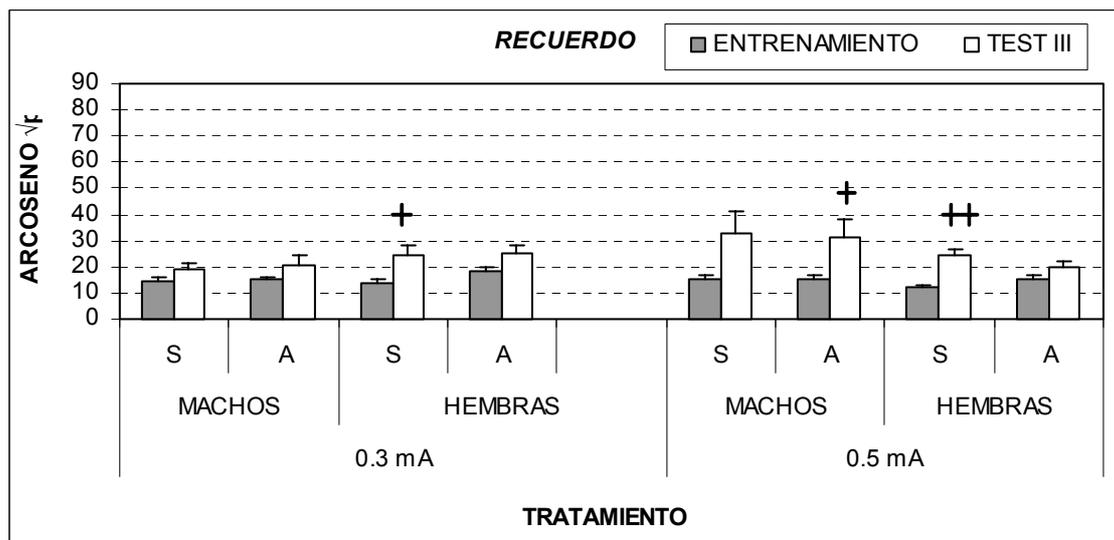


Figura 7.16. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA, en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino y A: 30 mg/kg de amitriptilina; donde la fase de test III fue realizada 22 días después de la fase de entrenamiento. ++ $p < 0.01$ y + $p < 0.05$ vs entrenamiento.

7.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el efecto de la administración aguda después del entrenamiento de 30 mg/kg de amitriptilina sobre el recuerdo tras varios intervalos de tiempo (24 horas, 15 días y 22 días) en el condicionamiento de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con dos intensidades de descarga eléctrica a las que se les sometió a los sujetos en el entrenamiento (0.3 y 0.5 mA).

La dosis empleada en el presente experimento no ha tenido efecto significativo sobre la evitación inhibitoria, en ninguno de los momentos en que se ha realizado el test (24 horas, 15 días y 22 días después del entrenamiento). Estos datos nos indican que no ha habido ningún efecto del fármaco al compararlo con el grupo control; por lo que, el tratamiento no ha sido efectivo en ninguno de los tres tests. Esta falta de efecto, también ha sido observada en algún otro trabajo experimental. Suzuki y cols. (1995) evaluaron dosis orales de 10, 30 y 50 mg/kg sobre la evitación inhibitoria en ratones viejos, pero no describieron ningún efecto significativo de este antidepresivo.

Tampoco se ha observado diferencias entre machos y hembras. Aunque no hayan aparecido diferencias de sexo, sí que podemos decir que tanto en el Test I como en el Test II las latencias de cruce en las hembras son más largas que en los machos, no solo en los grupos tratados con amitriptilina sino también en los grupos a los que se les administró suero fisiológico; reflejándonos que las hembras realizan mejor la tarea de aprendizaje. Esta tendencia a que las hembras realizan mejor el condicionamiento de evitación, no es tan evidente en el caso del Test III.

Se puede decir, que aunque no se hayan encontrado diferencias de sexo estadísticamente significativas, esta tendencia a que realicen mejor su tarea las hembras, se ha observado en nuestro grupo de investigación con otros fármacos no

antidepresivos. Se han encontrado efectos sexodimórficos con antipsicóticos, que también han variado en función de la dosis empleada y en los que se ha puesto en evidencia que son los machos los más afectados por el fármaco (Arenas y cols., 1993, 1995 y 1999; Monleón y cols., 1998; Monleón y Parra, 1998; Parra y cols., 1999a).

Al realizar comparaciones dos a dos, sí que se han encontrado diferencias en las latencias (en su ejecución y aprendizaje) entre los grupos sometidos a dos intensidades de descarga eléctrica, que aunque no son de primordial interés en este trabajo en concreto, sí que debemos tenerlo en cuenta para los experimentos venideros de esta tesis doctoral. Dichas diferencias han aparecido en los machos tratados con fármaco en el Test I, y en los machos control y hembras tratadas con amitriptilina en el Test II; siendo las latencias de cruce más largas en aquellos grupos a los que se les ha sometido a una descarga eléctrica de 0.5 mA. Por lo que, podemos decir que las diferencias de intensidad de descarga eléctrica encontradas, nos han llevado a elegir la intensidad de 0.3 mA para el resto de experimentos de esta tesis doctoral, debido a que la intensidad de 0.5 mA parece ser que ha sido demasiado alta. Es decir, las latencias de respuesta encontradas en este experimento, casi alcanzan un “efecto techo” establecido por el procedimiento (duración máxima del ensayo: 300 segundos), y el efecto que produjera dicho fármaco podría estar enmascarado por el efecto techo mencionado.

Los análisis estadísticos nos indican que se ha producido consolidación y memoria a largo plazo en todos los grupos experimentales, siendo las latencias del Test I y Test II más largas que las encontradas en el entrenamiento; reflejando que se ha producido evidente aprendizaje. Estos resultados no han aparecido en el caso del Test III, ya que no se ha producido recuerdo en la memoria en los machos a los que se les ha sometido a una intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; indicándonos que han sufrido olvido en este sexo en concreto. No tenemos explicación para el aprendizaje de

este mismo sexo tratados con fármaco e intensidad de 0.5 mA, quizás no ha afectado por igual a los machos que a las hembras. Se han propuesto algunas hipótesis para explicar estas diferencias entre sexos, como por ejemplo, diferencias en la metabolización del fármaco (Pollock, 1997; Yonkers y cols., 1992) o a un mejor aprendizaje de las hembras; aunque estas diferencias no han sido consistentes (Palanza, 2001).

Los datos obtenidos en este experimento nos dan idea de cual es el camino que debemos seguir para realizar futuros trabajos de esta tesis doctoral. Entre ellos, diremos que en los siguientes experimentos se trabajará con una única intensidad de descarga eléctrica (0.3 mA) y administraremos este fármaco pre y postentrenamiento, para observar cuales son sus efectos sobre la evitación inhibitoria.

8. EFECTO AGUDO DE AMITRIPTILINA
PRE Y POSTENTRENAMIENTO EN LA
EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS (*EXPERIMENTO 2*)

8.1. INTRODUCCIÓN

En este experimento se ha intentado comprobar si realmente la amitriptilina produce deterioro en la adquisición y en la consolidación de la memoria, administrando el fármaco antes y después del entrenamiento. Se han utilizado solo machos, teniendo en cuenta que en la literatura y en los trabajos de experimentación animal, vemos que en la mayor parte de los casos se ha experimentado con sujetos de este sexo (Archer y cols., 1984; Carey y cols., 2001; Danysz y cols., 1988; Introini-Collison y cols., 1992; Sansone y cols., 1999; Parra y cols., 2000; Power y cols., 2003a); y también nos hemos basado en los resultados obtenidos en el experimento anterior, ya que se produjo déficit en el recuerdo o recuperación en los sujetos machos a los que se les dio intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA.

Lo que se pretende con este segundo experimento es estudiar más detalladamente el efecto que podría tener sobre la memoria la administración aguda de la misma dosis de amitriptilina que en el experimento anterior (30 mg/kg), para así corroborar el efecto amnésico encontrado en la administración postentrenamiento en la prueba de evitación inhibitoria con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA. Además, también se pretende observar el efecto que provoca en la memoria la administración preentrenamiento del mismo fármaco y la misma dosis, viendo así cuales son sus influencias en la adquisición, ya que en la literatura se ha mostrado que dicho fármaco impide el aprendizaje de evitación en dosis altas, como 30 mg/kg (e.g. Parra y cols., 2006) y en dosis más bajas, como es el caso de 5 mg/kg (e.g. Sansone y cols., 1999); siendo todo esto debido, entre otros motivos, a que la amitriptilina tiene una potente acción anticolinérgica (Sein-Anand y cols., 2005).

La evitación inhibitoria es una prueba de aprendizaje y memoria que usa estímulos aversivos, dicha prueba utiliza como estímulo aversivo la descarga eléctrica, la cual provoca miedo a los animales; siendo esto lo que hace que los sujetos recuerden dicha experiencia negativa, y como consecuencia de ello hacen todo lo posible para evitarla. Éste, entre otros, es uno de los motivos por lo que se ha elegido dicha prueba; además, de que es un procedimiento ampliamente validado y consolidado en la literatura (e.g. Clements y Bourne, 1996; Daws y cols., 1998; Elrod y Buccafusco, 1988; Flagioli y cols, 1992; Laborit y Zerbib, 1987; Matthis y cols., 1994; Meguro y cols., 1995; Pavone y cols., 1993; Sansone y cols., 1993; Tanabe y cols., 1997; Zarrindast y cols., 1995).

8.2. MATERIAL Y MÉTODOS

8.2.1. Sujetos

Se utilizaron 30 ratones machos de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia). Del total de animales con el que se empezó a trabajar en este experimento, se eliminaron 5 de ellos por muerte experimental, quedándose un menor número de sujetos por grupo. Las condiciones en que fueron alojados los animales en el laboratorio y en las que se realizaron las pruebas fueron las mismas que las descritas en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.1.).

8.2.2. Fármaco

La manera en que los 30 mg/kg de amitriptilina y el suero fisiológico fueron preparados y administrados, se detalla en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.2.).

8.2.3. Aparatos

La caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento empleadas, fueron descritas con anterioridad en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.).

8.2.4. Diseño experimental

En este experimento los sujetos fueron asignados aleatoriamente en tres grupos. Cada grupo tuvo su administración correspondiente por vía intraperitoneal de forma aguda, antes y después de pasar por la caja de evitación inhibitoria. A los tres grupos diferenciados se les administró: suero fisiológico 30 minutos antes e inmediatamente después de pasar por la prueba (salino-salino), amitriptilina antes y suero fisiológico después (amitriptilina-salino) y suero fisiológico antes y amitriptilina después (salino-amitriptilina); formando los grupos: SS, AS y SA respectivamente. Y siendo la dosis de amitriptilina de 30 mg/kg.

8.2.5. Procedimiento

El orden en que los ratones pasaron por la prueba, se fijó mediante sorteo entre todos los sujetos del experimento. Inmediatamente antes de la primera administración se pesaba a cada animal, y a los 30 minutos se introducía en la caja de evitación inhibitoria, sometiéndolo a la primera fase o fase de entrenamiento. El ensayo empieza colocando al sujeto en el compartimento blanco de la caja, e inmediatamente después se accionaba el pedal, permaneciendo el animal en un periodo de adaptación de 90

segundos. Al finalizar dicho periodo de adaptación se abre la puerta corredera, y se deja que el animal acceda libremente al compartimento negro. Los animales que cruzaron recibieron una descarga eléctrica de 0.3 mA durante 5 segundos, registrándose de inmediato la latencia de respuesta; y los sujetos que no cruzaron fueron descartados del experimento. Cuando el animal se extrajo de la caja se le administró su segunda dosis correspondiente al grupo al que pertenecía.

La segunda fase, o fase de test, fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento. En ella se introdujeron los animales de nuevo en la caja de evitación inhibitoria evaluando así su aprendizaje y estableciendo como duración máxima del ensayo 300 segundos.

La diferencia entre la fase de entrenamiento y la de test, radica en que en ésta última se ha eliminado la descarga eléctrica; pero el resto del procedimiento es exactamente igual que en la fase de entrenamiento.

El experimento expuesto anteriormente, fue realizado con caja de aislamiento; es decir, la caja de evitación inhibitoria se introdujo dentro de dicha caja de aislamiento. El diseño y procedimiento de este experimento aparece esquematizado en la Figura 8.1.

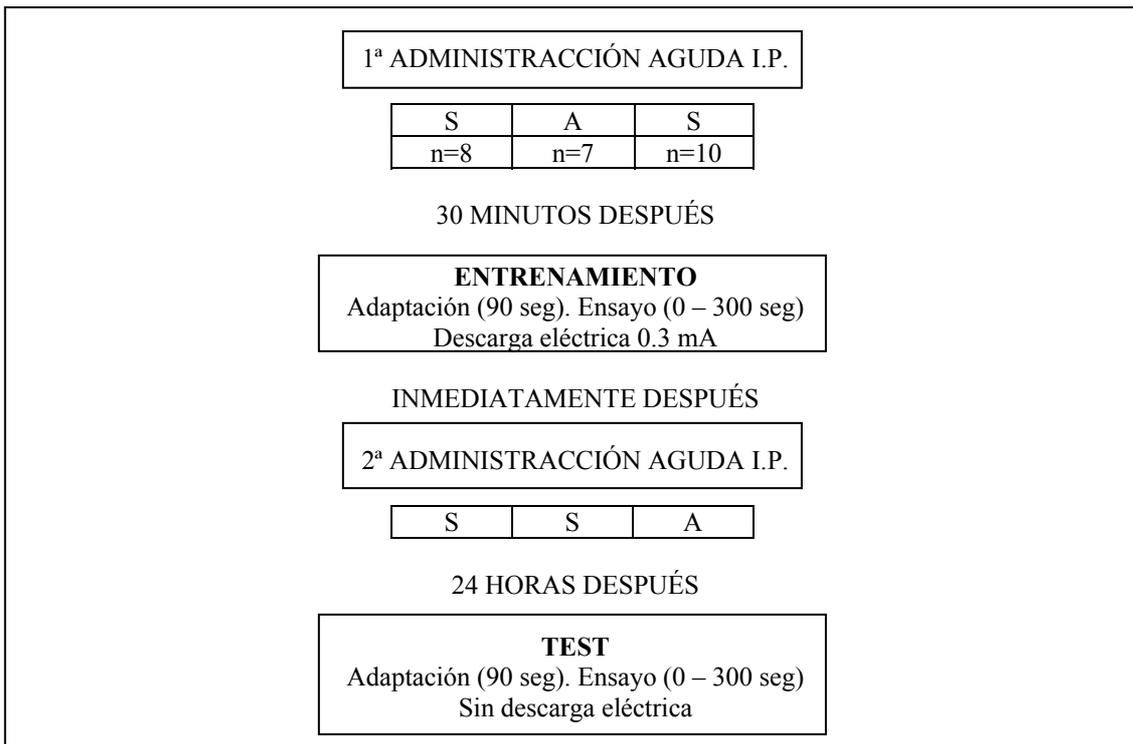


Figura 8.1. Diseño y procedimiento del Experimento 2. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A: 30 mg/kg de amitriptilina, n: número de sujetos por grupo.

8.2.6. Análisis estadístico

Como en el anterior experimento, se analizaron los datos utilizando el Análisis de Varianza. Posteriormente se usaron: (1) la prueba de Newman-Keuls, para comparaciones post-hoc entre tratamientos; y (2) la t de Student para realizar comparaciones entre entrenamiento y test dentro del mismo grupo. Utilizando también $p < 0.05$ como nivel mínimo de significación estadística (ver Apartado 7.2.6.).

8.3. RESULTADOS

Durante la fase de entrenamiento, la variable Tratamiento no alcanzó la significación estadística ($F_{2,22} = 1.40$, n.s.).

En el test, la variable Tratamiento, fue estadísticamente significativa ($F_{2,22} = 11.82$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en el caso AS versus SS ($p < 0.01$); donde dicho grupo presentó latencias menores que el grupo SS (ver Figura 8.2.).

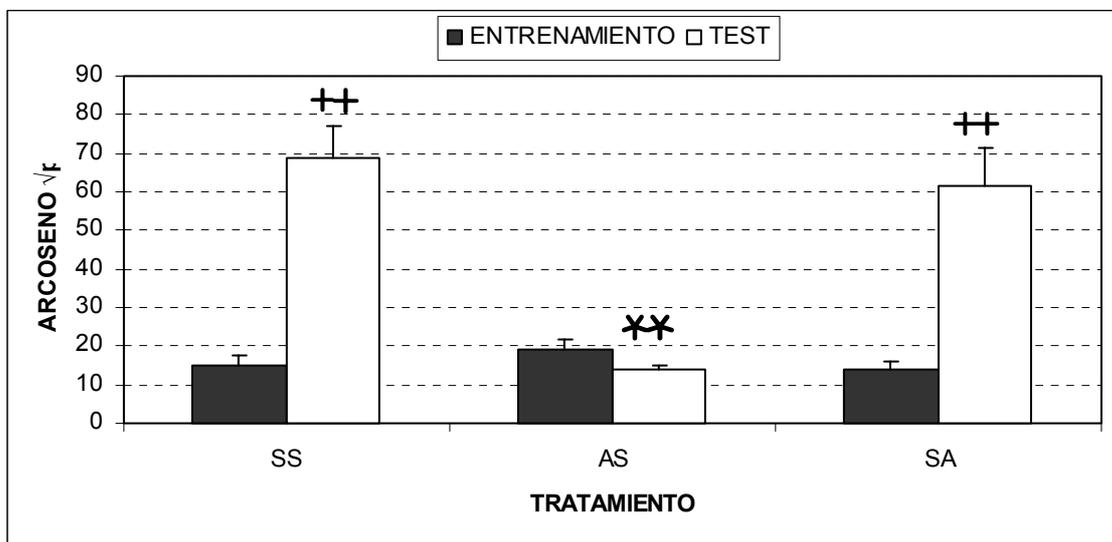


Figura 8.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, AS: 30 mg/kg de amitriptilina-salino y SA: salino-30 mg/kg de amitriptilina. ** $p < 0.01$ vs SS, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, fueron estadísticamente significativas con la *t* de Student en los grupos salino-salino (SS: $t_7 = 7.81$, $p < 0.01$) y salino-amitriptilina (SA: $t_9 = 5.19$, $p < 0.01$), siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento; pero no en el grupo amitriptilina-salino (AS: $t_6 = 1.84$, n.s.), donde dichas latencias en el test fueron menores que en el entrenamiento (ver Figura 8.2).

8.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el posible efecto sobre la adquisición y la consolidación de la memoria en una tarea de evitación inhibitoria, administrando 30 mg/kg de amitriptilina o suero fisiológico antes y después del entrenamiento en ratones machos.

Tras realizar el análisis estadístico de este experimento, hemos observado que el grupo al que se le administró amitriptilina y posteriormente salino (AS), presentó latencias de cruce similares en la fase de test con respecto a la de entrenamiento. Pero, esto no ocurrió cuando se administró salino antes y después del entrenamiento (SS), y también en el caso en el que se les dio salino y amitriptilina respectivamente (SA); siendo las latencias en la fase de test mucho más largas que en la fase de entrenamiento. Esto nos indica que los sujetos no pudieron adquirir la evitación inhibitoria, cuando el fármaco se administró preentrenamiento; aunque sí que hubo consolidación cuando la amitriptilina fue administrada postentrenamiento. De forma similar a la consolidación de memoria observada en el grupo control.

La administración de amitriptilina únicamente antes del entrenamiento deterioró la memoria en evitación inhibitoria al compararlo con su grupo control, donde estos resultados se ven reflejados en las latencias de test de la gráfica (ver Figura 8.2.).

Resultados similares también se han observado en trabajos como el de Shimizu-Sasamata y cols. (1993) hecho con ratas, y el de Takahashi y cols. (1995) en ratones. Sin embargo, nuestros resultados reflejan que no se han encontrado diferencias de tratamiento en el caso de administrar exclusivamente el fármaco después del entrenamiento (ver Figura 8.2.), coincidiendo estos resultados con los hallados en la literatura realizados con ratas, donde la administración del fármaco pretest no influyó en el recuerdo del aprendizaje de evitación inhibitoria (Klint, 1991).

Los resultados reflejan pues que la administración de amitriptilina antes del entrenamiento produce déficit en memoria. Este efecto puede ser debido a diferentes causas, y entre ellas podemos encontrar las siguientes:

- **Acción anticolinérgica:** este efecto ha sido observado en investigación en décadas anteriores, donde se ha visto el papel que juega el sistema colinérgico en el almacenamiento y retención de la información durante un nuevo aprendizaje (e.g. Deutsch, 1971), y actualmente se sigue corroborando dicha acción (e.g. Sein-Anand y cols., 2005), siendo una de las más importantes y destacadas en los procesos cognitivos. Es decir, dicho sistema de neurotransmisión juega un papel crucial en los procesos de aprendizaje y memoria (Singh y Parle, 2003).
 - **Disminución de la actividad motora:** se ha visto que este antidepresivo tiene acción hipoactiva en estudios realizados con ratas (e.g. Dziedzicka-Wasylewska y Rogoz, 1997), aunque esta disminución de la movilidad, también se ha observado en otros estudios (e.g. Brocco y cols., 2002; Takamori y cols., 2001). Por lo que, debemos deducir que la disminución de la actividad motora al administrar amitriptilina en sujetos experimentales, debe mejorar la ejecución de
-

la tarea en la fase de test. No obstante, no se observan diferencias en las latencias de entrenamiento, siendo estos resultados indicativos de que es admisible que no aparezcan diferencias en la actividad motora y menos probable que el efecto motor se observe en el test. Además, el efecto motor, también puede ser ocasionado por la implicación de otros sistemas de neurotransmisión, como por ejemplo es el caso del sistema dopaminérgico, ya que Cyr y cols. (2001) han mostrado que la administración crónica de amitriptilina disminuye los receptores D₁ y D₂ en el cerebro.

- Acción sedativa: la amitriptilina es un fármaco que produce sedación (Epstein y cols. 2003), ello puede conllevar mala ejecución en tareas de aprendizaje, como puede ser en una tarea de evitación inhibitoria, que es el caso del presente trabajo.

Por lo que, estos pueden ser algunos de los motivos por los cuales se han observado dichos resultados. De todos modos, en futuros experimentos utilizaremos diferentes dosis de este fármaco para así poder corroborar dicho efecto, usando dosis bajas, intermedias y altas. Además, se podría administrar junto con un agonista colinérgico para intentar contrarrestar su efecto anticolinérgico.

9. EFECTO AGUDO DE VARIAS DOSIS DE
AMITRIPTILINA PREENTRENAMIENTO EN LA
EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 3*)

9.1. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el experimento 2, donde la dosis de 30 mg/kg de amitriptilina administrada de manera aguda, ha producido un deterioro significativo sobre la adquisición de la memoria. Para este experimento, hemos seleccionado diversas dosis del mismo fármaco (5, 10 y 20 mg/kg); siendo la dosis más alta, inferior a la utilizada en el experimento anterior, debido a los efectos motores que ha provocado. De tal manera, parece ser que dichos efectos han ocasionado bajas experimentales, ya que es posible que sea debido a la inmovilidad que ha producido en los sujetos, y como consecuencia el no poder realizar la tarea de aprendizaje a la que se les ha sometido a los animales. Este efecto, de falta de movilidad, ocasionado al administrar dicho fármaco, junto con la sedación también se ha observado a lo largo de la literatura (Brocco y cols., 2002; Dzuedzuczj-Wasylewska y Rogoz, 1997; Epstein y cols., 2003; Sansone y cols., 1999). Es decir, se pretende observar que estas dosis que vamos a utilizar, también provoquen déficit cognitivo; pero queremos evitar dicho efecto de inmovilidad que provoca la dosis de 30 mg/kg de amitriptilina.

En este experimento se ha trabajado con ratones de ambos sexos. La decisión de utilizar no solo machos sino también hembras, se llevó a cabo, con el propósito de realizar comparaciones entre géneros en los efectos producidos por la amitriptilina en la memoria. Como señalan Parra y cols. (1999), en Psicofarmacología son las diferencias individuales en variables como la edad, el funcionamiento cardiovascular, el metabolismo hepático, etc.; las que se suelen tener en cuenta a la hora de realizar los estudios, y la diferencia de sexo podría ser una de ellas, ya que es importante conocer si un determinado fármaco tiene efectos diferentes en machos y en hembras. De hecho, otros estudios realizados en nuestro laboratorio han confirmado la conveniencia de incluir ambos sexos en el estudio de

los efectos de los fármacos antidepresivos sobre los procesos de aprendizaje y memoria (Arenas y cols., 2005; Everss y cols., 1999, 2005; Monleón y Parra, 1997; Monleón y cols., 1998, 2002; Parra y cols., 2002, 2006).

Por otra parte, al incluir hembras en el experimento nos pareció que la muestra resultante era más representativa de la naturaleza. Además, es muy importante tener en cuenta, que la prevalencia de la depresión es mayor en mujeres que en hombres, y también se conoce que determinados antidepresivos presentan una diferente eficacia, a la hora de reducir los síntomas depresivos, en función del género de los pacientes (Kronstein y cols., 2000; Martényi y cols., 2001). También, sería interesante intentar cerciorarnos, con más seguridad, si la amitriptilina afecta a los procesos de memoria de manera diferente en cada sexo, ya que éste efecto se ha observado en nuestro grupo de investigación con la administración de dicho antidepresivo (Arenas y cols., 2005; Everss y cols., 2005; Parra y cols., 2002, 2006).

9.2. MATERIAL Y MÉTODOS

9.2.1. Sujetos

Se usaron un total de 120 ratones (60 machos y 60 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia) al principio del experimento, y en el transcurso del mismo eliminando 4 de ellos por baja experimental. A su llegada al Laboratorio de Psicobiología se alojaron bajo las condiciones descritas en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.1.).

9.2.2. Fármaco

El fármaco utilizado fue clorhidrato de amitriptilina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), al igual que en los experimentos anteriores (Experimentos 1 y 2) y ha sido preparado como se detalla en el primer experimento (ver Apartado 7.2.2.). Dicho fármaco fue administrado i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal. Siendo las dosis usadas de 5, 10 y 20 mg/kg.

9.2.3. Aparatos

En este experimento se volvió a utilizar la caja de evitación inhibitoria y la caja de aislamiento, ya descritas con anterioridad en el Experimento 1 en el Apartado 7.2.3. de esta tesis doctoral.

9.2.4. Diseño experimental

Los ratones se distribuyeron al azar en 4 grupos por cada sexo. Todos los grupos recibieron 30 minutos antes del entrenamiento: suero fisiológico (S), 5 mg/kg de amitriptilina (A5), 10 mg/kg de amitriptilina (A10) y 20 mg/kg de amitriptilina (A20); siendo siempre el grupo control para todos los grupos tratados con fármaco, aquel al que se le administra suero fisiológico.

9.2.5. Procedimiento

El procedimiento seguido fue el mismo que el realizado en el Experimento 1. De manera resumida, se situó a cada animal en el lado iluminado de la caja de evitación inhibitoria y se le permitió que explorara sólo ese lado durante 90 segundos. Pasados estos segundos se procedió al entrenamiento en evitación inhibitoria, en el cual el animal tenía hasta 300 segundos para cruzar al lado oscuro, porque de lo contrario era

descartado del experimento. Si cruzaba recibía una descarga eléctrica de 0.3 mA durante 5 segundos, y transcurridas 24 horas pasaron por el test de evitación inhibitoria, registrándose las latencias de cruce (ver Figura 9.1.).

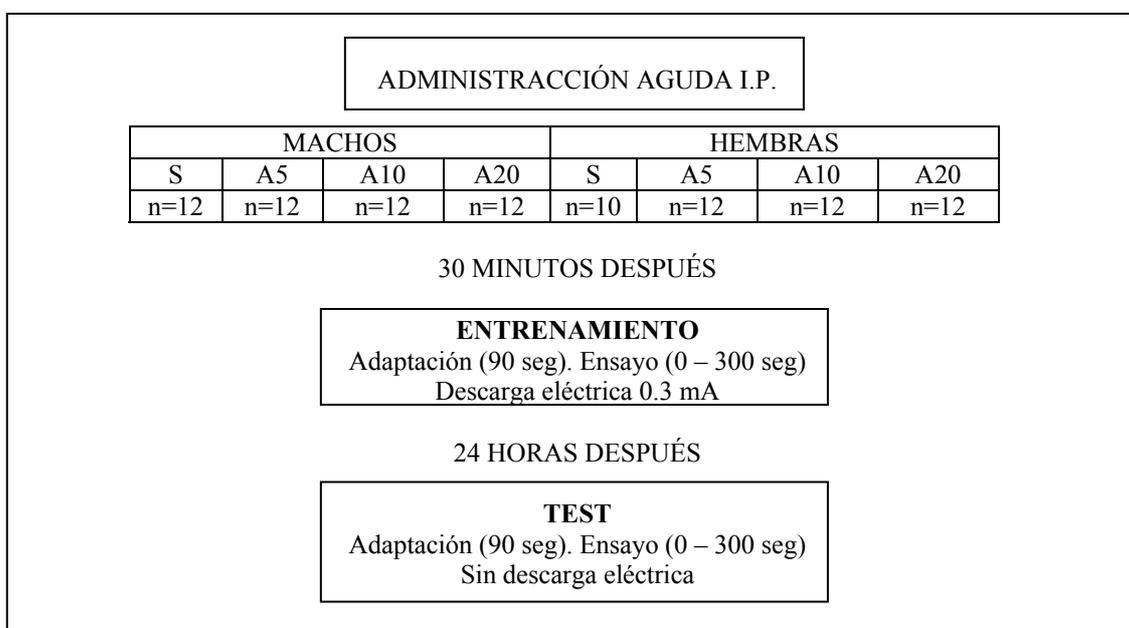


Figura 9.1. Diseño y procedimiento del Experimento 3. I.P.: Intraperitoneal, S: Salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina, n: número de sujetos por grupo.

9.2.6. Análisis estadístico

Previamente al realizar el análisis estadístico, los datos se transformaron de la misma manera que en experimentos anteriores, realizando después un Análisis de Varianza. Posteriormente se hicieron comparaciones entre tratamientos mediante la prueba post-hoc de Newman-Keuls. Además, para las comparaciones entre

entrenamiento y test se utilizó la t de Student en el test para muestras dependientes (ver Apartado 7.2.6.).

9.3. RESULTADOS

Durante la fase de entrenamiento, la variable Tratamiento no alcanzó la significación estadística ($F_{3,86} = 2.57$, n.s.). Aunque, en el test, la variable Tratamiento, sí que fue estadísticamente significativa ($F_{3,86} = 27.51$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los casos: A5, A10 y A20 versus S ($p < 0.01$); donde dichos grupos presentaron latencias menores que el grupo S (ver Figura 9.2.).

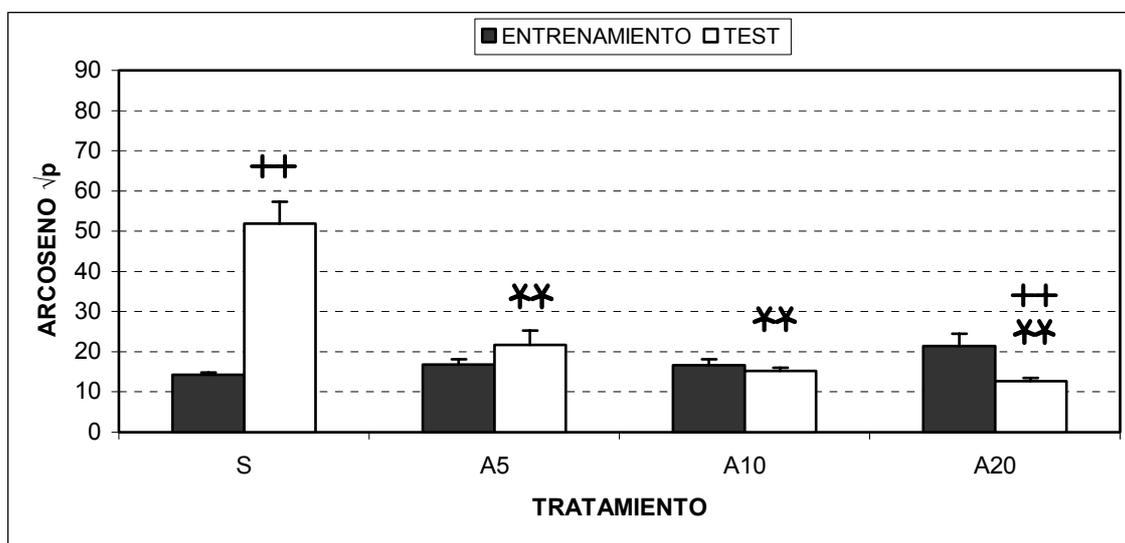


Figura 9.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento de S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina. ** $p < 0.01$ vs S, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado en machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en los machos con $F_{3,42} = 12.51$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5, A10 y A20 versus S ($p < 0.01$) (ver Figura 9.3.). También, los resultados indicaron que el Tratamiento alcanzó la significación estadística en la fase de test en las hembras con $F_{3,42} = 16.06$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5, A10 y A20 versus S ($p < 0.01$) (ver Figura 9.4). Pero, no han aparecido diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test, con $F_{1,86} = 0.57$, n.s. (ver Figura 9.5.).

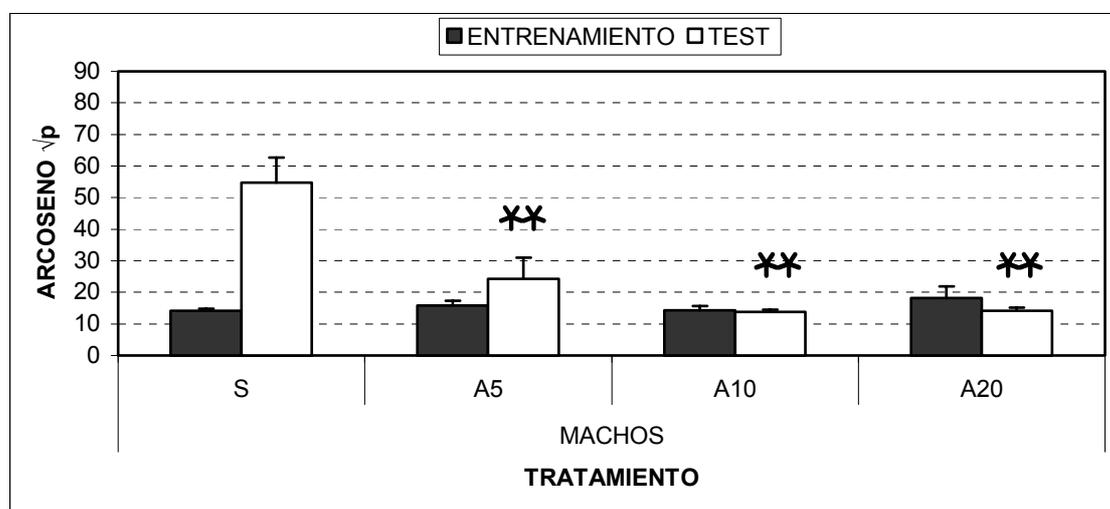


Figura 9.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento de S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina. ** $p < 0.01$ vs S.

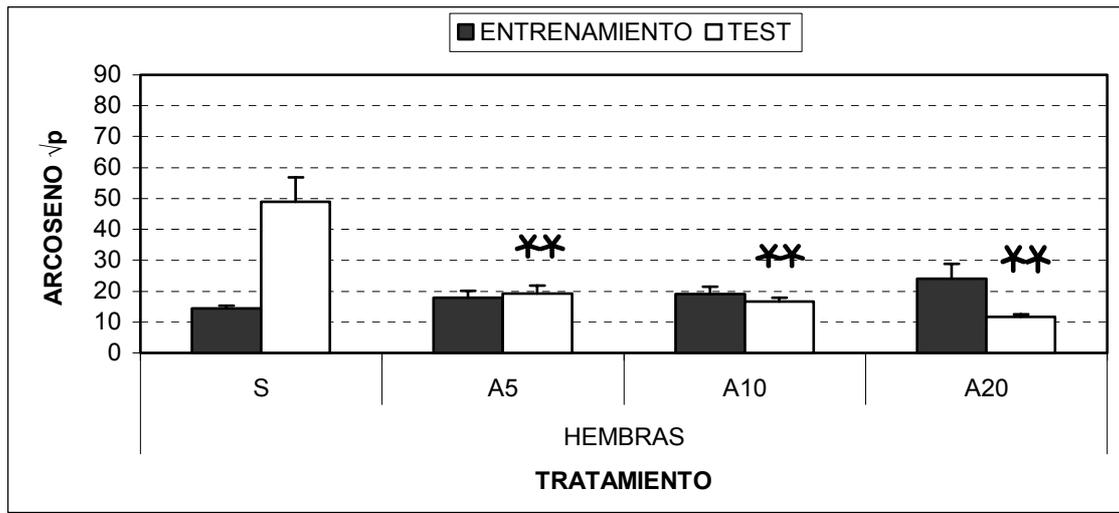


Figura 9.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento de S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina. ** $p < 0.01$ vs S.

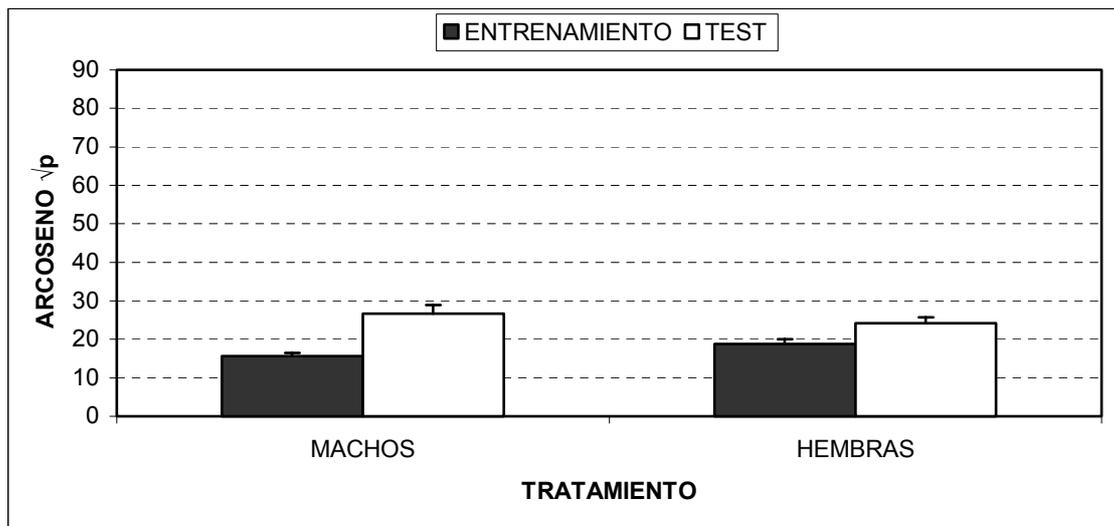


Figura 9.5. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento de S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la *t* de Student en el grupo control y en el tratado con la dosis alta de amitriptilina (S: $t_{23} = 6.86$, $p < 0.01$ y A20: $t_{21} = 2.67$, $p < 0.01$); siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento en el grupo S, excepto en el grupo A20 que fue en sentido contrario (las latencias de test fueron inferiores que en el entrenamiento) (ver Figura 9.2).

Al realizar dicho análisis en cada sexo por separado, las comparaciones fueron estadísticamente significativas en machos solo en el grupo S ($t_{11} = 5.08$, $p < 0.01$); y en hembras: S ($t_{11} = 4.46$, $p < 0.01$) y A20 ($t_{11} = 2.53$, $p < 0.05$), donde este último grupo de hembras (A20) las latencias de test fueron inferiores que en el entrenamiento (ver Figura 9.6.).

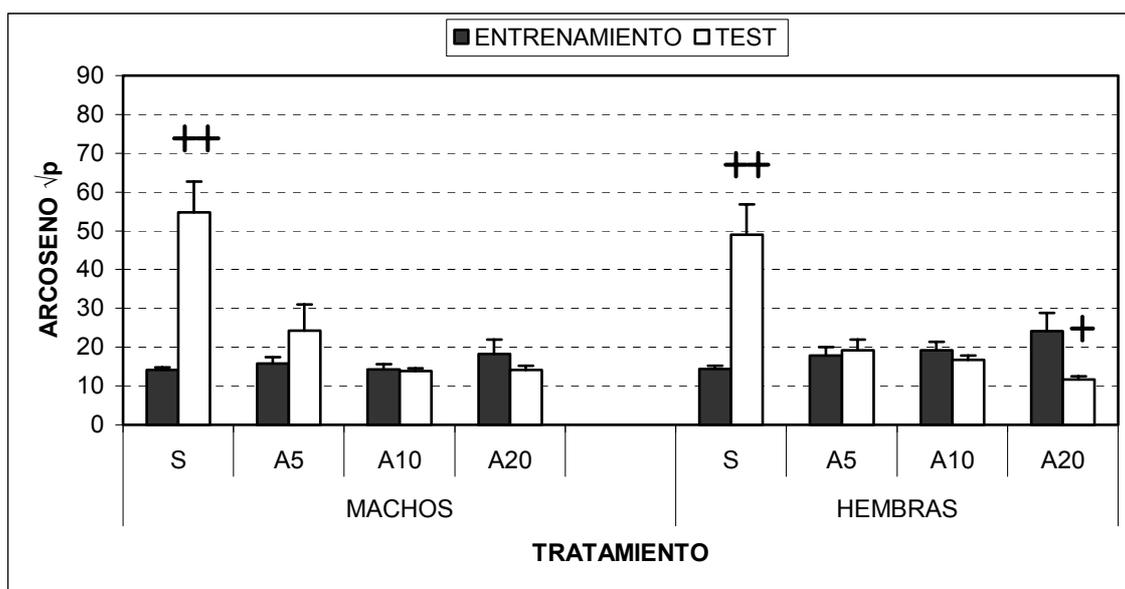


Figura 9.6. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento de S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y A20: 20 mg/kg de amitriptilina. + $p < 0.05$ y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

9.4. DISCUSIÓN

En este experimento de la presente tesis doctoral, se ha estudiado el efecto amnésico de tres dosis de amitriptilina (5, 10 y 20 mg/kg) administradas de manera aguda antes del entrenamiento en el condicionamiento de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

La administración de 5, 10 y 20 mg/kg de amitriptilina 30 minutos antes del entrenamiento, impidió la adquisición de la memoria en todos los machos tratados y en todas las hembras, siendo en ellas el deterioro aún mayor en la dosis más alta. Es decir, las latencias de test no se incrementaron con respecto a las del entrenamiento, incluso las del grupo de hembras con 20 mg/kg fueron inferiores en el test al ser comparadas con su respectivo entrenamiento (ver Figura 9.6.). Sin embargo, los grupos controles mostraron un claro aprendizaje de evitación inhibitoria en ambos sexos.

Los fármacos que tienen, por ejemplo, una gran acción anticolinérgica dañan el aprendizaje en muchas tareas con animales (e.g. Bammer, 1982), y también en experimentos realizados con humanos (e.g. Amado-Boccaro y cols., 1995; Riedel y van Praag, 1995). La amitriptilina es un antidepresivo tricíclico que tiene una gran carga anticolinérgica y sedativa (Richelson, 1995) e interfiere también en muchos de los tests empleados en la población humana (Thompson, 1991; Amado-Boccaro y cols., 1995). Estos resultados son similares a los de otros trabajos encontrados con procedimientos que miden la adquisición de la memoria, como es el caso de Pavone y cols. (1997), donde se ha mostrado que la administración de este fármaco preentrenamiento en evitación inhibitoria de manera aguda, parece provocar deterioro en la memoria; y ocurre de igual forma en evitación activa (Sansone y cols., 1999). Además, similares resultados también se han encontrado con diferentes antidepresivos; como por ejemplo,

la administración aguda antes del entrenamiento con fenfluramina y fluoxetina en evitación activa (McElroy y cols., 1982), con citalopram y fluoxetina (Archer y cols., 1984), con maprotilina en evitación inhibitoria (Parra y cols., 2000). Pero, también existen estudios que nos dicen que la amitriptilina deteriora la consolidación de la memoria en ratas (e.g. Shimizu-Sasamata y cols., 1993) y ratones (e.g. Everss y cols., 1999), no solo la adquisición como es nuestro caso, mientras hay otros que difieren de dicho déficit (e.g. Klint, 1991).

Sin embargo, es interesante mencionar, que la amitriptilina administrada crónicamente antes de entrenamiento no tubo efecto sobre la adquisición y atenuó la amnesia inducida cuando previamente se ha dañado el cerebro en ratas (Takeuchi y cols., 1997). Yau y cols. (2002) comprobaron que su administración durante 8 meses atenuó el deterioro del aprendizaje espacial en ratas viejas. Estos resultados, pueden sugerirnos afirmar que cuando se administra un fármaco de forma aguda (que es nuestro caso) o crónica actúa de diversa forma en los mecanismos cerebrales; implicando que la acción de la amitriptilina sobre la memoria puede ser totalmente diferente dependiendo del tipo de administración. El tratamiento crónico del antidepresivo ha podido modificar molecular y estructuralmente el cerebro de los animales. Dicha administración continuada se asemeja con la práctica clínica, en la que son necesarias de dos a tres semanas para observar el efecto terapéutico de los antidepresivos (Feighner, 1999).

Con respecto a las dosis utilizadas, hay que tener en cuenta que se han elegido dosis inferiores a la usada en los Experimentos 1 y 2 (30 mg/kg) por un motivo fundamental, que es su efecto sobre la actividad motora; es decir, parece ser que este fármaco afecta al sistema locomotor (Dzuedzucj-Wasylewska y Rogoz, 1997; Brocco y cols., 2002), por lo que hemos creído conveniente reducir la dosis para que los movimientos de los sujetos no se vean disminuidos significativamente.

La ausencia de diferencias de sexo encontradas en este experimento, puede ser debida a diversas razones. Una de ellas, entre otras, sería si pensamos que entre machos y hembras se rigen diferentes mecanismos cerebrales. Es decir, desconocemos aún cual es el funcionamiento y la organización de nuestro cerebro cuando hablamos de machos y hembras, tanto a nivel anatómico, como hormonal, genético, etc. Sin embargo, sí que sabemos algunas de las diferencias que existen entre ambos sexos, si tenemos en cuenta diversos ámbitos, como por ejemplo, a nivel neuronal, de metabolización de los fármacos, etc. (Kelly y cols., 1999; Palanza, 2001; Segovia y cols., 1999; Yonkers y cols., 1992). Además, un fármaco puede actuar de diferente forma cuando se administra a sujetos machos o hembras, si observamos cómo influye la farmacocinética y farmacodinámica; y como es lógico, este efecto también aparece cuando se usan fármacos antidepresivos en el trastorno de la depresión (Abdel-Rahman y Kauffman, 2004; Frackiewicz y cols., 2000; Gandhi y cols., 2004). Sin embargo, sigue siendo un misterio el funcionamiento del cerebro, no solo en general, sino aún más cuando hablamos de diferencias de sexo.

10. EFECTO AGUDO DE VARIAS DOSIS DE
OXOTREMORINA POSTENTRENAMIENTO EN
LA EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 4*)

10.1. INTRODUCCIÓN

El deterioro cognitivo es un rasgo que se ha de tener muy en cuenta en el tratamiento de la depresión de pacientes ancianos. Aunque este declive es una característica propia de la vejez, desde hace mucho tiempo se están investigando sustancias que alivien dichos síntomas, y aún más si estos deterioros van acompañados de enfermedades propias de la vejez, como es por ejemplo la enfermedad de Alzheimer. Esta patología se asocia con unos niveles bajos de acetilcolina, que como sabemos es un importante neurotransmisor o mensajero químico que transmite las señales entre las neuronas cerebrales (e.g. Almeida, 1998). La acetilcolina forma parte del sistema colinérgico, fundamental para la memoria y el aprendizaje (Delgado y cols., 1998), y este sistema es progresivamente destruido en los pacientes con enfermedad de Alzheimer.

La mayoría de los fármacos utilizados actualmente o en fase de desarrollo para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer tienen como objetivo enlentecer la progresión de la enfermedad, pero hasta ahora no existe un tratamiento que sea curativo. Algunos de estos fármacos que protegen el sistema colinérgico actúan sobre la enzima que degrada la acetilcolina, llamada colinesterasa (e.g. Almeida, 1998; Hernández-Hernández, 1995; Ladner y Lee, 1999). Uno de esos fármacos que actúa sobre el sistema colinérgico, es la oxotremorina (Delgado y cols., 1998), que también se utiliza para combatir dicha enfermedad. Por ello, quisimos saber los efectos de este agonista colinérgico muscarínico que actúa como facilitador de la cognición, en el condicionamiento de evitación inhibitoria (Baratti y cols., 1983; Baratti y Kopf, 1996; Huygens y cols., 1980; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a); para así, en próximos experimentos, poder coadministrarlo con la amitriptilina (antidepresivo

tricíclico que deteriora la memoria) y evaluar la presunta acción contrarrestante de la oxotremorina sobre la acción de dicho antidepresivo.

Con motivo de lo mencionado con anterioridad en este punto, se quiso estudiar el efecto de la administración aguda de tres dosis de oxotremorina (0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg) sobre la consolidación de la evitación inhibitoria. Estas dosis han sido seleccionadas basándonos en la literatura (Baratti y cols., 1979; Baratti y Kopf, 1996; Diaz-Veliz y cols., 1995; Doyle y Regan, 1993; Gralewicz, 2002; Laborit y Zerbib, 1989; Li y cols., 2001; Puolivali y cols., 1998), pero las dosis elegidas no han sido ni de las más bajas encontradas ni de las más altas, ya que se ha visto que se han utilizado dosis inferiores a las usadas, como por ejemplo: 0.01 mg/kg (Iga y cols., 1996), 0.02 mg/kg (Baratti y Kopf, 1996; Castellano y cols., 1999), 0.03 mg/kg (Marks y cols., 1981; Puolivali y cols., 1998), 0.1 mg/kg (Badiani y cols., 1991; Mohamed y cols., 2000); y superiores: 0.5 mg/kg (Baratti y cols., 1979; Gralewicz, 2002), 1.0 mg/kg (Iga y cols., 1996). La administración se hizo postentrenamiento, ya que es uno de los procedimientos más utilizados con este fármaco en concreto (Baratti y cols., 1983; Baratti y Kopf, 1996; Barros y cols., 2004; Huygens y cols., 1980; Mohamed y cols., 2000; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a; Schroeder y Packard, 2004), y así poder evaluar en futuros experimentos de esta tesis doctoral, la preadministración de amitriptilina y la postadministración de oxotremorina dentro del mismo grupo experimental; es decir, evaluar la coadministración de ambos fármacos, observando si la oxotremorina revierte el deterioro en la memoria que ocasiona la amitriptilina.

10.2. MATERIAL Y MÉTODOS

10.2.1. Sujetos

Se usaron un total de 112 ratones (56 machos y 56 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia). A su llegada a nuestro laboratorio se alojaron en grupos de 5 animales bajo las mismas condiciones que las descritas en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.1.).

10.2.2. Fármaco

El fármaco utilizado fue sesquifumarato de oxotremorina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), preparado en las mismas condiciones como se detalla en el primer experimento que se trabajó con clorhidrato de amitriptilina (ver Apartado 7.2.2.). El fármaco fue administrado i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal de forma aguda. Siendo las dosis utilizadas de 0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg.

10.2.3. Aparatos

La caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento utilizadas, ya han sido descritas a priori en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.).

10.2.4 Diseño experimental

Los ratones fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos por cada sexo. Cada grupo tuvo de manera aguda su administración por vía intraperitoneal inmediatamente después del entrenamiento, siendo dichos grupos los siguientes: suero fisiológico (S), 0.05 mg/kg de oxotremorina (O1), 0.1 mg/kg de oxotremorina (O2) y 0.2 mg/kg de oxotremorina (O3).

10.2.5. Procedimiento

El procedimiento seguido fue el mismo que el realizado en el Experimento 1. De manera escueta, se deja a cada animal en el lado iluminado de la caja de evitación inhibitoria explorando durante un periodo de adaptación de 90 segundos, y pasados esos segundos se procedió al entrenamiento en evitación inhibitoria; en el cual el animal disponía de hasta 300 segundos para cruzar al lado oscuro. Si cruzaba recibía una descarga eléctrica de 0.3 mA durante 5 segundos e inmediatamente después se le administraba el tratamiento asignado, y transcurridas 24 horas pasaba por el test de evitación inhibitoria sin recibir descarga eléctrica, registrándose las latencias de cruce (ver Figura 10.1).

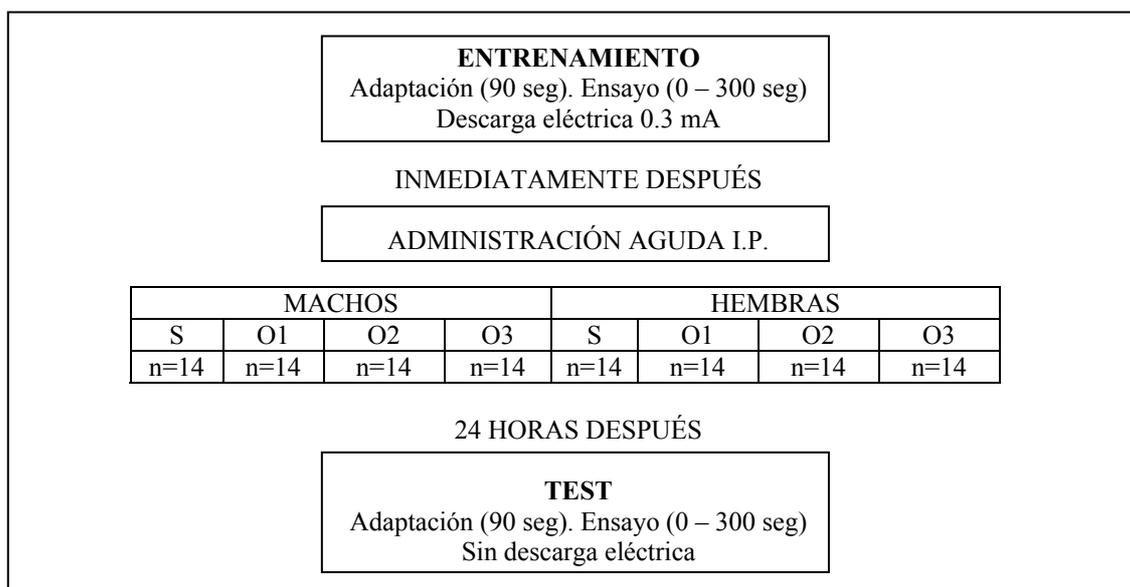


Figura 10.1 Diseño y procedimiento del Experimento 4. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, O1: 0.05 mg/kg de oxotremorina, O2: 0.1 mg/kg de oxotremorina y O3: 0.2 mg/kg de oxotremorina, n: número de sujetos por grupo.

10.2.6. Análisis estadístico

Se analizaron los datos de los grupos tratados con las tres dosis de fármaco mediante ANOVA. Es decir, los datos fueron evaluados utilizando la misma estadística paramétrica y los mismos análisis que los que se emplearon en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.6.).

10.3. RESULTADOS

La variable Tratamiento no alcanzó el nivel de significación estadística, tanto en la fase de entrenamiento como en la de test, al realizar el ANOVA (ver Figuras 10.2., 10.3. y 10.4.). Sin embargo, sí se han encontrado diferencias globales estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test, con $F_{1,104} = 11.83$, $p < 0.01$; presentando las hembras latencias mayores que los machos (ver Figura 10.5).

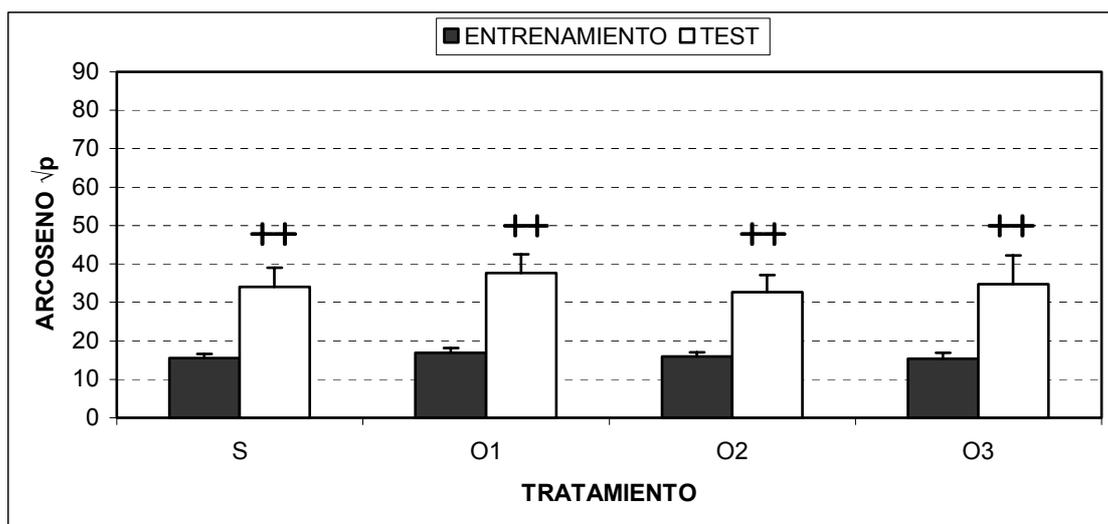


Figura 10.2. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino, O1: 0.05 mg/kg de oxotremorina, O2: 0.1 mg/kg de oxotremorina y O3: 0.2 mg/kg de oxotremorina. ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

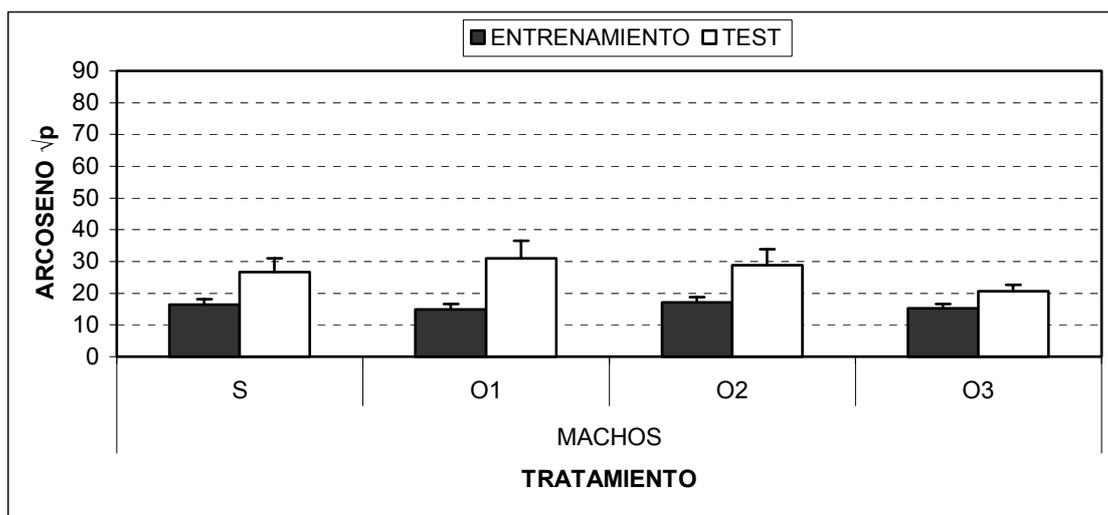


Figura 10.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino, O1: 0.05 mg/kg de oxotremorina, O2: 0.1 mg/kg de oxotremorina y O3: 0.2 mg/kg de oxotremorina.

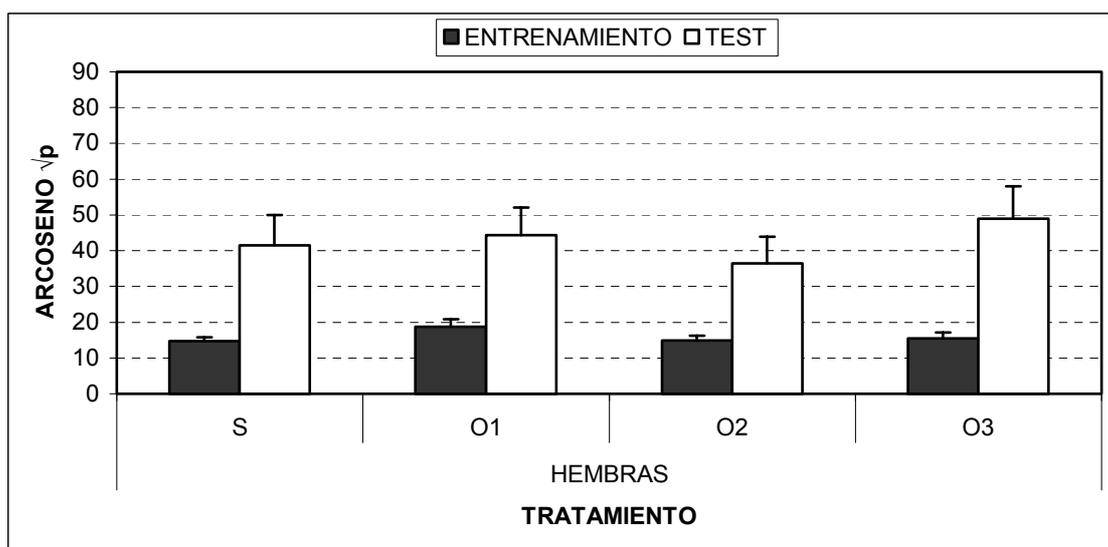


Figura 10.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino, O1: 0.05 mg/kg de oxotremorina, O2: 0.1 mg/kg de oxotremorina y O3: 0.2 mg/kg de oxotremorina.

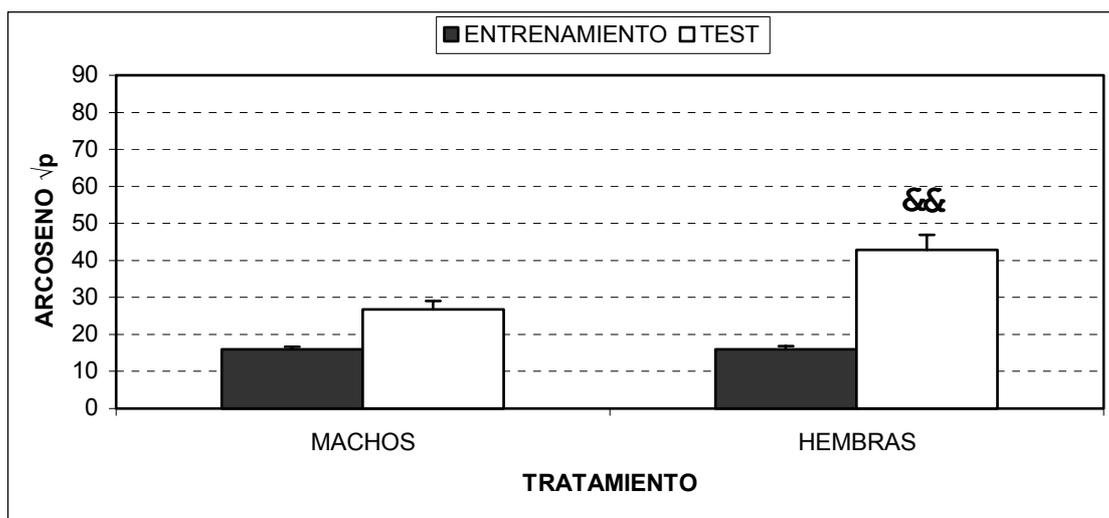


Figura 10.5. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino, 0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg de oxotremorina. && $p < 0.01$ vs machos.

Además, las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la *t* de Student en todos los tratamientos (S: $t_{27} = 3.72$, $p < 0.01$; O1: $t_{27} = 4.54$, $p < 0.01$; O2: $t_{27} = 3.45$, $p < 0.01$ y O3: $t_{27} = 3.65$, $p < 0.01$); siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento (ver Figura 10.2).

Al realizar dicho análisis en cada sexo por separado, las comparaciones también alcanzaron el nivel de significación estadística en todos los grupos de machos (S: $t_{13} = 2.19$, $p < 0.05$; O1: $t_{13} = 3.34$, $p < 0.01$; O2: $t_{13} = 2.14$, $p \leq 0.05$ y O3: $t_{13} = 2.23$, $p < 0.05$) y de hembras (S: $t_{13} = 3.18$, $p < 0.01$; O1: $t_{13} = 3.29$, $p < 0.01$; O2: $t_{13} = 2.71$, $p < 0.05$ y O3: $t_{13} = 3.71$, $p < 0.01$) (ver Figura 10.6.).

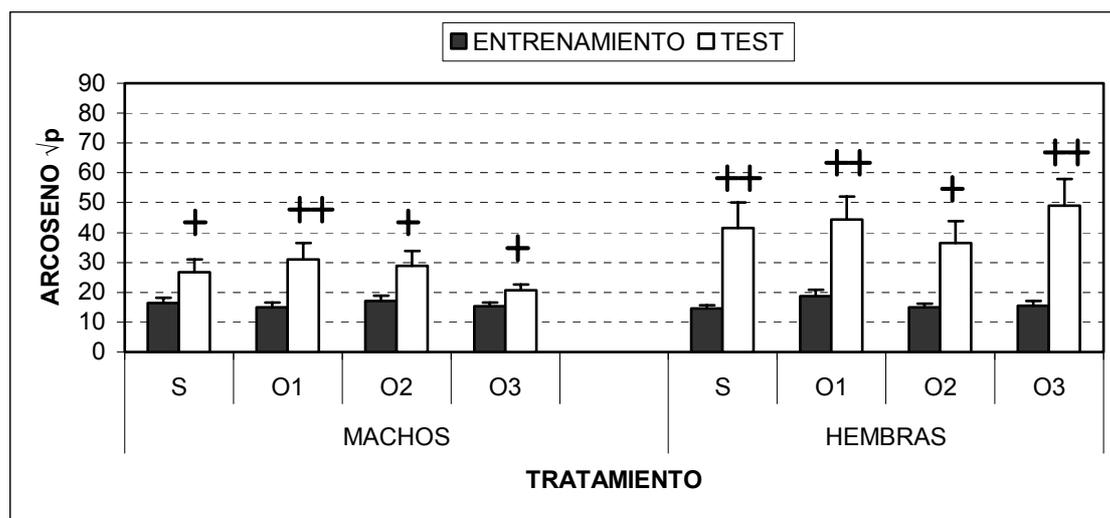


Figura 10.6. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Postentrenamiento de S: salino, O1: 0.05 mg/kg de oxotremorina, O2: 0.1 mg/kg de oxotremorina y O3: 0.2 mg/kg de oxotremorina. + $p < 0.05$ y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

10.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el posible aprendizaje en el condicionamiento de evitación inhibitoria, al administrar de manera aguda oxotremorina con las dosis de 0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg después del entrenamiento, tanto en ratones machos como hembras.

No se han encontrado efectos del tratamiento en ningún grupo experimental. Sin embargo, nos atrevemos a decir que a pesar de no encontrar diferencias significativas en el test, al comparar el tratamiento con su respectivo grupo control en algunos grupos, los resultados apuntan o hay una tendencia a un efecto favorable de la oxotremorina en la memoria; debido a que las latencias de cruce de machos y hembras tratadas, sobre

todo, con la dosis baja de fármaco en la fase de test, son algo mayores a las de su grupo control (ver Figuras 10.3. y 10.4.). Además, esta ausencia de efecto de este fármaco se ha visto reflejada en la literatura, ya que en ocasiones el fármaco ni ha mejorado ni ha deteriorado la memoria (Barros y cols., 2004; Doyle y Regan, 1993).

Con respecto a los resultados obtenidos al comparar sujetos de diferente sexo, no se han encontrado estudios que hayan trabajado con este fármaco en aprendizaje y memoria en animales machos y hembras; sólo se han visto experimentos como por ejemplo: (1) aquellos que trabajan con ratas hembras midiendo la adquisición en el condicionamiento de evitación, teniendo en cuenta su ciclo estral (e.g. Díaz-Vélez y cols., 1994), (2) los que han comparado ambos sexos teniendo en cuenta el control urinario provocado por el estrés (e.g. Choppin, 2002), y (3) aquellos que observan las diferencias entre machos y hembras encontrados en los mecanismos cerebrales de analgesia (e.g. Blednov y cols., 2003). En este experimento, sí que hemos encontrado diferencias de sexo globales, ya que los datos muestran que los machos presentan unas latencias de respuesta más cortas que las hembras en la fase de test. Estas diferencias de sexo se pueden deber al diferente metabolismo hepático para diversas sustancias que presentan los ratones: las hembras poseen un metabolismo hepático más alto que el de los machos; es decir, metabolizan con mayor rapidez diversos fármacos en el hígado (Shapiro y cols., 1995). Esta diferente metabolización, podría dejar menos cantidad de fármaco disponible para actuar sobre los receptores cerebrales (Shapiro y cols., 1995). Además, pese a que no hayan aparecido diferencias de sexo en los otros dos grupos tratados con las dosis baja e intermedia de oxotremorina, parece ser que todas las hembras tienen unas latencias de cruce más altas que los machos aunque no significativamente; indicándonos que hay una tendencia a ejecutar mejor la tarea de aprendizaje en evitación inhibitoria.

En cuanto a la comparación entre la fase de entrenamiento y de test, se observaron diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos; es decir, se obtuvo evitación inhibitoria en todos ellos. En la fase de test, las latencias de cruce son mayores con respecto a las de la fase de entrenamiento, lo que refleja que todos los grupos, tanto de machos como de hembras, realizan bien la tarea de aprendizaje a la que les hemos sometido; indicando que se ha producido consolidación de la memoria.

Un factor a tener en cuenta con respecto a que los sujetos experimentales realizar mejor o peor esta tarea de aprendizaje y memoria, podría ser la actividad locomotora. Se ha mostrado en diferentes trabajos encontrados, que la oxotremorina es un fármaco que activa el sistema motor (e.g. Chintoh y cols., 2003; Díaz-Vélez y cols., 1995; Egashira y cols., 2003). Es decir, deduciríamos que esta hiperactividad puede empeorar la ejecución del condicionamiento de evitación inhibitoria, ya que al cruzar antes las latencias de cruce en la fase de test son más cortas; todo ello suponiendo que el efecto motor se mantuviera hasta dicha fase. Además, esta teoría lleva la misma línea que la observada en el trabajo de Ribeiro y cols. (1999): estudiaron la conducta de ratas en el laberinto elevado en cruz sin administrar ningún fármaco, y después sometieron a los mismos animales al condicionamiento de evitación inhibitoria y al de evitación activa. Observaron que los que habían mostrado mayores niveles de ansiedad y actividad en el laberinto elevado en cruz (es decir, que evitaron permanecer en los brazos abiertos o cruzar a ellos) eran los que obtenían mejores latencias en la evitación inhibitoria que los controles sin que tales diferencias se debieran a la actividad que era similar en todos los grupos.

El aprendizaje encontrado en todos los grupos al realizar comparaciones entre entrenamiento y test dentro de la misma condición farmacológica, y la tendencia a favorecer la memoria observada al comparar los grupos tratados con las tres dosis de

oxotremorina con su respectivo grupo control están respaldados en la literatura, ya que hay numerosos estudios que nos muestran que la oxotremorina favorece la consolidación y la retención cuando es administrada postentrenamiento (Baratti y cols., 1983; Baratti y Kopf, 1996; Huygens y cols., 1980; Miranda y McGaugh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a).

Teniendo presente lo expuesto hasta el momento, diremos que basándonos en el posible efecto beneficioso que puede tener este fármaco sobre la memoria, hipotetizaremos para el próximo experimento: que la administración preentrenamiento de amitriptilina deteriora la memoria y disminuye la actividad motora, y la administración postentrenamiento de oxotremorina favorece la consolidación y aumenta la movilidad, junto con la coadministración de ambos fármacos evaluaremos si la oxotremorina contraresta el efecto deteriorante que produce la amitriptilina.

11. EFECTO AGUDO DE VARIAS DOSIS DE
AMITRIPTILINA (5, 10 y 15 mg/kg)
PREENTRENAMIENTO Y OXOTREMORINA
(0.05 mg/kg) POSTENTRENAMIENTO EN LA
EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 5*)

11.1. INTRODUCCIÓN

Un fármaco puede ser administrado en diferentes momentos (antes o después del entrenamiento/test) del procedimiento experimental (Abel y Lattal, 2001; Carey y cols., 2001; Caldarone y cols., 2003; Gralewicz, 2002; Miranda y McGaugh, 2004), pero la administración postentrenamiento es una de las más empleadas en farmacología de la memoria (Eidi y cols., 2003; Everss y cols., 2005; Ferreira y cols., 2003; Parra y cols., 2002). De esta forma se puede evaluar principalmente la consolidación, mientras que en otros momentos de administración, la acción del fármaco recae más sobre los procesos de memoria (adquisición, recuerdo, etc.).

En el experimento 2 de esta tesis doctoral, hemos observado que la administración aguda preentrenamiento de amitriptilina produjo deterioro en la adquisición de la memoria en ratones machos. Por este motivo, afirmamos que existen efectos amnésicos al administrar este fármaco, ya que en estudios previos a este trabajo, se han encontrado en nuestro grupo de investigación déficits de memoria en ratones de ambos sexos (e.g. Everss y cols., 1999; Parra y cols., 2002). Debido a dichos trabajos de investigación realizados previamente, en este experimento queremos ver si este efecto se vuelve a producir en otros estadios de memoria; y también así poder estudiar si existen posibles diferencias de sexo, al administrar dicho antidepresivo tanto a machos como a hembras. Además, se trabajará con administración postentrenamiento de oxotremorina, para así hipotetizar si este fármaco, que es un agonista colinérgico muscarínico (Artigas, 1998), contrarresta el deterioro ocasionado por la amitriptilina.

Se ha decidido administrar la oxotremorina después del entrenamiento y posteriormente a la amitriptilina, para así contrarrestar el efecto que ocasiona el antidepresivo. Es decir, la amitriptilina administrada 30 minutos antes del entrenamiento ya ha causado efecto en el organismo del ratón (Coudore y cols., 1994) cuando esta ejecutando dicha tarea, y así pretendemos observar si la administración inmediatamente después del entrenamiento de oxotremorina, puede deshacer el deterioro que ocasiona la amitriptilina. El procedimiento se ha elegido basándose en la literatura, ya que se han encontrado estudios que nos dicen que al suministrar preentrenamiento fármacos que provocan déficit, la administración de oxotremorina postentrenamiento, ha contrarrestado dicho efecto deteriorante ocasionado de manera previa; como por ejemplo, es el caso de dar preentrenamiento escopolamina (Mohamed y cols., 2000) o morfina (Li y cols., 2001).

Resumiendo, en el presente experimento se quiso investigar el efecto de la administración aguda preentrenamiento de amitriptilina sobre la administración postentrenamiento de oxotremorina en evitación inhibitoria. Como este antidepresivo deteriora la memoria en evitación inhibitoria, efecto observado por ejemplo, en experimentos previos de esta tesis (Experimentos 2 y 3). Además de en estos estudios, en el mismo experimento se quiso averiguar si se producía una mejora de esos grupos cuando posteriormente se administraba oxotremorina; que es un fármaco que facilita la memoria (Baratti y cols., 1983; Huygens y cols., 1980; Mohamed y cols., 2000; Pavone y cols., 1993; Schroeder y Packard, 2004).

11.2. MATERIAL Y MÉTODOS

11.2.1. Sujetos

Se usaron un total de 192 ratones (96 machos y 96 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia) al principio del experimento, eliminando 8 machos y 8 hembras de todos ellos por baja experimental. A su llegada al Laboratorio de Psicobiología se alojaron bajo las condiciones descritas en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.1.).

11.2.2. Fármacos

Los fármacos utilizados fueron clorhidrato de amitriptilina y sesquifumarato de oxotremorina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), preparados como se detalla en el primer experimento (ver Apartado 7.2.2.). Los fármacos fueron administrados i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal. Siendo las dosis usadas de 5, 10 y 15 mg/kg de amitriptilina y 0.05 mg/kg de oxotremorina.

11.2.3. Aparatos

En este experimento se volvió a utilizar la caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento, ya descritas con anterioridad en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.) de esta tesis doctoral.

11.2.4. Diseño experimental

Los ratones se distribuyeron al azar en 8 grupos por cada sexo. Los ocho grupos recibieron 30 minutos antes del entrenamiento su administración correspondiente por vía intraperitoneal de forma aguda: suero fisiológico (S), 5 mg/kg de amitriptilina

(A5), 10 mg/kg de amitriptilina (A10) y 15 mg/kg de amitriptilina (A15); e inmediatamente después del entrenamiento recibieron salino (S) o 0.05 mg/kg de oxotremorina (O), según estaba asignado. Es decir, todos los sujetos pasaron por dos administraciones, formando los siguientes grupos: SS (salino-salino), A5S (5 mg/kg de amitriptilina-salino), A10S (10 mg/kg de amitriptilina-salino), A15S (15 mg/kg de amitriptilina-salino), SO (salino-oxotremorina), A5O (5 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina), A10O (10 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina) y A15O (15 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina).

11.2.5. Procedimiento

El orden en que los ratones pasaron por la prueba, fue aleatorio. Treinta minutos antes de introducir a los sujetos en la caja de evitación inhibitoria, se les dio la primera administración, siendo el procedimiento del ensayo exactamente igual que el expuesto en el Experimento 2 (ver Apartado 8.2.5.). Cuando inmediatamente después del entrenamiento el animal se extrajo de la caja, se le administró su segunda dosis correspondiente al grupo al que pertenecía.

La fase de test fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento, de la misma manera que en los experimentos anteriores de esta tesis. El diseño de dicho experimento aparece gráficamente esquematizado en la Figura 11.1.

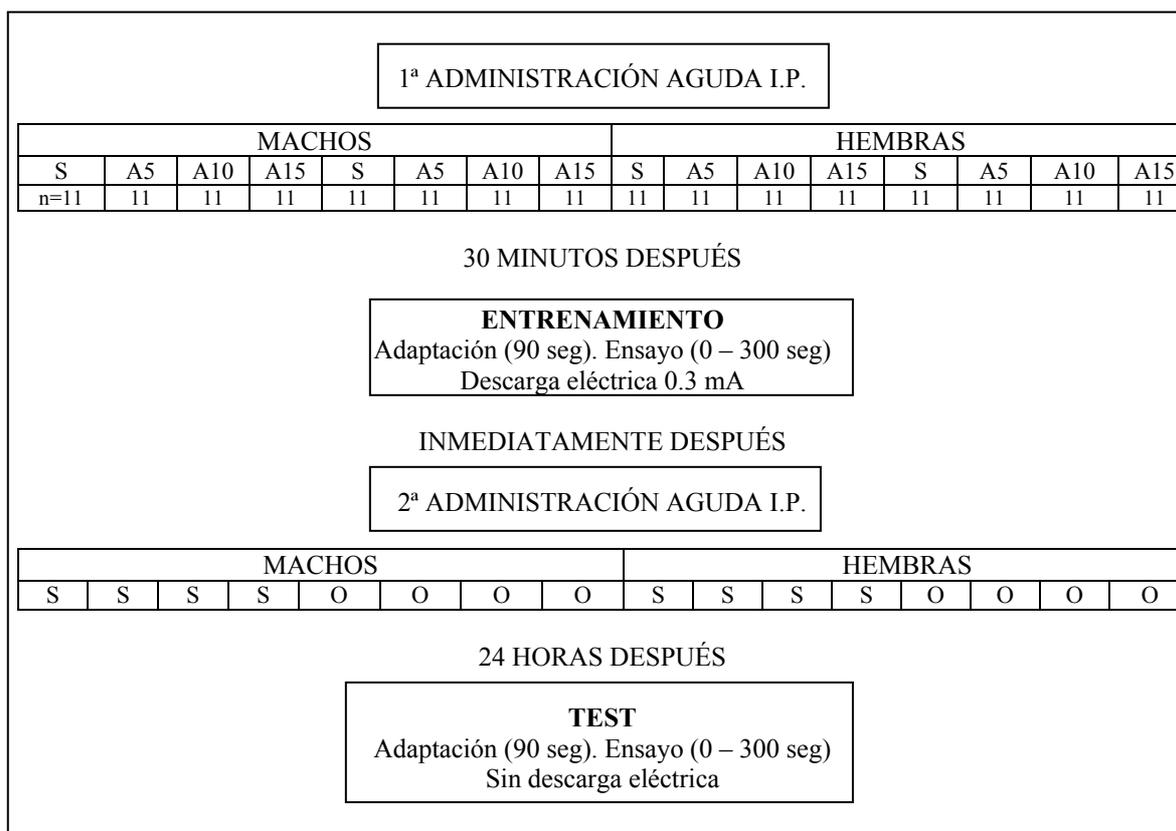


Figura 11.1. Diseño y procedimiento del Experimento 5. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina, A15: 15 mg/kg de amitriptilina y O: 0.05 mg/kg de oxotremorina, n: número de sujetos por grupo.

11.2.6. Análisis estadístico

Se analizaron los datos con las mismas pruebas de estadística paramétrica que se han empleado en experimentos anteriores (ver Apartado 7.2.6.).

11.3. RESULTADOS

En la fase de entrenamiento, la variable Tratamiento alcanzó la significación estadística ($F_{7,160} = 9.47$, $p < 0.01$); siendo la comparación post-hoc estadísticamente

significativa en los siguientes casos: A15S versus SS, y A15O versus SO y A15O ($p < 0.01$). Además, durante la fase de test, la variable Tratamiento, también fue estadísticamente significativa ($F_{7,160} = 9.54$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los casos: A5S, A10S y A15S versus SS ($p < 0.01$), junto con A5O, A10O y A15O versus SO ($p < 0.01$); donde dichos grupos presentaron latencias menores que el grupo SS y SO, respectivamente. Asimismo, el grupo que recibieron SO presentó una latencia significativamente mayor que el grupo SS ($p < 0.01$) (ver Figura 11.2.).

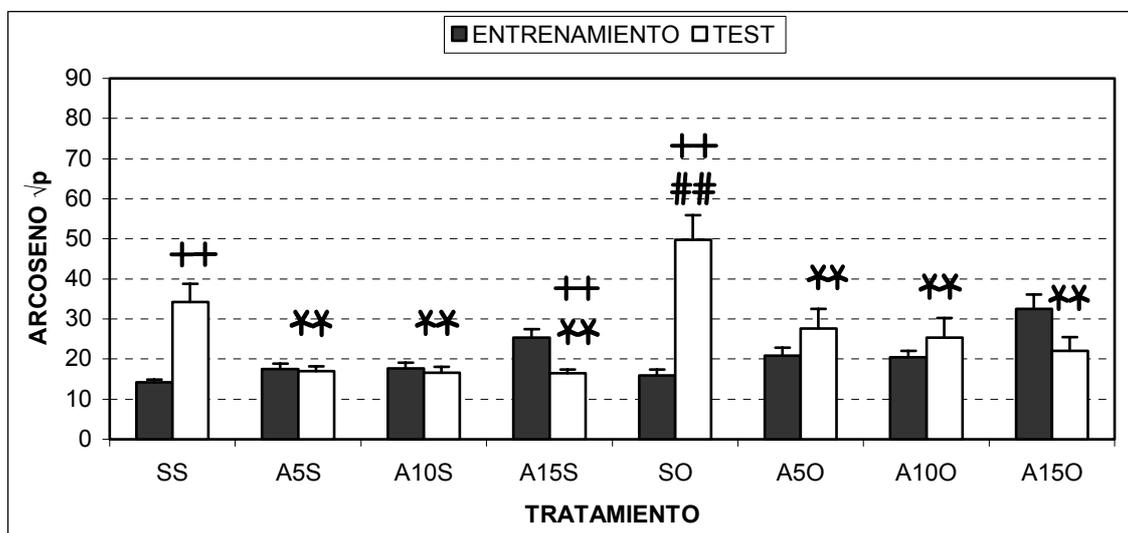


Figura 11.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, A15S: 15 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.05 mg/kg de oxotremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina, A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina y A15O: 15 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina. ** $p < 0.01$ y ## $p < 0.01$ vs SS, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado en machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en los machos con $F_{7,80} = 6.70$, $p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5S, A10S y A15S versus SS ($p < 0.01$), y A5O, A10O y A15O versus SO ($p < 0.01$) (ver Figura 11.3.).

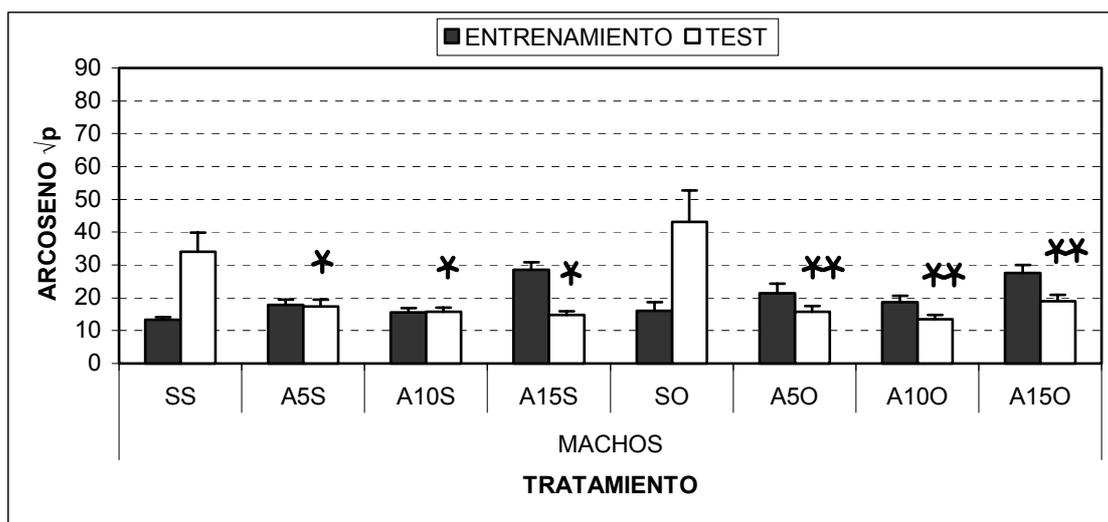


Figura 11.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arco seno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, A15S: 15 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.05 mg/kg de oxtremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina, A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina y A15O: 15 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ vs SS.

Además, los resultados también nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en las hembras con $F_{7,80} = 6.69$, $p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5S, A10S y A15S versus SS ($p < 0.01$), y A5O, A10O y A15O versus SO ($p < 0.01$) (ver Figura 11.4).

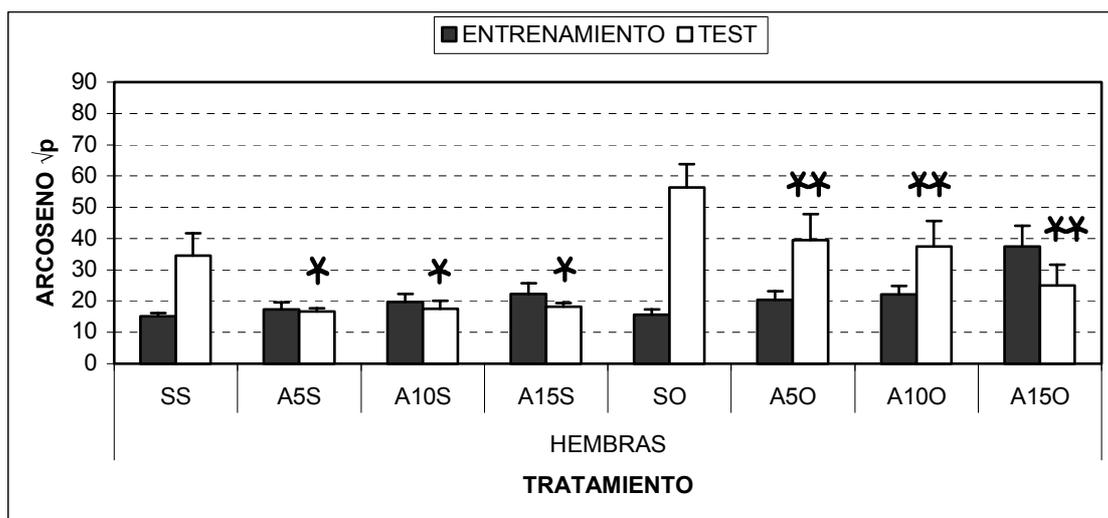


Figura 11.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, A15S: 15 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.05 mg/kg de oxtremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina, A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina y A15O: 15 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxtremorina. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ vs SS.

Se han encontrado diferencias globales estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test, con $F_{1,160} = 11.75$, $p < 0.01$; presentando las hembras latencias mayores que los machos (ver Figura 11.5).

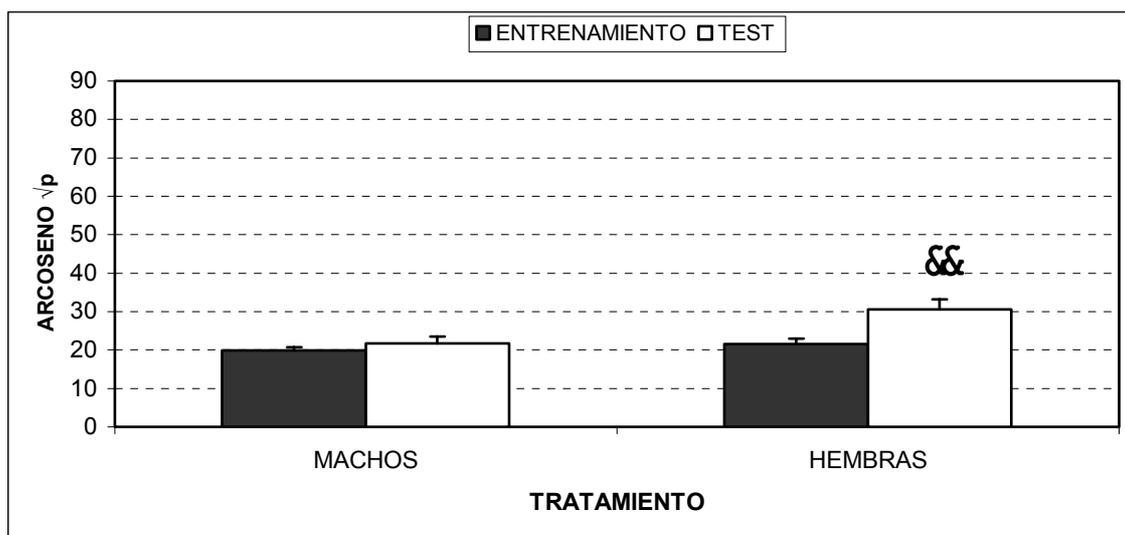


Figura 11.5. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de: salino, 5, 10 y 15 mg/kg de amitriptilina, y 0.05 mg/kg de oxtremorina. && $p < 0.01$ vs machos.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la t de Student en los grupos (SS: $t_{21} = 4.4$, $p < 0.01$, A15S: $t_{21} = 4.12$, $p < 0.01$ y SO: $t_{21} = 5.77$, $p < 0.01$), siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento; excepto en el grupo A15S que fue en sentido contrario (las latencias de test fueron inferiores que en el entrenamiento) (ver Figura 11.2).

Al realizar dicho análisis en cada sexo por separado, las comparaciones fueron estadísticamente significativas en los siguientes tratamientos de machos: SS ($t_{10} = 3.47$, $p < 0.01$), A15S ($t_{10} = 6.90$, $p < 0.01$), SO ($t_{10} = 2.99$, $p = 0.01$), A10O ($t_{10} = 3.16$, $p = 0.01$) y A15O ($t_{10} = 2.68$, $p < 0.05$), con la excepción de: A5S ($t_{10} = 0.16$, n.s.), A10S ($t_{10} = 0.14$, n.s.) y A5O ($t_{10} = 1.49$, n.s.); y de hembras: SS ($t_{10} = 2.75$, $p < 0.05$), SO (t_{10}

= 5.56, $p < 0.01$) y A5O ($t_{10} = 2.24$, $p < 0.05$), excepto los grupos: A5S ($t_{10} = 0.28$, n.s.), A10S ($t_{10} = 0.74$, n.s.), A15S ($t_{10} = 1.23$, n.s.), A10O ($t_{10} = 1.60$, n.s.) y A15O ($t_{10} = 1.13$, n.s.). Es decir, las latencias de cruce fueron más largas en la fase de test en todos los casos de ambos sexos, excepto en los grupos de machos A15S, A10O y A15O de machos, que fue en sentido inverso (ver Figura 11.6.).

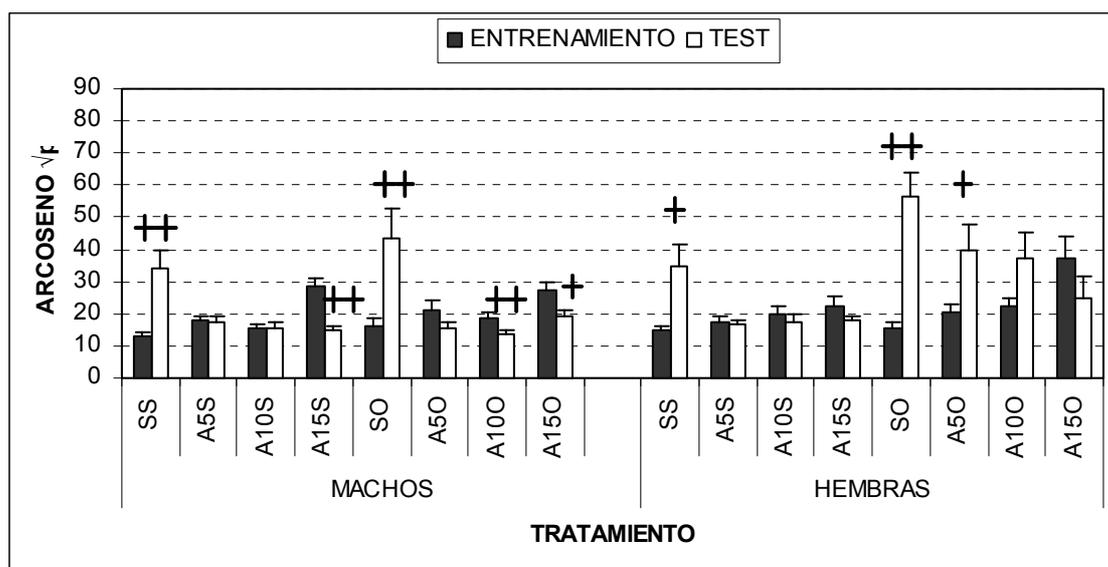


Figura 11.6. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, A15S: 15 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.05 mg/kg de oxotremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina, A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina y A15O: 15 mg/kg de amitriptilina-0.05 mg/kg de oxotremorina. + $p < 0.05$ y ++ $p \leq 0.01$ vs entrenamiento.

11.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el efecto amnésico de tres dosis de amitriptilina (5, 10 y 15 mg/kg) administradas de forma aguda preentrenamiento, y el efecto que causa la única dosis de oxotremorina (0.05 mg/kg) postentrenamiento en el condicionamiento de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, así como su combinación.

La administración aguda de las tres dosis de amitriptilina impidió la adquisición de la evitación inhibitoria en ambos sexos, y este deterioro en la memoria se observa tanto en machos como en hembras. No se produjo adquisición en los machos tratados con las tres dosis de antidepresivo (baja, intermedia y alta), siendo el deterioro aun mayor en la dosis más alta (15 mg/kg), debido a que las latencias de cruce en el test fueron inferiores a las del entrenamiento (ver Figura 11.6.); y en las hembras el efecto amnésico fue similar, ya que tampoco se produjo aprendizaje en ninguna de las tres dosis dadas. Los únicos grupos que han aprendido el condicionamiento han sido los grupos salino-salino y salino-oxotremorina de ambos sexos.

Los grupos que se les ha administrado salino antes del entrenamiento y oxotremorina postentrenamiento, han obtenido un claro aprendizaje; de igual manera que los grupos control (administrado salino pre y postentrenamiento), tanto en machos como en hembras (ver Figura 11.6.). Además, al juntar machos y hembras, el grupo tratado con salino y oxotremorina mejoró significativamente el aprendizaje al compararlo con el grupo al que se le administró solo salino (antes y después del entrenamiento), indicándonos que este fármaco provoca un efecto favorecedor sobre la memoria (ver Figura 11.2.).

El deterioro de memoria también apareció en los sujetos machos a los que se les administró antes amitriptilina y después del entrenamiento una única dosis de oxotremorina en las tres dosis de amitriptilina, siendo este efecto aún mayor en la dosis intermedia y alta; además, esta falta de recuerdo es observado en las hembras con las dosis intermedia y alta (10 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina y 15 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina). Sin embargo, hay que destacar que los datos nos indican que las hembras tratadas con la dosis baja no han sufrido este efecto amnésico, siendo este aprendizaje en ellas corroborado por su respectivo análisis estadístico (ver Figura 11.6.). Además, se han hallado diferencias de tratamiento en ambos sexos al comparar los grupos tratados con fármaco, tanto antes como después del entrenamiento, con su respectivo grupo control (salino-salino y salino-oxotremorina), ya que los machos tratados con 10 mg/kg de amitriptilina-salino y 15 mg/kg de amitriptilina-salino en la fase de test presentan diferencias estadísticamente significativas respecto a su grupo control, y este efecto también es observado en las hembras con las dosis baja y alta. Sin embargo, estas diferencias aparecen en todos los grupos de machos tratados con amitriptilina (5, 10 y 15 mg/kg – oxotremorina) y en los grupos de hembras con dosis baja y alta de amitriptilina-oxotremorina, al igual que en las hembras administradas postentrenamiento de salino.

Los resultados de este estudio inciden a nivel de ejecución cognitiva, reflejando deterioro en la memoria cuando se administra amitriptilina. Dicho deterioro puede ser debido al efecto anticolinérgico y sedativo de este fármaco (Knegtering y cols., 1994), y su efecto amnésico se observa, de igual modo, administrándola postentrenamiento 30 minutos después (Kumar y Kulkarni, 1996) e inmediatamente después (Everss y cols., 1999, 2005; Parra y cols., 2002). Este efecto también se ha visto en otros trabajos, como es el caso de Parra y cols. (2006) donde administrando amitriptilina antes de la fase de adquisición, impidió el aprendizaje en machos y mostró una tendencia en el mismo

sentido en hembras. Además, también se ha observado que la administración antes del entrenamiento de 4 mg/kg de amitriptilina provocó deterioro en la adquisición de la evitación inhibitoria, lo cual se vio reflejado en las latencias de test encontradas en ratas (e.g. Shimizu-Sasamata y cols., 1993) y en ratones (e.g. Takahashi y cols., 1995).

Después de observar los resultados obtenidos, podemos decir que la oxotremorina ejerce un efecto beneficioso en la consolidación de la memoria, independientemente del sexo, cuando es administrada postentrenamiento, ya que los grupos a los que se les dio salino antes y oxotremorina después del entrenamiento (salino-oxotremorina), presentaron latencias de cruce en la fase de test mayores que el grupo salino-salino (ver Figura 11.2.). También, se ha encontrado efecto no deteriorante en el grupo de hembras al que se le administró la dosis baja de amitriptilina (5 mg/kg) y posteriormente del entrenamiento la dosis de 0.05 mg/kg de oxotremorina. Además, este efecto parece ser que se repite con la dosis de 10 mg/kg en hembras, aunque debemos hablar de una tendencia a la mejora, porque los resultados no han sido estadísticamente significativos (ver Figura 11.6.). Todo esto, puede ser debido a que la oxotremorina palia el deterioro del antidepresivo cuando se administra solo; ya que muchos estudios han mostrado que la oxotremorina postentrenamiento en diferentes dosis provoca un efecto beneficioso en la memoria (Baratti y cols., 1979, 1983, 1996; Huygens y cols., 1980; Miranda y McGaugh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a). Es decir, se ha visto que este fármaco facilita la memoria en la mayor parte de estudios experimentales realizados (Baratti y cols., 1983; Hernandez y cols., 1995).

De estos resultados, podemos deducir que el deterioro de evitación inhibitoria producido por la amitriptilina, se deba (al menos en parte) a su acción anticolinérgica, ya que el agonista colinérgico (oxotremorina) ha contrarrestado parcialmente (en algunos casos) dicho deterioro.

En el presente experimento han aparecido diferencias de sexo al administrar amitriptilina en las dosis baja e intermedia antes del entrenamiento y oxotremorina después, siendo las hembras las que mayores latencias mostraron en el test; por lo que, ejecutaron mejor la tarea del condicionamiento de evitación inhibitoria. Las comparaciones realizadas con todos los demás grupos a los que se administró salino posteriormente a la fase de entrenamiento, no reflejaron diferencias significativas. Es posible que dicho fármaco administrado postentrenamiento haya afectado a los resultados obtenidos, pero lo que sí sabemos con certeza es que existen diferencias entre los machos y las hembras, al administrar amitriptilina u otro tipo de fármaco antidepresivo, como por ejemplo la fluoxetina (Caldarone y cols., 2003; Monleón y cols., 2002).

Por otra parte, es posible que los resultados observados en la prueba de evitación inhibitoria, puedan esclarecerse si se cambian algunos de los parámetros utilizados hasta hora en este trabajo, como puede ser el caso de la intensidad de descarga eléctrica aplicada a los sujetos. Además, no podemos olvidar la posibilidad de que si utilizamos una dosis mayor de oxotremorina, pueda contrarrestar el efecto deteriorante ocasionado por la amitriptilina, que demostradamente hemos observado en los experimentos realizados en la presente tesis doctoral, y otros estudios realizados con anterioridad en nuestro grupo de investigación con dicho fármaco. Por estos motivos, en el siguiente experimento se estudiaron dichas posibilidades: cambiando la intensidad de descarga de 0.3 a 0.4 mA y aumentando la dosis de oxotremorina a 0.1 mg/kg.

12. EFECTO AGUDO DE VARIAS DOSIS DE
AMITRIPTILINA (5, 7.5 y 15 mg/kg)
PREENTRENAMIENTO Y OXOTREMORINA
(0.1 mg/kg) POSTENTRENAMIENTO EN LA
EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 6*)

12.1. INTRODUCCIÓN

En el Experimento 5 comprobamos que la administración aguda de 5, 10 y 15 mg/kg de amitriptilina 30 minutos antes del entrenamiento produce una reducción, en la ejecución de la tarea, de las latencias de cruce en la sesión de test con respecto al grupo control; donde dicha reducción es indicativa de un déficit de memoria provocado por el fármaco. Hubieron grupos a los que después de administrar amitriptilina se les inyectó oxotremorina, ésta coadministración no revirtió el efecto deteriorante ocasionado por la amitriptilina, ya que este efecto solo se observó en el grupo de hembras a las que se les administró la dosis baja de antidepresivo. Estos hallazgos, aunque limitados, apuntan a que la oxotremorina produce un efecto favorecedor sobre la memoria, que como se ha mencionado con anterioridad ha sido observado también en la literatura cuando se administra junto con otros fármacos que resultan ser dañinos para dichos procesos de aprendizaje y memoria (e.g. Lamberty y Gower, 1991; Li y cols., 2001; Mohamed y cols., 2000).

Este sexto experimento se llevó a cabo con el fin de estudiar más detalladamente el efecto que podría tener sobre la memoria la administración aguda postentrenamiento de oxotremorina habiendo administrado preentrenamiento amitriptilina, de la misma dosis baja usada (5 mg/kg) y añadir una dosis (7.5 mg/kg) inferior a la intermedia utilizada en el experimento anterior; y a la vez aumentar la dosis de oxotremorina administrada en el experimento previo. Es decir, hemos pretendido bajar las dosis de amitriptilina de todos los grupos, y así administrar una dosis más alta de oxotremorina para ver si esclarecemos las dudas encontradas en el Experimento 5 sobre la adquisición y/o consolidación de la conducta aprendida en la prueba de evitación inhibitoria.

En dicha prueba de aprendizaje y memoria, usada durante todo la presente tesis doctoral, utilizado como estímulo aversivo la descarga eléctrica, que según diversos autores, como por ejemplo Krazem y cols. (2001), provoca miedo en el sujeto experimental. En este experimento en concreto, nosotros decidimos cambiar la intensidad de descarga eléctrica utilizada hasta ahora aumentándola, para que la línea base en los grupos controles que fuese más sensible, tanto al potencial efecto deteriorante de la amitriptilina como del potencial efecto beneficioso de la oxotremorina sobre la memoria. Es decir, pretendemos observar si la ejecución de la tarea de aprendizaje a la que les hemos sometido, al variar la descarga, es mejor o peor a la realizada con anterioridad.

Sin embargo, hay que tener presente que el condicionamiento de evitación inhibitoria se ve influido por muchos factores, por lo que antes de atribuir un cambio de ejecución como consecuencia de la memoria, se debería excluir la participación de otros factores como, por ejemplo, la fatiga, los cambios de estímulos, etc.; esto es importante a la hora de determinar, sobre todo, la participación exclusiva de determinadas sustancias o fármacos en el aprendizaje. Bammer (1982) defendió, en su día, que se debe intentar demostrar que el fármaco no altera los factores que, aun relevantes en el aprendizaje de la tarea, pueden afectar en su ejecución, y también se debe comprobar que los efectos del fármaco sobre la tarea son consistentes aun cambiando las variables, para que los efectos se deban exclusivamente al fármaco.

Aunque, nuestra labor será ver si las dosis de amitriptilina modificadas con respecto al Experimento 5 también producen amnesia en los animales, y además observar que efecto tienen sobre la memoria al administrar posteriormente oxotremorina en ambos sexos; ya que es muy importante ver este efecto tanto en sujetos macho como hembra, para así cerciorar los resultados obtenidos en el experimento anterior. Además,

no podemos olvidar que la depresión es un trastorno que afecta tanto a hombres como a mujeres, aunque los porcentajes varíen según sexos; siendo la prevalencia mayor en el sexo femenino que en el masculino teniendo en cuenta diversas variables (e.g. Kornstein y cols., 2000; Piccinelli y Wilkinson, 2000). También, debemos tener en cuenta que se han encontrado diferencias de sexo en distintas tareas de aprendizaje (e.g. Archer, 1979; Beatty, 1979; Kemble y Enger, 1984), entre las que se incluye el condicionamiento de evitación inhibitoria o pasiva.

12.2. MATERIAL Y MÉTODOS

12.2.1. Sujetos

Se utilizaron un total de 224 ratones (112 machos y 112 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia) al principio del experimento, y se eliminaron 2 machos y 2 hembras de todos ellos por baja experimental. A su llegada al Laboratorio fueron alojados bajo las mismas condiciones que se han descrito en el Apartado 7.2.1. de esta tesis doctoral.

12.2.2. Fármacos

Se utilizó clorhidrato de amitriptilina y sesquifumarato de oxotremorina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), preparados como se detalla en el primer experimento (ver Apartado 7.2.2.). Los fármacos fueron administrados i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal, y las dosis utilizadas fueron de 5, 7.5 y 10 mg/kg de amitriptilina y 0.1 mg/kg de oxotremorina.

12.2.3. Aparatos

Se volvió a utilizar la misma caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento, usadas en los experimentos anteriores, que ya ha sido descrita con anterioridad en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.).

12.2.4. Diseño experimental

El diseño experimental fue similar al descrito en el Experimento 5 (ver Apartado 11.2.4), donde los ratones se distribuyeron al azar en 8 grupos por cada sexo; formándose los siguientes grupos: SS (salino-salino), A5S (5 mg/kg de amitriptilina-salino), A7.5S (7.5 mg/kg de amitriptilina-salino), A10S (10 mg/kg de amitriptilina-salino), SO (salino-oxotremorina), A5O (5 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina), A7.5O (7.5 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina) y A10O (10 mg/kg de amitriptilina-oxotremorina).

12.2.5. Procedimiento

El procedimiento de este estudio se realizó de la misma manera que el expuesto en el Experimento 5 (ver Apartado 11.2.5.), pero con una intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA en la fase de entrenamiento. El diseño de dicho experimento aparece gráficamente esquematizado en la Figura 12.1.

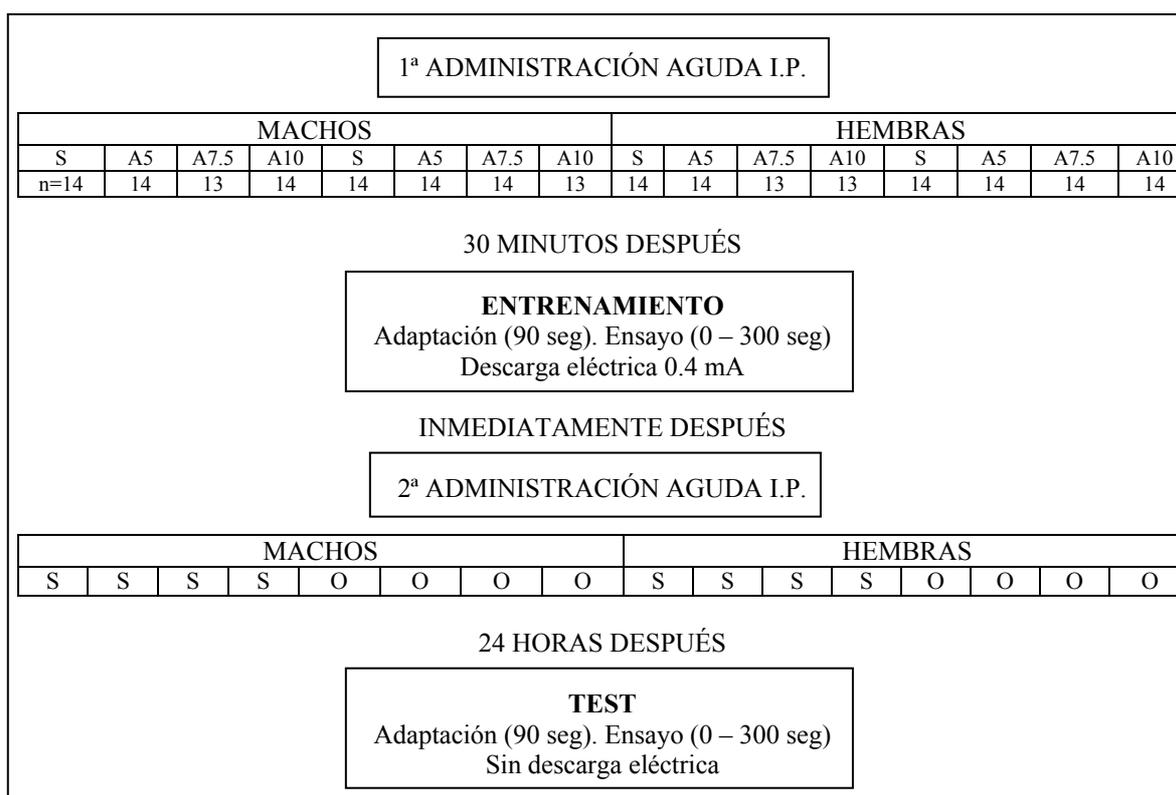


Figura 12.1. Diseño y procedimiento del Experimento 6. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A5: 5 mg/kg de amitriptilina, A7.5: 7.5 mg/kg de amitriptilina, A10: 10 mg/kg de amitriptilina y O: 0.1 mg/kg de oxotremorina, n: número de sujetos por grupo.

12.2.6. Análisis estadístico

Tras comprobar la homogeneidad de las varianzas y la normalidad de los datos, se procedió a realizar un ANOVA. Es decir, se realizaron los mismos análisis estadísticos que los llevados a cabo en el Experimento 5.

12.3. RESULTADOS

Durante la fase de entrenamiento, alcanzaron la significación estadística, la variable Tratamiento ($F_{7,204} = 6.20$, $p < 0.01$), Sexo ($F_{1,204} = 4.98$, $p < 0.05$) e

Interacción ($F_{7,204} = 2.55$, $p < 0.05$); siendo la comparación post-hoc estadísticamente significativa en los siguientes casos: A7.5S y A10S versus SS ($p = 0.01$ y $p = 0.05$, respectivamente), y A7.5O y A10O versus SO ($p < 0.01$).

En el test, la variable Tratamiento, también fue estadísticamente significativa ($F_{7,204} = 18.68$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los casos: A5S, A7.5S y A10S versus SS ($p < 0.01$), junto con A5O, A7.5O y A10O versus SO ($p < 0.01$); donde dichos grupos presentaron latencias menores que el grupo SS y SO, respectivamente (ver Figura 12.2.).

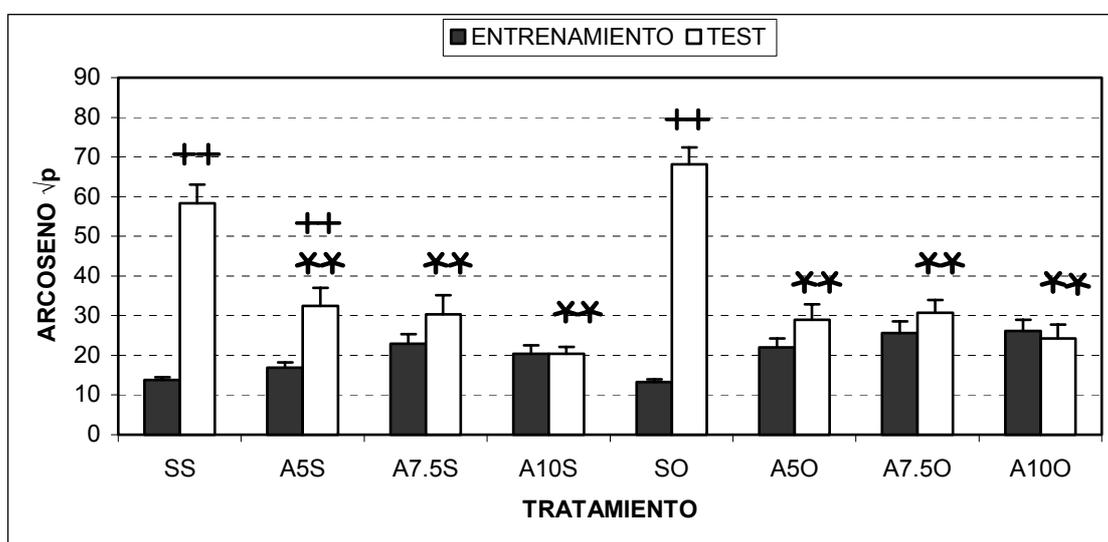


Figura 12.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A7.5S: 7.5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.1 mg/kg de oxotremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina, A7.5O: 7.5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina y A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina. ** $p < 0.01$ vs SS, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado de machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en los machos con $F_{7,102} = 12.26$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5S, A7.5S y A10S versus SS ($p < 0.01$), y A5O, A7.5O y A10O versus SO ($p < 0.01$). Asimismo, el grupo que recibieron SO presentó una latencia significativamente mayor que el grupo SS ($p < 0.05$) (ver Figura 12.3.).

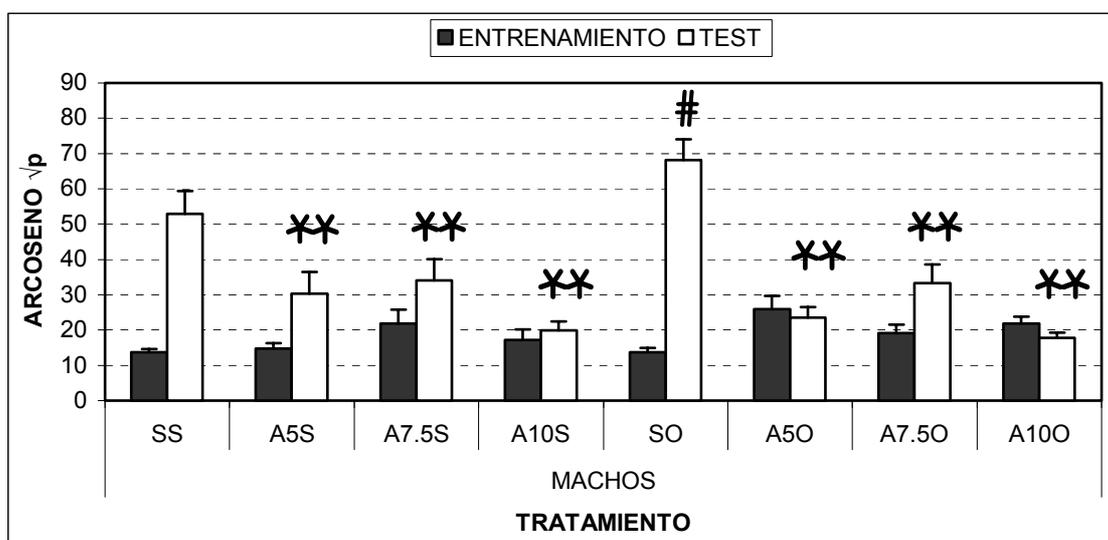


Figura 12.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A7.5S: 7.5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.1 mg/kg de oxtremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina, A7.5O: 7.5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina y A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina. ** $p < 0.01$ y # $p < 0.05$ vs SS.

Además, los resultados también nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en las hembras con $F_{7,102} = 7.87$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: A5S, A7.5S y A10S versus SS ($p < 0.01$), y A5O, A7.5O y A10O versus SO ($p < 0.01$) (ver Figura 12.4).

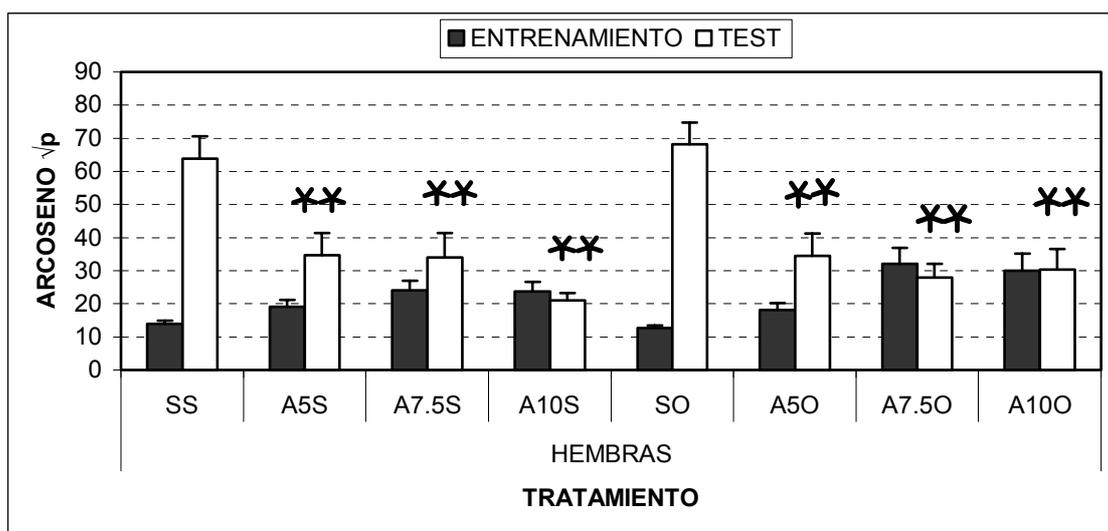


Figura 12.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A7.5S: 7.5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.1 mg/kg de oxotremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina, A7.5O: 7.5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina y A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina. ** $p < 0.01$ vs SS.

Los análisis realizados, también nos han indicado que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test ($F_{1,204} = 3.52$, n.s.) (ver Figura 12.5.).

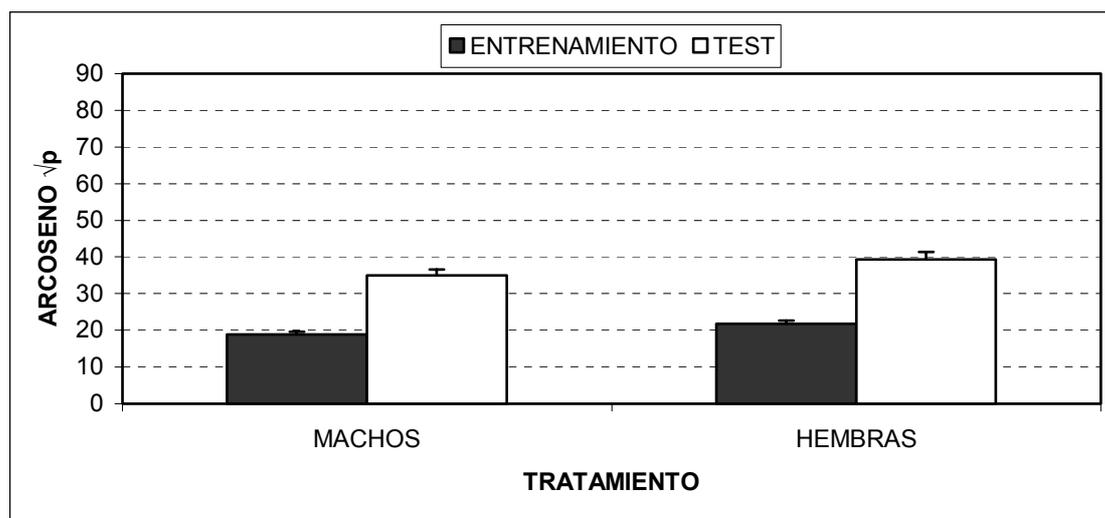


Figura 12.5. Medias (\pm error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A7.5S: 7.5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.1 mg/kg de oxtremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina, A7.5O: 7.5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina y A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxtremorina.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la t de Student en todos los tratamientos (SS: $t_{27} = 9.35$, $p < 0.01$; A5S: $t_{27} = 4.02$, $p < 0.01$ y SO: $t_{27} = 13.60$, $p < 0.01$); siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento (ver Figura 12.2).

Al realizar dicho análisis en cada sexo por separado, las comparaciones fueron estadísticamente significativas en los siguientes grupos de machos: SS ($t_{13} = 5.93$, $p < 0.01$), A5S ($t_{13} = 2.79$, $p < 0.05$), SO ($t_{13} = 9.89$, $p < 0.05$) y A7.5O ($t_{13} = 2.31$, $p = 0.05$), con la excepción de: A7.5S ($t_{12} = 0.69$, n.s.), A10S ($t_{13} = 0.70$, n.s.), A5O ($t_{13} = 0.54$, n.s.) y A10O ($t_{12} = 1.53$, n.s.); y de hembras: SS ($t_{13} = 7.36$, $p < 0.01$), A5S ($t_{13} = 2.79$, $p < 0.05$), SO ($t_{13} = 9.06$, $p < 0.01$) y A5O ($t_{13} = 2.56$, $p < 0.05$), excepto en el

grupo A7.5S ($t_{12} = 1.10$, n.s.), A10S ($t_{12} = 0.77$, n.s.), A7.5O ($t_{13} = 0.78$, n.s.) y A10O ($t_{13} = 0.04$, n.s.) (ver Figura 12.6.).

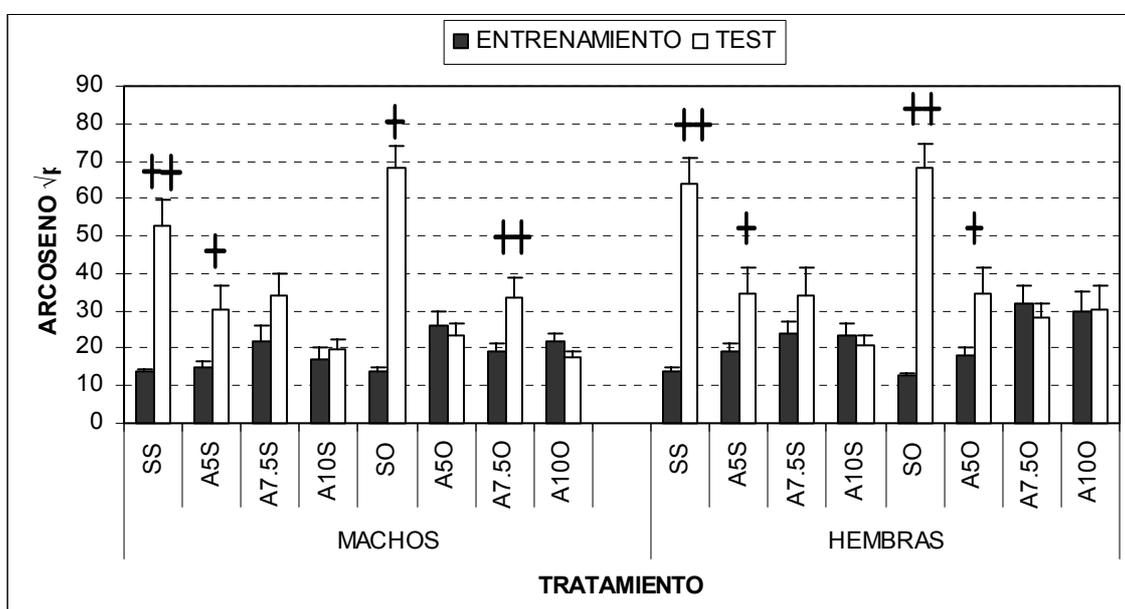


Figura 12.6. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, A5S: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, A7.5S: 7.5 mg/kg de amitriptilina-salino, A10S: 10 mg/kg de amitriptilina-salino, SO: salino-0.1 mg/kg de oxotremorina, A5O: 5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina, A7.5O: 7.5 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina y A10O: 10 mg/kg de amitriptilina-0.1 mg/kg de oxotremorina. + $p < 0.05$ y ++ $p \leq 0.01$ vs entrenamiento.

12.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el efecto sobre la memoria de tres dosis de amitriptilina (5, 7.5 y 10 mg/kg) administradas de forma aguda 30 minutos antes del entrenamiento, y el efecto que causa una dosis de oxotremorina (0.1 mg/kg) inmediatamente después del entrenamiento en el condicionamiento de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, así como su combinación.

El primer hallazgo de este experimento y que también se ha observado en los anteriores, es que la amitriptilina cuando se administra de manera aguda antes de la sesión de adquisición de una prueba de evitación inhibitoria, daña la ejecución de los animales. Específicamente son las dosis más altas en machos y hembras (7.5 y 10 mg/kg) las que producen deterioro, siendo las latencias de cruce en el test similares a las de la fase de entrenamiento. Este déficit de memoria también ha ocurrido en experimentos anteriores, en el presente trabajo y en nuestro grupo de investigación (e.g. Everss y cols., 2005; Parra y cols., 2006) en dosis similares. Sin embargo, este efecto se ha observado en los grupos de hembras cuando se ha coadministrado amitriptilina antes y oxotremorina posteriormente al entrenamiento, pero no de la misma manera, en machos el grupo con la dosis baja de amitriptilina, ya que la oxotremorina no ha mejorado la adquisición. Aunque todos los grupos control, de ambos sexos, han experimentado aprendizaje, tanto a los que se les ha administrado salino como oxotremorina después del entrenamiento, por lo que parece ser que dicho aprendizaje no ha sido debido al efecto ocasionado por este agonista colinérgico. Además, el grupo de machos tratado con salino y oxotremorina mejoró significativamente el aprendizaje al compararlo con el grupo al que se le administró solo salino (antes y después del entrenamiento), indicándonos que este fármaco provoca un efecto favorecedor sobre la memoria (ver Figura 12.3.).

Hay que señalar que los resultados obtenidos, el daño que produjo la amitriptilina y la ausencia de efecto de la oxotremorina son difíciles de interpretar. Según Altman y Normilla (1987), la administración del fármaco previa a la adquisición de la conducta puede afectar tanto al proceso mismo de adquisición, como a los procesos de memoria que ocurren después del aprendizaje, por lo que no sabemos con certeza como han actuado los dos fármacos en estos procesos de aprendizaje y memoria. Además, la amitriptilina es un fármaco que tiene efecto sedante, actuando como

ansiolítico (Davidson, 2001) y la oxotremorina parece ser que afecta a la actividad locomotora, activándola y provocando temblores en dosis altas (Chintoh y cols., 2003; Laplante y cols., 2005; Wang y cols., 2004). Estos efectos pueden enmascarar los resultados obtenidos y dificultan su interpretación, ya que son factores que sin lugar a dudas pueden afectar a la ejecución de la tarea, independientemente de la acción que ejercen dichos fármacos en el sistema colinérgico (agonista o antagonista). Es decir, parece ser que son fármacos opuestos con respecto a sus acciones y efectos:

- La amitriptilina actúa sobre el sistema colinérgico de manera negativa y la oxotremorina de manera positiva.
- La amitriptilina tiene efecto sedante y la oxotremorina activa la locomoción.
- La amitriptilina deteriora la memoria y la oxotremorina presenta un efecto favorecedor sobre ella.

Por otra parte, uno de los cambios que podría explicar la ausencia de efecto de la oxotremorina es el aumento de la intensidad de descarga (de 0.3 mA a 0.4 mA). Como señala Bammer (1982), variaciones en la intensidad de descarga eléctrica pueden producir variaciones en los efectos de un fármaco determinado. Por ejemplo, en el caso de la fisostigmina la aplicación de intensidades de descarga bajas (0.2 – 0.35 mA) en la sesión de adquisición hacía que los animales mostraran un efecto deteriorante de la memoria, mientras que si la intensidad de descarga era mayor (0.4 – 2 mA) no se observaba ningún efecto del fármaco sobre la memoria (Bammer, 1982). Esto también se podría trasladar a fármacos administrados después del entrenamiento, como es el caso de la oxotremorina en este experimento en concreto. Es posible, que esta sea la explicación para la diferencia de resultados entre el Experimento 5 (efecto beneficioso de la oxotremorina en la memoria en algún grupo) y el presente experimento. Aunque,

lo más lógico hubiera sido a la inversa, que al ser la intensidad de descarga eléctrica más alta en este experimento, los animales podrían haber tenido un aprendizaje más fuerte y por ese motivo seguirían recordando la conducta de evitación aprendida en la sesión de adquisición, a pesar de que la sesión de recuperación o consolidación se llevase a cabo a las 24 horas, como ha sido en nuestro caso, o mayor tiempo (como por ejemplo días).

En definitiva y para finalizar, podemos decir que la amitriptilina (5, 7.5 y 10 mg/kg) administrada antes de entrenamiento, ha producido deterioro en la adquisición de la memoria; pero la administración de oxotremorina (0.1 mg/kg) después del entrenamiento, no ha revertido el efecto deteriorante ocasionado por el antidepresivo, tanto en ratones machos como hembras. Aunque, los resultados de este experimento permitieron saber que la oxotremorina no contrarresta el déficit de memoria ocasionado por la amitriptilina en nuestra preparación de laboratorio, creemos que hay una tendencia a mejorar dicho efecto al observar las gráficas (ver Figuras 12.3., 12.4. y 12.6.).

13. EFECTO AGUDO
DE AMITRIPTILINA PREENTRENAMIENTO Y
FISOSTIGMINA POSTENTRENAMIENTO EN
LA EVITACIÓN INHIBITORIA EN RATONES
MACHOS Y HEMBRAS (*EXPERIMENTO 7*)

13.1. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los experimentos anteriores de la presente tesis doctoral, donde hemos trabajado con amitriptilina y oxotremorina; hemos observado que la oxotremorina, en unos casos, revierte un poco el deterioro cognitivo que provoca la amitriptilina y en otros encontramos una tendencia a ello. Debido a que los resultados han sido poco consistentes hasta el momento, en el presente experimento hemos introducido otro fármaco colinérgico, la fisostigmina (también llamada eserina), con un mecanismo de acción diferente a la oxotremorina.

A lo largo del presente trabajo hemos estado hablando del sistema colinérgico en los procesos de aprendizaje y memoria, y el papel tan importante que juega en dichos procesos (e.g. Karczmar, 1995) y áreas implicadas del cerebro (hipocampo, amígdala, etc.) junto con otros sistemas de neurotransmisión (dopaminérgico, serotoninérgico, etc.), sabiendo que en la literatura se ha administrado fisostigmina y otros fármacos en diferentes tareas de aprendizaje en modelos animales: evitación inhibitoria, aprendizaje espacial, etc. (Mach y cols., 2004; Mohapel y cols., 2005; Nakagwasai y cols., 2006; Santucci y Haroutunian, 2004; Zarrindast y cols., 2006). La fisostigmina, un anticolinesterásico, produce una mejora en los procesos de aprendizaje, sobre todo inhibiendo el deterioro que ejercen sobre la memoria algunos fármacos, por ejemplo: la escopolamina (Dennes y Barnes, 1993; Dokla y Rydelek-Fitzgerald, 1991; Dunnett, 1985; Rush y Streit, 1992; Yamazaki y cols., 1991) y la morfina (Zarrindast y cols., 2006). También se han realizado estudios con fármacos experimentales, que a veces han ocasionado revertimiento o ausencia de ello, como por ejemplo: el Tg2576 (Dong y cols., 2005), MK-801 y DL-AP5 (Csernansky y cols., 2005; Jafari-Sabet, 2006a). Así, nuestro propósito ha sido el de estudiar el posible efecto deteriorante en la memoria al administrar de manera aguda 5 mg/kg de amitriptilina treinta minutos antes del

entrenamiento, y posteriormente se ha decidido administrar de forma aguda e inmediatamente después del entrenamiento 0.3 mg/kg de fisostigmina; para con ello contrarrestar, con el agonista colinérgico, el deterioro que produce el antidepresivo en la misma tarea de evitación inhibitoria que hemos estado utilizando hasta el momento.

El momento de la administración de la fisostigmina, inmediatamente después del entrenamiento, fue fijado de la misma manera que hemos realizado con la oxotremorina en los Experimentos 4, 5 y 6; para evitar así también, su fuerte efecto supresor de la actividad motora (Gillbert y cols., 1990; Mach y cols., 2004). Además, dicho efecto también ha sido observado en nuestro laboratorio en la actividad natatoria en la prueba de natación forzada cuando se administraba dicho fármaco (Martos y cols., 1999; Parra y cols., 1999b).

Por otra parte, hemos decidido utilizar dicha dosis de fisostigmina, porque hemos observado que determinadas dosis (un poco bajas) no han sido efectivas, como ha ocurrido, por ejemplo, en el caso de nuestro grupo de trabajo con la dosis de 0.05 mg/kg (Parra y cols., 1999b) y en otras investigaciones al administrar 0.1 mg/kg (Hallam y cols., 2004).

También, utilizaremos ambos sexos, siguiendo el mismo patrón que en experimentos anteriores, para observar así, si existen, diferencias entre machos y hembras al coadministrar amitriptilina y fisostigmina. Otros estudios realizados en nuestro laboratorio han confirmado la conveniencia de incluir ambos sexos en el estudio de los efectos de fármacos antidepresivos sobre los procesos de aprendizaje y memoria (Parra y cols., 2002; Monleón y cols., 2002; Everss y cols., 2005; Vinader-Caerols y cols., 2006).

13.2. MATERIAL Y MÉTODOS

13.2.1. Sujetos

Se utilizaron un total de 112 ratones (56 machos y 56 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia) al principio del experimento, y se eliminaron 1 macho y 2 hembras de todos ellos por baja experimental. A su llegada al Laboratorio fueron alojados bajo las mismas condiciones que se han descrito en el Apartado 7.2.1. de la presente tesis doctoral.

13.2.2. Fármacos

Se utilizó clorhidrato de amitriptilina y salicilato de fisostigmina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), preparados como se detalla en el primer experimento (ver Apartado 7.2.2.). Los fármacos fueron administrados i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal, y las dosis utilizadas fueron de 5 mg/kg de amitriptilina y 0.3 mg/kg de fisostigmina.

13.2.3. Aparatos

Se volvió a utilizar la misma caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento, usadas en los experimentos anteriores, que ya han sido descritas con anterioridad en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.).

13.2.4. Diseño experimental

Los ratones se distribuyeron al azar en 4 grupos por cada sexo. Los cuatro grupos recibieron 30 minutos antes del entrenamiento su administración correspondiente por vía intraperitoneal de forma aguda: suero fisiológico (S) ó 5 mg/kg

de amitriptilina (A), e inmediatamente después del entrenamiento recibieron salino (S) o 0.3 mg/kg de fisostigmina (F), según estaba asignado. Es decir, todos los sujetos pasaron por dos administraciones, formando los siguientes grupos: SS (salino-salino), AS (5 mg/kg de amitriptilina-salino), SF (salino-0.3 mg/kg de fisostigmina) y AF (5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina).

13.2.5. Procedimiento

Los ratones pasaron por la prueba de evitación inhibitoria de forma aleatoria. Treinta minutos antes de introducir a los sujetos en la caja de evitación inhibitoria, se les dio la primera administración, siendo el procedimiento del ensayo exactamente igual que el expuesto en el segundo Experimento de la presente tesis (ver Apartado 8.2.5.). Cuando inmediatamente después del entrenamiento el animal se extrajo de la caja, se le administró su segunda dosis correspondiente al grupo al que pertenecía.

La fase de test fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento, de la misma manera que en los experimentos anteriores de esta tesis. El diseño de dicho experimento aparece gráficamente esquematizado en la Figura 13.1.

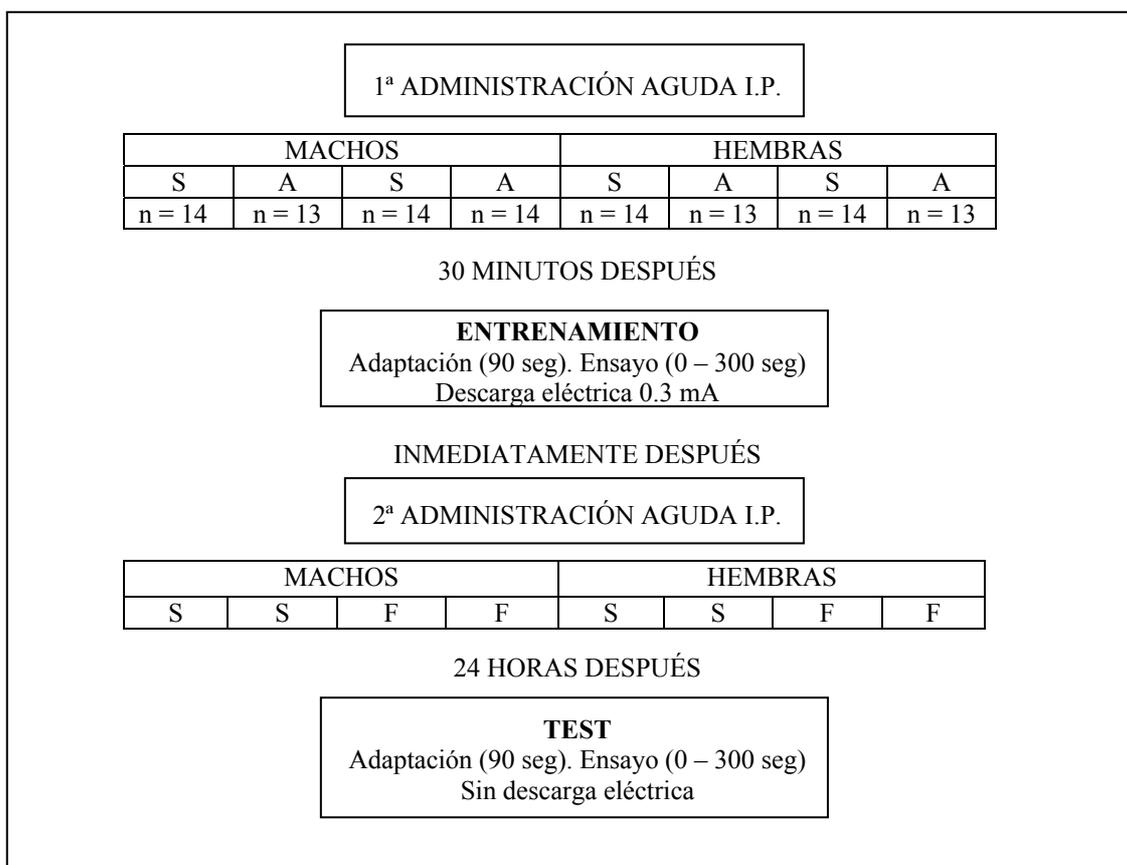


Figura 13.1. Diseño y procedimiento del Experimento 7. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A: 5 mg/kg de amitriptilina y F: 0.3 mg/kg de fisostigmina, n: número de sujetos por grupo.

13.2.6. Análisis estadístico

Como en experimentos anteriores, se analizaron los datos con dos pruebas: (1) ANOVA, para comparaciones entre los grupos de tratamiento y entre sexos; y (2) el test t de Student, para comparar latencias del entrenamiento y del test del mismo grupo. Utilizando también $p < 0.05$ como nivel mínimo de significación estadística.

13.3. RESULTADOS

Independientemente del sexo, los resultados del Tratamiento en el entrenamiento nos indicaron que alcanzaron la significación estadística ($F_{3,101} = 3.98$, $p < 0.01$); siendo la comparación post-hoc de AF versus SS y SF estadísticamente significativa ($p < 0.05$). La variable Tratamiento, también fue estadísticamente significativa en el test ($F(3,101) = 18.64$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los casos: AF versus AS y SS ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente), junto con AF versus AS y SF ($p < 0.01$); donde los grupos AS y AF presentaron latencias menores que los grupos SS y SF (ver Figura 13.2).

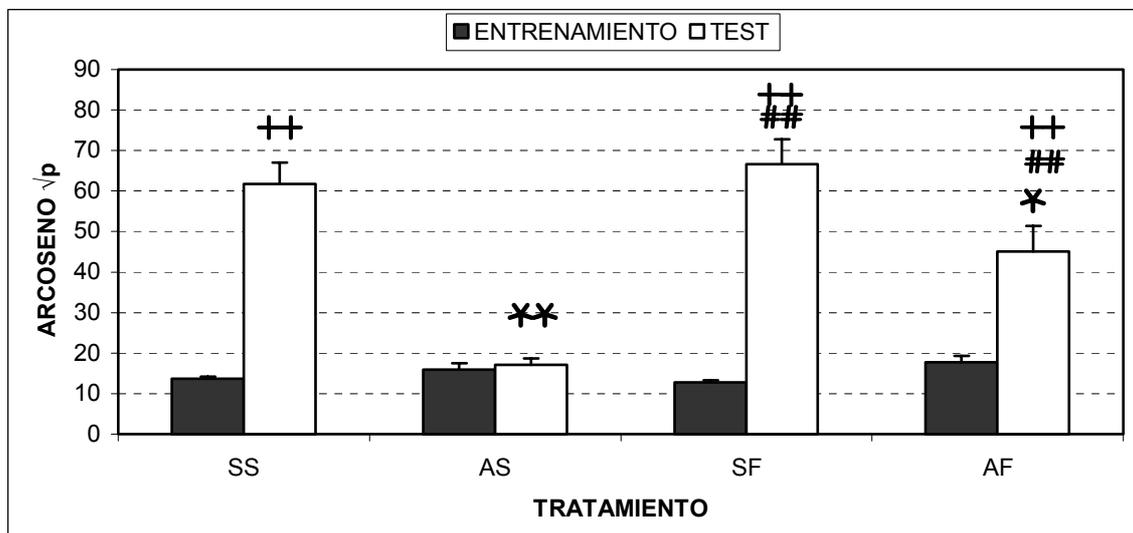


Figura 13.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, SF: salino-0.3 mg/kg de fiosostigmina, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino y AF: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fiosostigmina. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ vs SS, ## $p < 0.01$ vs AS, y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test (machos: $F_{3,51} = 7.48$, $p < 0.01$ y hembras: $F_{3,50} = 12.34$, $p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos de machos: AS y AF versus SS ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente) y SF versus AF ($p < 0.05$); y en los de hembras: AS versus SS ($p < 0.01$), y SF y AF versus AS ($p < 0.01$) (ver Figuras 13.3 y 13.4).

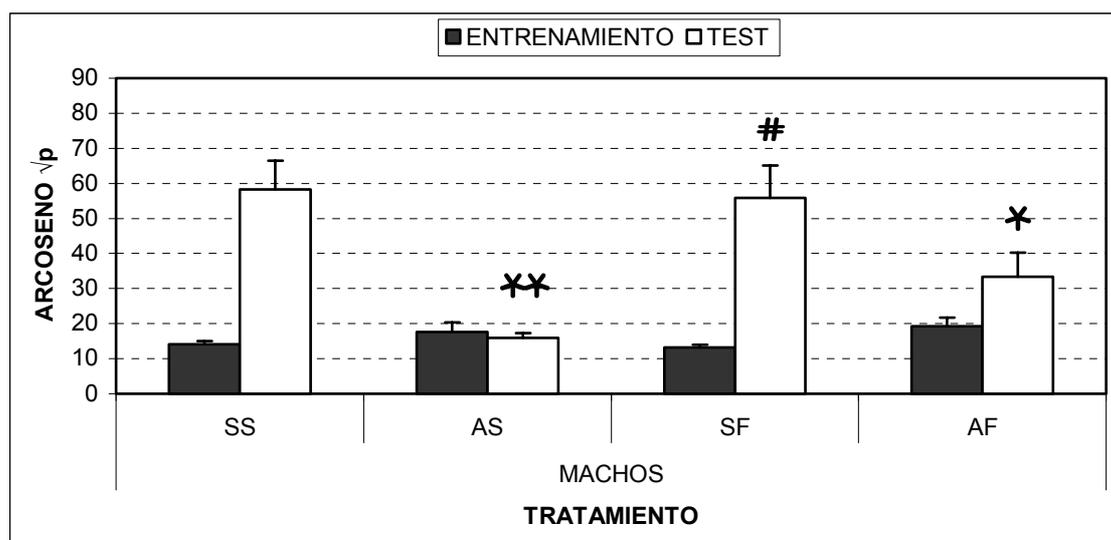


Figura 13.3. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, SF: salino-0.3 mg/kg de flosostigmina, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino y AF: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de flosostigmina. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ vs SS, y # $p < 0.05$ vs AS.

Además, se encontraron diferencias globales estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test, con $F_{1,101} = 7.24$, $p < 0.01$; presentando las hembras latencias mayores que los machos (ver Figura 13.5).

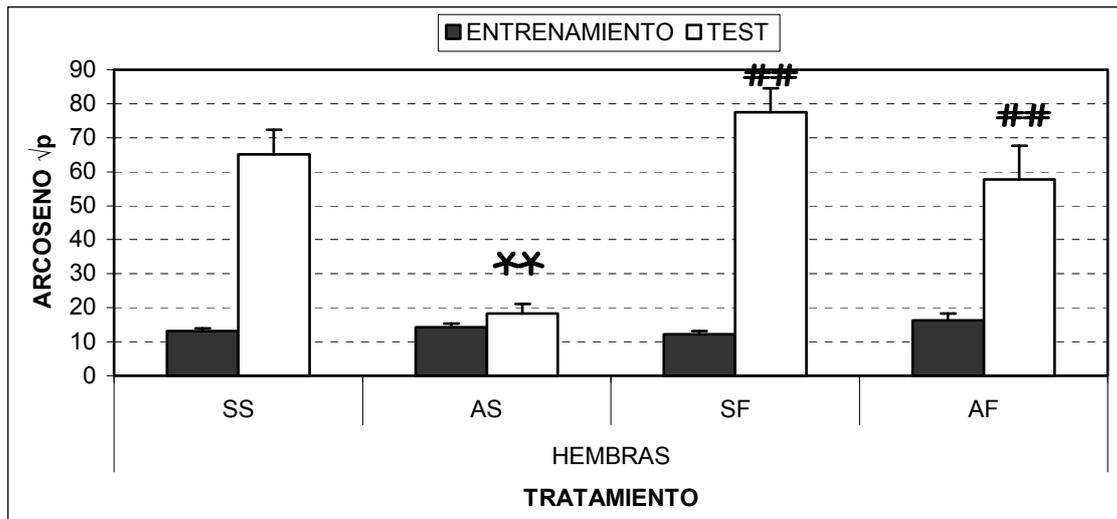


Figura 13.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, SF: salino-0.3 mg/kg de fisostigmina, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino y AF: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina. ** $p < 0.01$ vs SS y ## $p < 0.01$ vs AS.

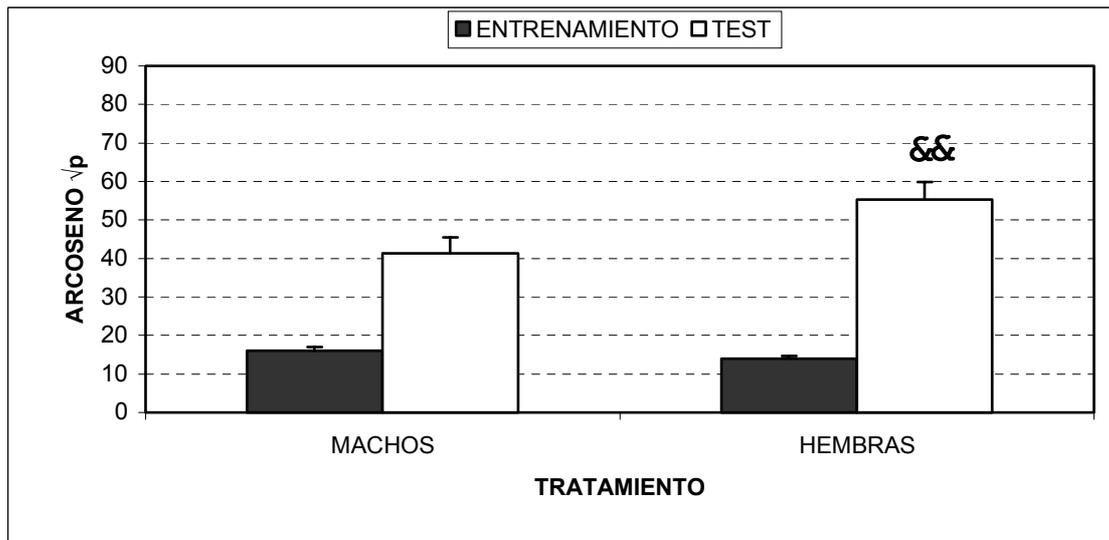


Figura 13.5. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de: salino, 5 mg/kg de amitriptilina y 0.3 mg/kg de fisostigmina. && $p < 0.01$ vs machos.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la t de Student en todos los tratamientos (SS: $t_{27} = 9.08$, $p < 0.01$; SF: $t_{27} = 8.71$, $p < 0.01$ y AF: $t_{26} = 4.21$, $p < 0.01$), excepto en el grupo tratado con AS ($t_{26} = 0.69$, n.s.) (ver Figura 13.2). También, aparecieron diferencias estadísticamente significativas al realizar dicho análisis en cada sexo por separado; siendo las comparaciones significativas en los siguientes grupos de machos: SS ($t_{13} = 5.62$, $p < 0.01$), SF ($t_{13} = 4.57$, $p < 0.01$) y AF ($t_{13} = 2.12$, $p = 0.05$); y de hembras: SS ($t_{13} = 7.17$, $p < 0.01$), SF ($t_{13} = 8.99$, $p < 0.01$) y AF ($t_{12} = 4.05$, $p < 0.01$) (ver Figura 13.6).

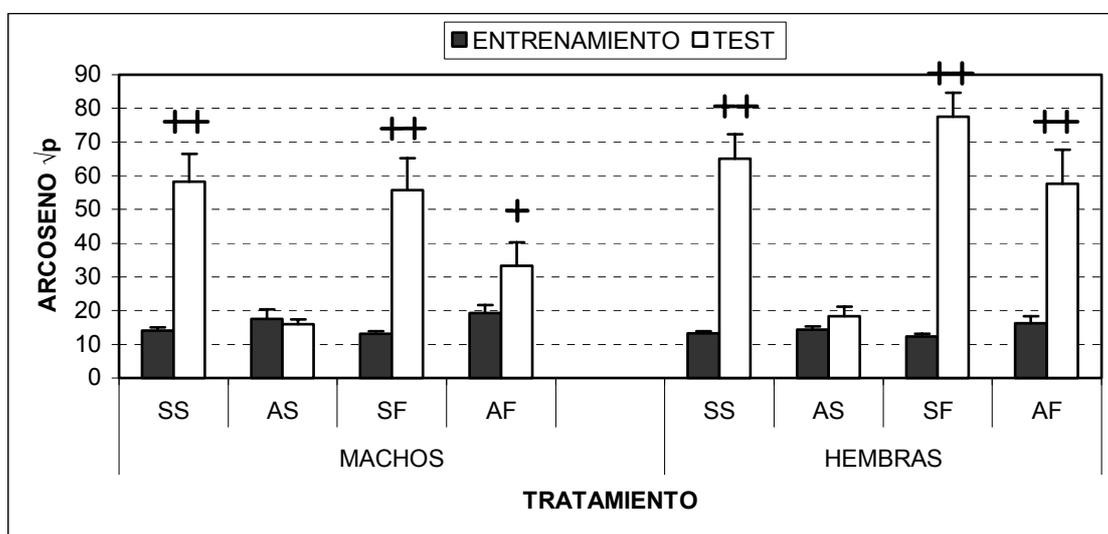


Figura 13.6. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, SF: salino-0.3 mg/kg de fiosostigmina, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino y AF: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fiosostigmina. + $p < 0.05$ y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

13.4. DISCUSIÓN

En este experimento se ha estudiado el efecto de la administración aguda preentrenamiento de una única dosis de amitriptilina y la administración postentrenamiento de una dosis de fisostigmina, sobre las latencias de respuesta de la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

Los resultados obtenidos en el presente experimento, nos indicaron que los grupos control salino-salino (SS) y salino-fisostigmina (SF) mostraron un claro aprendizaje en ambos sexos, ya que las latencias de cruce en el test fueron mucho más largas que en el entrenamiento. Sin embargo, la administración de 5 mg/kg de amitriptilina 30 minutos antes del entrenamiento, impidió la adquisición y/o consolidación de la memoria en el grupo de machos y de hembras (ver Figura 13.6.). Este efecto deteriorante en la memoria, se ha ido viendo en experimentos anteriores en los que hemos utilizado esta dosis (Experimentos 3 y 5). El déficit que provoca dicho fármaco sobre la memoria, también se ha observado en otros estudios experimentales (e.g. Pavone y cols., 1997; Sansone y cols., 1999) y en nuestro grupo de investigación (e.g. Everss y cols., 2005; Parra y cols., 2006).

La administración de 0.3 mg/kg de fisostigmina inmediatamente después del entrenamiento resultó tener una tendencia a la mejora, cuando es administrada sin antidepressivo (SF) al compararla con el grupo control (SS) en hembras; aunque estos datos no fueron estadísticamente significativos. Por lo que, podemos decir que hay que mantener dudas con respecto a este efecto, debido a que hablamos de una tendencia. Se ha observado en ratas que previamente les han lesionado el núcleo basal, que al administrar dicho agonista colinérgico ha mejorado su memoria (Santucci y Haroutunian, 2004). Aunque, debemos tener en cuenta que, en nuestro caso, hemos

administrado el fármaco, en ese grupo en concreto, a sujetos sin utilizar otro fármaco que pueda deteriorar la memoria, ya que se ha administrado junto con suero fisiológico. Sin embargo, en este estudio que acabamos de mencionar, se ha trabajado con sujetos no sanos, debido a que tienen el cerebro dañado por manipulación. Pero, en nuestro grupo de investigación sí que se ha observado que la dosis de 0.2 mg/kg de fisostigmina administrada sola, mejora la retención en una prueba de natación forzada en ratones (Martos y cols., 1999; Parra y cols., 1999b).

Al observar los resultados obtenidos al realizar comparaciones entre entrenamiento y test en los grupos en los que hubo coadministración (amitriptilina-fisostigmina), sí que se produjo aprendizaje en ambos sexos, siendo dicho aprendizaje mayor en hembras que en machos. Cuando es administrado este agonista colinérgico con un fármaco deteriorante de la memoria como es la amitriptilina o a sujetos con daño cerebral, se ha observado que revierte el déficit, tanto de manera aguda (Beracochea y cols., 2004; Zarrindast y cols., 2006) como crónica (Csernansky y cols., 2005; Dong y cols., 2005; Hallam y cols., 2004). Aunque, existen algunos estudios que también nos indican que hay ausencia de efecto al coadministrar fisostigmina con antagonistas NMDA (DL-AP5 y MK-801) por vía intracerebral (en la amígdala y en el hipocampo) en ratas en una tarea de evitación inhibitoria, pero cuando se administra sola la fisostigmina sí que resulta beneficiosa (Jafari-Sabet, 2006a, 2006b).

En el presente experimento se ha observado un efecto de la fisostigmina favorecedor de la memoria en los grupos de machos y hembras a los que se les administró amitriptilina y posteriormente fisostigmina (AF), al compararlos con el grupo amitriptilina-salino (AS); siendo más significativo dicho efecto en el grupo de hembras. Estos resultados, parecen indicar que este último fármaco contrarresta el efecto deteriorante que ocasiona el antidepresivo; ya que existen muchos estudios que

han demostrado que la fisostigmina en diferentes dosis provoca un efecto beneficioso en la memoria. Es decir, este agonista colinérgico facilita la memoria en la mayor parte de los estudios experimentales encontrados en la literatura en animales (e.g. Zarrindast y cols., 2006) y en humanos (e.g. Freo y cols., 2005). Zarrindast y cols. (2006), al experimentar con ratones, mostraron que la administración intracerebroventricular de morfina antes del entrenamiento en evitación inhibitoria, provocaba amnesia, y al administrar después del entrenamiento fisostigmina decrecía la amnesia provocada por dicha morfina; indicándonos que los sistemas dopaminérgicos y colinérgicos jugaban un papel muy importante sobre estos efectos en la memoria. Además, estudios hechos con humanos ancianos con enfermedad de Alzheimer, como el realizado por Freo y cols. (2005), en el que administraron por vía intravenosa suero fisiológico y fisostigmina, observaron que el grupo de pacientes que recibieron el fármaco mejoró significativamente su memoria de trabajo.

Creemos que el deterioro de evitación inhibitoria que produce la amitriptilina (y quizás también otros antidepresivos) está, al menos en parte, mediado por su acción anticolinérgica; ya que afirmamos que la amitriptilina es un potente anticolinérgico (Sein y cols, 2005). Es decir, actúa sobre el sistema colinérgico de manera negativa, como por ejemplo, bloqueando los receptores postsinápticos muscarínicos (Stahl, 2002).

En el presente experimento se han observado diferencias de sexo globales, independientemente de la dosis y fármaco administrado, mostrando las hembras mayores latencias que los machos en el test (ver Figura 13.5.); implicando con ello, que las hembras realizaron mejor la tarea de aprendizaje. Se han encontrado diferencias de sexo en diversos estudios y por diferentes causas, tanto en nuestro grupo de investigación (Everss y cols., 2005; Monleón y cols., 1998, 2002; Parra y cols., 1999b, 2002; Vinader-Caerols y cols., 2006) como en otros trabajos experimentales (Cattaneo y

cols., 2006; Frackiewicz y cols., 2000; Kelly y cols., 1999; Martényi y cols., 2001; Rhodes y Rubin, 1999; Segovia y cols., 1999; Suen y Morris, 2006); siendo muy probable que sigamos encontrando dichas diferencias en futuras investigaciones experimentales tanto propias como ajenas a nuestro grupo de trabajo. Todo lo dicho, nos pone de manifiesto lo importante que es incluir hembras, no solo machos, como sujetos experimentales en este tipo de estudios.

Además, diremos que en el siguiente experimento sería interesante trabajar con la misma dosis de amitriptilina (5 mg/kg) preentrenamiento y con diferentes dosis de fisostigmina postentrenamiento, todas ellas administradas de manera aguda; para observar si se sigue viendo que éste último fármaco contrarresta el déficit que produce dicho antidepresivo en la memoria. Es decir, se mantendrá el mismo procedimiento espacio-temporal, de administración y parámetros, que hemos utilizado en este experimento.

14. EFECTO AGUDO
DE AMITRIPTILINA PREENTRENAMIENTO Y
VARIAS DOSIS DE FISOSTIGMINA
POSTENTRENAMIENTO EN LA EVITACIÓN
INHIBITORIA EN RATONES MACHOS Y
HEMBRAS (*EXPERIMENTO 8*)

14.1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se sigue investigando sobre el sistema colinérgico, la cognición y la fisostigmina (Bently y cols., 2004; Csernansky y cols., 2005; Gais y Born, 2004; Rogers y Kesner, 2003, 2004). Además, de estudiar como actúa este fármaco en la memoria en diferentes tareas de aprendizaje (Freo y cols., 2005; Hallam y cols., 2004; Singh y Parle, 2003), incluyendo entre ellas la evitación inhibitoria (Jafari-Sabater, 2006, Nakagawasai y cols., 2006; Santucci y Haroutunian, 2004; Zarrindast y cols., 2006). En el anterior experimento de la presente tesis doctoral ya hemos utilizado dicho fármaco, el cual tiene un efecto positivo sobre el aprendizaje (ver Apartados 13.3 y 13.4). Su administración aguda postentrenamiento revertió el efecto de amitriptilina sobre la evitación inhibitoria en sujetos machos y hembras (Experimento 7), efecto que quizás hubiese sido más evidente utilizando otras dosis, mayores o menores. Por eso, en este experimento se quiso estudiar la administración de amitriptilina preentrenamiento y tres dosis de fisostigmina postentrenamiento en la evitación inhibitoria en ratones de ambos sexos. Es decir, se diseñó este experimento, como ha ocurrido en los últimos realizados en esta tesis, para ver su intervención en el sistema colinérgico y así estudiar la curva dosis-respuesta en el efecto observado.

Por otra parte, las dosis que hemos utilizado han sido 0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg de fisostigmina, para ver cómo actúan en esta tarea de aprendizaje y memoria con la que hemos estado trabajando hasta ahora. La dosis intermedia (0.3 mg/kg) que usaremos en este experimento, ha sido la única con la que hemos trabajado en el experimento anterior, y como ha sido efectiva, nos ha parecido interesante añadir una mayor y otra menor. Sin embargo, no podemos olvidar que la decisión que hemos tomado está basada en la literatura, ya que se ha experimentado con diversas dosis (Beracochea y cols., 2004; Csernansky y cols., 2005; Dong y cols., 2005; Mach y cols., 2004; Mishima y

cols., 2002; Nakagawasai y cols., 2006; Santucci y Haroutunian, 2004; Singh y Parle, 2003; Ukai y Kin, 2002); aunque, algunas de ellas no han sido efectivas (e.g. Hallam y cols., 2004; Parra y cols., 1999b).

Además, seguiremos utilizando ratones machos y hembras para ver si aparecen diferencias entre ambos sexos al coadministrar amitriptilina y varias dosis de fisostigmina. Hemos visto a lo largo de esta tesis doctoral, que los fármacos no actúan de la misma forma en los sujetos machos que en las hembras al observar que la ejecución de la tarea de evitación inhibitoria ha variado, en ocasiones, entre ambos sexos. Este hecho lo podemos ver en los resultados obtenidos en algunos de los experimentos de dicha tesis, como es el caso de los Experimentos: 4, 5 y 7. Por ello, consideramos relevante la inclusión de hembras en este tipo de estudios, especialmente una vez visto la prevalencia del trastorno depresivo en mujeres con respecto a los hombres.

14.2. MATERIAL Y MÉTODOS

14.2.1. Sujetos

Se utilizaron un total de 140 ratones (70 machos y 70 hembras) de la cepa CD1, importados de CRIFFA (Lyon, Francia) al principio del experimento, y se eliminaron 5 machos y 3 hembras de todos ellos por baja experimental. A su llegada al Laboratorio fueron alojados bajo las mismas condiciones que se han descrito en el Apartado 7.2.1. de esta tesis doctoral.

14.2.2. Fármacos

Para este experimento, se usó clorhidrato de amitriptilina y salicilato de fisostigmina (Sigma-Aldrich Química, Madrid), preparados como se detalla en el primer

experimento (ver Apartado 7.2.2.). Los fármacos fueron administrados i.p. en un volumen de 0.01 ml/g de peso corporal. Las dosis utilizadas fueron de 5 mg/kg de amitriptilina, y 0.15 mg/kg, 0.3 mg/kg y 0.6 mg/kg de fisostigmina.

14.2.3. Aparatos

Se utilizó, como hasta ahora, la misma caja de evitación inhibitoria y la de aislamiento, usadas en los experimentos anteriores, que ya han sido descritas con anterioridad en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.3.).

14.2.4. Diseño experimental

Los animales se distribuyeron al azar en 4 grupos por cada sexo, donde los cuales recibieron 30 minutos antes del entrenamiento su administración correspondiente por vía intraperitoneal de forma aguda: suero fisiológico (S) ó 5 mg/kg de amitriptilina (A), e inmediatamente después del entrenamiento recibieron: salino (S), 0.15 mg/kg (F1), 0.3 mg/kg (F2) ó 0.6 mg/kg (F3) de fisostigmina. Es decir, todos los sujetos pasaron por dos administraciones, formando los siguientes grupos: SS (salino-salino), AS (5 mg/kg de amitriptilina-salino), AF1 (5 mg/kg de amitriptilina-0.15 mg/kg de fisostigmina), AF2 (5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina) y AF3 (5 mg/kg de amitriptilina-0.6 mg/kg de fisostigmina).

14.2.5. Procedimiento

Los animales experimentales pasaron por la prueba de evitación inhibitoria en orden aleatorio. Treinta minutos antes de introducir a los sujetos en la caja de evitación, se les dio la primera administración, siendo el procedimiento del ensayo exactamente igual que el expuesto en el Experimento 2 de la presente tesis (ver Apartado 8.2.5.).

Inmediatamente después del entrenamiento el animal se extrajo de dicha caja, y se le administró su segunda dosis correspondiente al grupo al que pertenecía.

La fase de test fue realizada 24 horas después de la fase de entrenamiento, de la misma manera que en los experimentos anteriores de esta tesis doctoral. El diseño de dicho experimento aparece gráficamente esquematizado en la Figura 14.1.

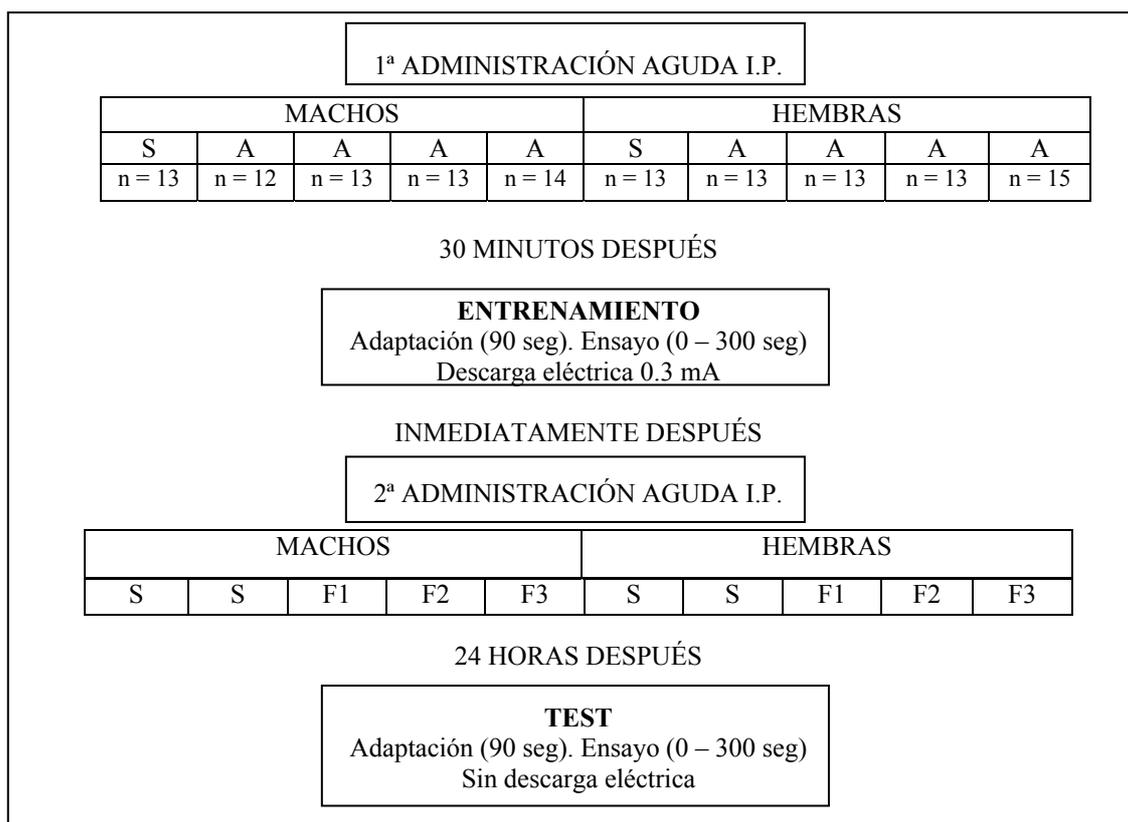


Figura 14.1. Diseño y procedimiento del Experimento 8. I.P.: Intraperitoneal, S: salino, A: 5 mg/kg de amitriptilina, F1: 0.15 mg/kg de fisostigmina, F2: 0.3 mg/kg de fisostigmina y F3: 0.6 mg/kg de fisostigmina, n: número de sujetos por grupo.

14.2.6. Análisis estadístico

Los datos se evaluaron utilizando la misma estadística paramétrica y los mismos análisis que los que se emplearon en el Experimento 1 (ver Apartado 7.2.6.).

14.3. RESULTADOS

Durante la fase de entrenamiento, la variable Tratamiento alcanzó la significación estadística ($F_{4,122} = 5.27$, $p < 0.01$); siendo la comparación post-hoc estadísticamente significativa en los siguientes casos: AS y AF3 versus SS ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente) y AF2 versus AS ($p < 0.05$).

En el test, la variable Tratamiento, también fue estadísticamente significativa ($F_{4,122} = 17.65$, $p < 0.01$), y posteriormente la prueba post-hoc de Newman-Keuls salió significativa estadísticamente en los casos: AS, AF1, AF2 y AF3 versus SS ($p < 0.01$), junto con AF1, AF2 y AF3 versus AS ($p < 0.01$); donde dichos grupos presentaron latencias menores que el grupo SS. Asimismo, los grupos que recibieron fisostigmina (AF1, AF2 y AF3) presentaron latencias significativamente mayores que el grupo AS ($p < 0.01$ en todos los casos) (ver Figura 14.2.).

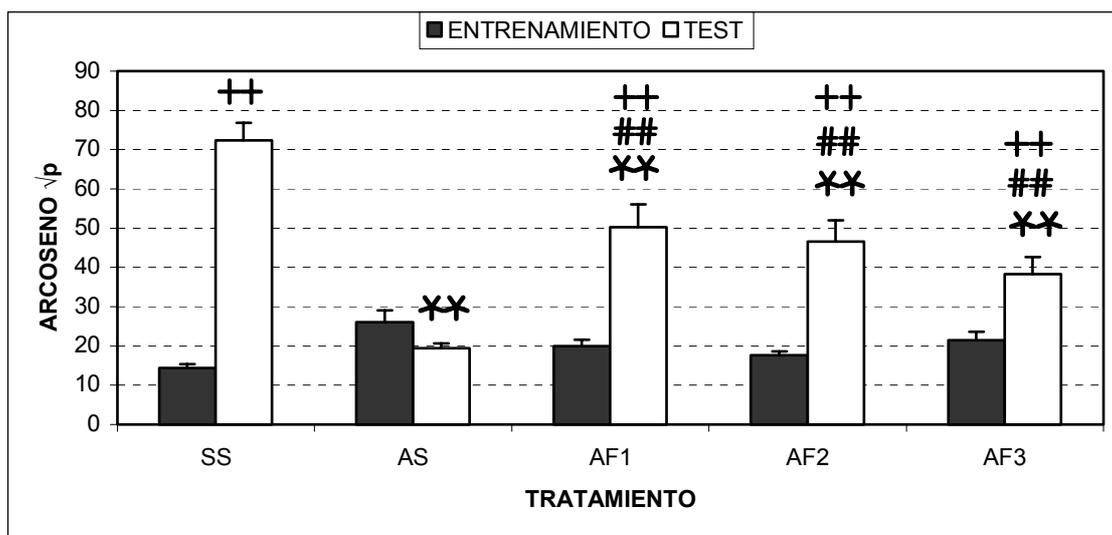


Figura 14.2. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, AF1: 5 mg/kg de amitriptilina-0.15 mg/kg de flosostigmina, AF2: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de flosostigmina y AF3: 5 mg/kg de amitriptilina-0.6 mg/kg de flosostigmina. ** $p < 0.01$ vs SS, ## $p < 0.01$ vs AS, y + $p < 0.05$ y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento.

Al realizar el análisis de varianza por separado en machos y hembras, los resultados nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en los machos con $F_{4,60} = 7.80$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: AS, AF1, AF2 y AF3 versus SS ($p < 0.01$), y AF1 y AF3 versus AS ($p < 0.05$) (ver Figura 14.3.).

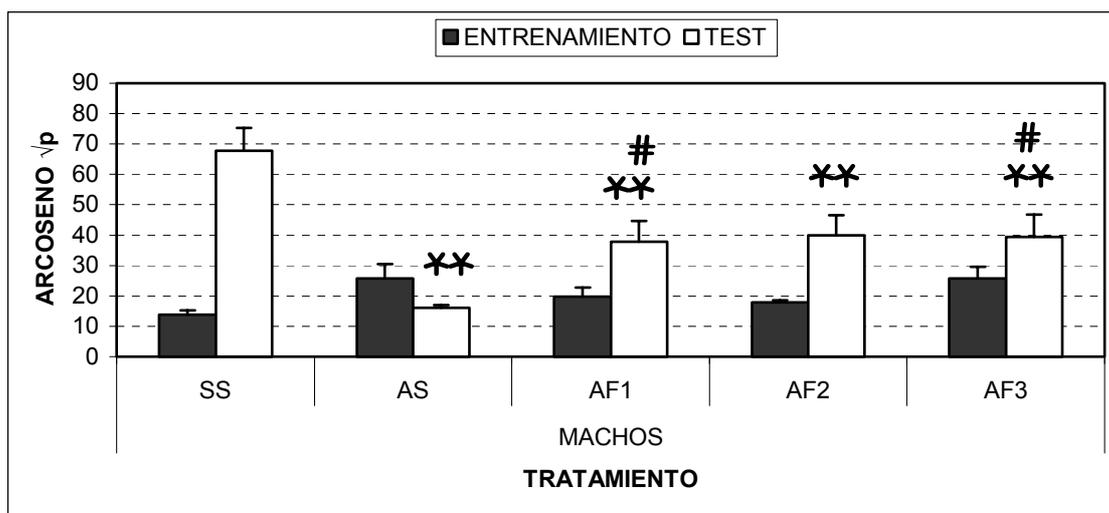


Figura 14.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arco seno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones macho, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, AF1: 5 mg/kg de amitriptilina-0.15 mg/kg de fisostigmina, AF2: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina y AF3: 5 mg/kg de amitriptilina-0.6 mg/kg de fisostigmina. ** $p < 0.01$ vs SS y # $p < 0.05$ vs AS.

Además, los resultados también nos indicaron que el Tratamiento fue estadísticamente significativo en la fase de test en las hembras con $F_{4,62} = 11.22$ ($p < 0.01$). El post-hoc obtuvo significación estadística en los casos: AS y AF3 versus SS ($p < 0.01$), AF2 versus SS ($p < 0.05$), y AF1 y AF2 versus AS ($p < 0.01$) (ver Figura 14.4).

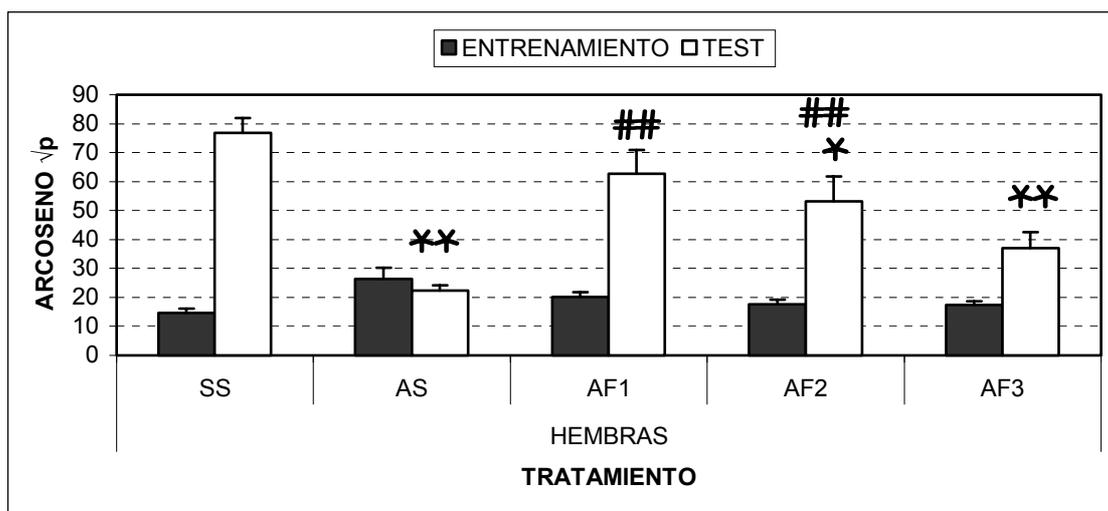


Figura 14.4. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arco seno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones hembra, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, AF1: 5 mg/kg de amitriptilina-0.15 mg/kg de fisostigmina, AF2: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina y AF3: 5 mg/kg de amitriptilina-0.6 mg/kg de fisostigmina. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ vs SS y ## $p < 0.01$ vs AS.

Se han encontrado diferencias globales estadísticamente significativas entre machos y hembras en la fase de test, con $F_{1,122} = 6.31$, $p < 0.01$; presentando las hembras latencias mayores que los machos (ver Figura 14.5). Además, también han habido diferencias entre ambos sexos en la misma fase de test, concretamente, en el grupo AF1 ($F_{1,122} = 6.31$, $p < 0.05$) (ver Figura 14.6).

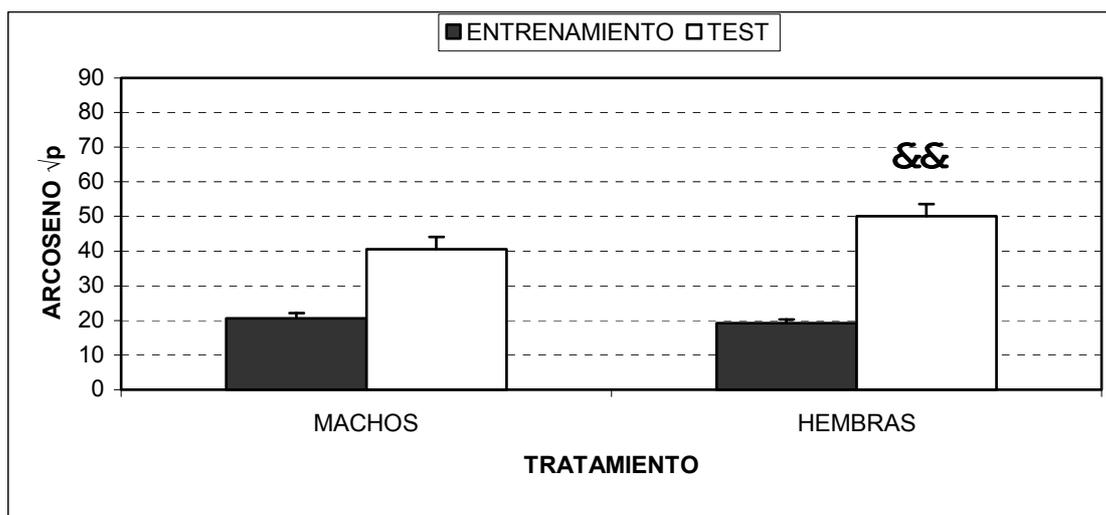


Figura 14.5. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de: salino, 5 mg/kg de amitriptilina, y 0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg de fisostigmina. && $p < 0.01$ vs machos.

Las comparaciones entre entrenamiento y test, juntando machos y hembras, fueron estadísticamente significativas con la *t* de Student en todos los tratamientos (SS: $t_{25} = 13.13$, $p < 0.01$; AS: $t_{24} = 2.10$, $p < 0.05$; AF1: $t_{25} = 4.82$, $p < 0.01$; AF2: $t_{25} = 4.90$, $p < 0.01$ y AF3: $t_{29} = 3.58$, $p < 0.01$); siendo las latencias de cruce en el test mayores que en el entrenamiento, excepto en el grupo AS que fue en sentido contrario (las latencias de test fueron inferiores que en el entrenamiento) (ver Figura 14.2).

Al realizar dicho análisis en cada sexo por separado, las comparaciones fueron estadísticamente significativas en los siguientes grupos de machos: SS ($t_{12} = 7.42$, $p < 0.01$), AF1 ($t_{12} = 2.34$, $p < 0.01$) y AF2 ($t_{12} = 3.20$, $p = 0.01$), con la excepción de: AS ($t_{11} = 2.08$, n.s.) y AF3 ($t_{13} = 1.81$, n.s.); y de hembras: SS ($t_{12} = 12.24$, $p < 0.01$), AF1

($t_{12} = 4.76$, $p < 0.01$), AF2 ($t_{12} = 3.77$, $p < 0.01$) y AF3 ($t_{13} = 3.36$, $p < 0.01$), excepto en el grupo AS ($t_{12} = 0.90$, n.s.) (ver Figura 14.6.).

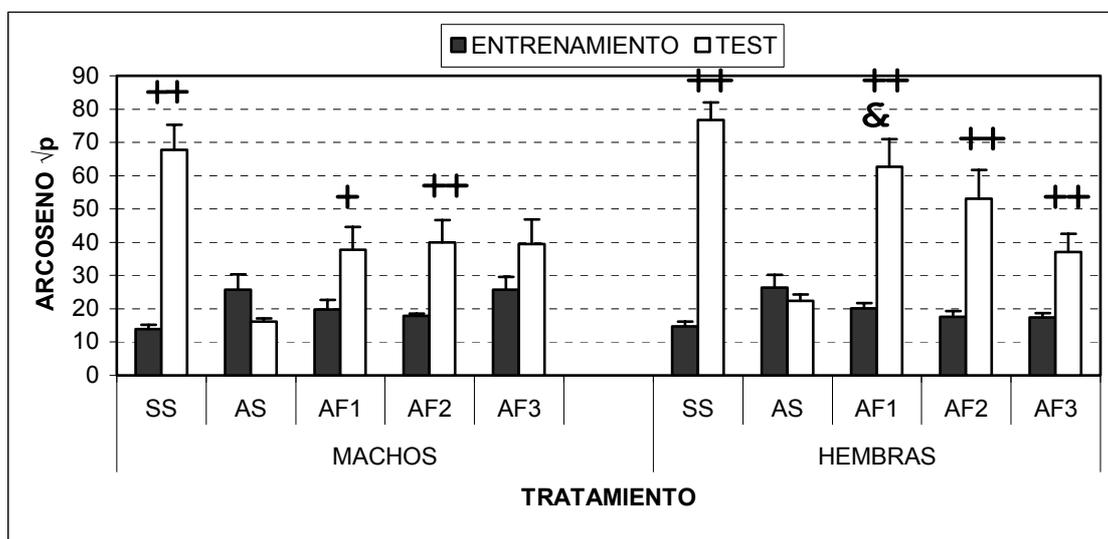


Figura 14.6. Medias (+ error típico de la media, ETM) del arcoseno \sqrt{p} sobre las latencias de cruce en la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras, con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA; en el efecto de la administración aguda I.P. Preentrenamiento y Postentrenamiento de SS: salino-salino, AS: 5 mg/kg de amitriptilina-salino, AF1: 5 mg/kg de amitriptilina-0.15 mg/kg de fisostigmina, AF2: 5 mg/kg de amitriptilina-0.3 mg/kg de fisostigmina y AF3: 5 mg/kg de amitriptilina-0.6 mg/kg de fisostigmina. + $p < 0.05$ y ++ $p < 0.01$ vs entrenamiento y & $p < 0.05$ vs machos.

14.4. DISCUSIÓN

En el presente experimento, se ha estudiado el efecto de la administración aguda preentrenamiento de 5 mg/kg de amitriptilina y la administración postentrenamiento de tres dosis de fisostigmina (0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg), sobre las latencias de respuesta de la evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

Los resultados obtenidos mostraron que en el grupo control se observó un claro aprendizaje, tanto juntando machos y hembras como por separado; ya que las latencias de cruce en el test fueron mucho más largas que en el entrenamiento. El grupo al que se le administró amitriptilina antes del entrenamiento (y salino después de él) no obtuvo aprendizaje, tanto juntando ambos sexos como por separado (ver Figuras 14.2., 14.3. y 14.4.). Este efecto amnésico lo hemos ido observando en la mayor parte de los experimentos de esta tesis (Experimentos 3, 5 y 7), donde las latencias de respuesta han sido inferiores comparadas con las del grupo control. Además, en el grupo AS se produjo tal déficit que las latencias en el test han sido incluso menores que en el entrenamiento, de tal manera que ha impedido la adquisición/consolidación durante la fase de entrenamiento. Dicho efecto también se ha ido observando en la presente tesis, no tan pronunciado con esta dosis (Experimento 7), pero más destacado con dosis más altas de este antidepresivo (Experimento 2, 3, 5 y 6).

Los análisis en el test, independientemente del sexo, mostraron que todos los animales tratados con amitriptilina preentrenamiento y fisostigmina postentrenamiento (AF1, AF2 y AF3), obtuvieron diferencias estadísticamente significativas al realizar las comparaciones con el grupo salino en el condicionamiento de evitación inhibitoria; por lo que, disminuyeron las latencias de cruce del test con respecto al grupo control (ver Figura 14.2.). Además, al realizar las prueba estadística por separado en machos y hembras, los resultados alcanzaron el nivel de significación estadística en todos los machos a los que se les administró antidepresivo y las tres dosis del agonista colinérgico (ver Figura 14.3.); aunque, en las hembras solo ocurrió éste efecto en los grupos: AF2 y AF3 (ver Figura 14.4.), por lo que se observa una diversidad sexodimórfica dependiente de dosis. Quizás, se podría pensar que el efecto de las dosis es diferente para cada sexo, debido a una mayor actividad enzimática en el hígado de las hembras (Shapiro y cols., 1995) que puede reducir más en ellas la cantidad de fármaco disponible; o también,

porque existen diferencias en la absorción, biodisponibilidad, o metabolización del fármaco (Pollock, 1997; Yonkers y cols., 1992).

Las diferencias que hemos obtenido en los grupos que se ha administrado conjuntamente amitriptilina y fisostigmina, y se han comparado con el grupo control; también las hemos ido viendo a lo largo de los experimentos realizados en la presente tesis doctoral al coadministrar la amitriptilina con oxotremorina, no estadísticamente significativo pero sí una tendencia al observar las medias de las latencias de respuesta (Experimentos 5 y 6). Es interesante añadir, que los resultados pueden estar afectados por la actividad motora, ya que se ha observado en la literatura que la fisostigmina es un fármaco que puede intervenir en el aparato locomotor, actuando sobre la ejecución de la tarea de los ratones, aumentando la actividad dependiente de dosis (Mach y cols., 2004). Además, también pueden influir otros factores en la realización de la tarea, como ser en componentes emocionales, ya que se ha visto en investigación que la fisostigmina puede actuar sobre la ansiedad (e.g. Beracochea y cols., 2004).

Mohapel y cols. (2005) han observado que se incrementa la neurogénesis en el hipocampo cuando la fisostigmina es administrada en pacientes que tienen reducida la formación hipocampal debido a la enfermedad de Alzheimer. Este efecto de daño cerebral producido por una enfermedad, podríamos equipararlo o parecerse al provocado cuando manipulamos la memoria al administrar un fármaco que la deteriore, como es en nuestro caso la amitriptilina. Es posible que este déficit que ocasiona dicho antidepresivo cuando se administra junto con suero fisiológico (AS) o solo, lo pudiéramos asemejar a una memoria dañada por enfermedad y que cuando administramos junto con fisostigmina o coadministrado (AF), el aprendizaje mejora considerablemente; pudiendo haberse producido un aumento de la neurogénesis en áreas cerebrales. Si observamos las Figuras 14.2., 14.3. y 14.4., veremos que los grupos

tratados con ambos fármacos (AF1, AF2 y AF3) juntando ambos sexos, y por separado (machos: AF1 y AF3, y hembras: AF1 y AF2) mejoraron significativamente el aprendizaje al compararlos con el grupo AS; ya que las latencias de cruce en la fase de test fueron más largas en comparación con el grupo al que se le administró solo el antidepresivo (AS). Sin embargo, debemos decir que la neurogénesis es un efecto más a largo plazo; por lo que, es posible que necesitemos mucho más tiempo para poder afirmar que es lo que ha ocurrido. Es decir, lo más probable que haya pasado es que dicha actuación haya sido más directamente sobre la acetilcolina que sobre la neurogénesis.

Los resultados obtenidos al realizar comparaciones entre entrenamiento y test en los grupos en los que hubo coadministración de amitriptilina y fisostigmina muestran que sí que se produjo aprendizaje en ambos sexos (ver Figura 14.6.). Es decir, en machos las dosis baja e intermedia de fisostigmina y en hembras las tres dosis, revierten el efecto amnésico que provoca la amitriptilina. Dicho efecto se ha observado en la literatura cuando se administra un fármaco que daña la memoria junto con uno que la favorece (Csernansky y cols., 2005; Dong y cols., 2005; Zarrindast y cols., 2006). Sin embargo, en otro estudio en el que se administró tacrina y fisostigmina en aprendizaje espacial, la fisostigmina no atenuó el deterioro ocasionado por la tacrina (Hallam y cols., 2004).

Se han encontrado diferencias de sexo globales en el Experimento 7, y se concretizan dichas diferencias al coadministrar ambos fármacos con la dosis baja de fisostigmina. Además, en este experimento las hembras han ejecutado mejor la tarea de evitación inhibitoria; deduciendo que los machos ejecutan peor la tarea de aprendizaje que las hembras. Este efecto o tendencia a que las hembras aprenden mejor que los machos, se ha observado a lo largo de los experimentos realizados en la presente tesis;

aunque, a veces hemos encontrado en la literatura lo contrario. Por ejemplo, Roof y Stein (1999) nos dicen que hay tendencia a que los machos aprendan más rápidamente que las hembras en aprendizaje espacial, ya que parece ser que utilizan diferentes tipos de estrategias para resolver la prueba. Pero también se ha observado en ratas que una exposición perinatal al estradiol (metabolito de la testosterona) producía una mayor agudeza en la adquisición de una tarea en un laberinto radial, manifestando machos y hembras diferentes estrategias de navegación como consecuencia de la intervención de esta hormona esteroide (Williams y Meck, 1991). Además, en humanos también hay constancia de que los hombres se desenvuelven mejor en situaciones espaciales que las mujeres (e.g. Maguire y cols., 1999).

Es relevante decir, si observamos la Figura 14.6., que parece ser que no hay un aumento en la efectividad de la fisostigmina, al aumentar la dosis, en contrarrestar la amitriptilina; sino más bien lo contrario. Por lo que, esto podría ser debido a que nos encontramos en una rama descendente de la curva dosis-respuesta, indicándonos que las diferencias obtenidas son dependientes de la dosis.

Podemos concluir que los resultados del presente experimento, están en la misma línea que el experimento anterior, en el sentido de que la fisostigmina revierte el efecto amnésico que produce la amitriptilina tanto en ratones machos como hembras; lo que indica una implicación, al menos en parte, del sistema colinérgico en el deterioro de evitación inhibitoria producido por la amitriptilina.

15. DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo principal de esta tesis doctoral ha sido el estudio de la intervención del sistema colinérgico en el efecto producido por la amitriptilina en una tarea de evitación inhibitoria en ratones machos y hembras.

El sistema colinérgico suele estar implicado y actúa sobre los procesos de aprendizaje y memoria, como es el caso, entre otros, de la enfermedad de Alzheimer (e.g. Gais y Born, 2004; Dong y cols., 2005); siendo la pérdida de la memoria la alteración más precoz de esta enfermedad y generalmente el déficit más importante, donde los circuitos neuronales implicados en el aprendizaje y la memoria son los más intensamente lesionados, produciéndose pérdidas en los marcadores colinérgicos corticales. La depresión, también es otro ejemplo de enfermedad en la que se ve afectado el sistema colinérgico, entre otros sistemas, provocando alteraciones en la memoria; es decir, existe una estrecha relación entre depresión y memoria (e.g. Burt y cols., 1995; Riedel y van Praag, 1995). Por todo ello, hemos pretendido esclarecer un poco más y aportar nuevos datos de la intervención del sistema colinérgico en el efecto producido por dicho antidepresivo en esta tarea de aprendizaje y memoria; detallando a continuación los resultados obtenidos.

El aprendizaje de los animales controles en evitación inhibitoria

Prácticamente todos los animales controles de la presente tesis doctoral aprendieron el condicionamiento de evitación inhibitoria en un único ensayo, es decir, las latencias de test aumentaron en comparación con las del entrenamiento (ver Tabla 1). La evaluación del aprendizaje se realizó a las 24 horas del entrenamiento. Además, en el Experimento 1, dicha evaluación también se hizo (junto a las 24 horas) a los 15 y a los 22 días y también hubo aprendizaje. Algunos autores han pasado el test a las 96 horas del entrenamiento (Pan, 1995) o incluso 2 meses después (Loscertales y cols.,

1998) observándose aprendizaje de evitación inhibitoria. En algunos de nuestros experimentos y debido a un buen aprendizaje, las latencias han sido tan altas en el test que casi han alcanzado la máxima posible (300 segundos), lo que se ha denominado a este hecho “efecto techo”. Sin embargo, en otros casos, las latencias obtenidas en el test han sido muy bajas, lo que quizás ha impedido que algunas comparaciones con los grupos que recibieron tratamiento llegaran a ser significativas.

El cambio de intensidad de 0.3 y 0.5 mA en el Experimento 1 y de 0.4 mA en el Experimento 6 se hizo para que las condiciones fuesen más sensibles y así detectar los resultados esperados, siendo las latencias muy similares a las de los demás. Hemos optado por utilizar, en la mayor parte de los experimentos de la presente tesis doctoral, la intensidad de 0.3 mA; ya que, al observar los resultados del Experimento 1 donde hemos utilizado la de 0.5 mA, parece ser que ha sido demasiado alta. Es decir, las latencias de respuesta encontradas en este experimento casi alcanzaron el “efecto techo” establecido por el procedimiento (duración máxima del ensayo: 300 segundos), y el efecto beneficioso que produjera cualquier fármaco administrado podría ser enmascarado por el efecto techo mencionado.

Tabla 1. Resumen de los resultados de aprendizaje en administración aguda de salino en evitación inhibitoria					
EXPERIMENTO	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST		
1	IDE	♂	0.3 y 0.5 A	0.3 y 0.5 ALP	0.3 y 0.5 No RA
		♀	0.3 y 0.5 A	0.3 y 0.5 ALP	0.3 y 0.5 RA
2	30AE – IDE	♂	A		
3	30AE	♂	A		
		♀			
4	IDE	♂	A		
		♀			
5, 6, 7 y 8	30AE - IDE	♂	A		
		♀			

NOTA 1: Efecto de la administración aguda intraperitoneal de salino en diferentes momentos (30AE: 30 minutos antes del entrenamiento, e IDE: inmediatamente después del entrenamiento) sobre evitación inhibitoria en machos (♂) y en hembras (♀), con dos intensidades de descarga eléctrica en el Experimento 1 (0.3 y 0.5 mA), con intensidad de 0.4 mA en el Experimento 6 y de 0.3 mA en el resto de ellos. Donde al realizar comparaciones entre entrenamiento y test se produjo: aprendizaje (A), evaluado a las 24 horas; aprendizaje a largo plazo (ALP), evaluado a los 15 días; recuerdo del aprendizaje (RA), evaluado a los 22 días; y no recuerdo del aprendizaje (No RA).

En el Experimento 1, hemos sometido a los sujetos a la caja de evitación inhibitoria siguiendo las condiciones establecidas por el procedimiento, pero teniendo en cuenta el paso del tiempo en tres periodos (24 horas, 15 y 22 días), y se observó que disminuyeron las latencias de respuesta en la fase de test; habiéndose producido cierto olvido. Teniendo en cuenta la literatura, podemos observar que si sometemos a los sujetos a una simple exposición nueva para ellos (por ejemplo, la actividad espontánea en campo abierto), vemos que tiene efectos moduladores sobre la evitación inhibitoria, y cuando dicha situación se presenta una hora después del entrenamiento interfiere en la consolidación de modo que impide memorizarla (Izquierdo y cols., 1999), pero cuando se presenta antes del test facilita el recuerdo (Izquierdo y cols., 2000b).

Administración aguda de amitriptilina en evitación inhibitoria

La administración aguda, de gran valor experimental pero poco valor terapéutico, ha mostrado en la presente tesis doctoral que según el momento de administración, la amitriptilina varía su acción (ver Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de los resultados de aprendizaje en administración aguda de amitriptilina en evitación inhibitoria						
EXPERIMENTO	DOSIS (mg/kg)	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST		
1	30	IDE	♂	0.3 y 0.5 A	0.3 y 0.5 ALP	0.3 y 0.5 RA
			♀	0.3 y 0.5 A	0.3 y 0.5 ALP	0.3 y 0.5 No RA
2	30	30AE – IDE(s)	♂	No A		
		30AE(s) – IDE	♂	A		
3	5	30AE	♂	No A		
			♀	No A		
	10		♂	No A		
			♀	No A		
	20		♂	No A		
			♀	Deterioro		
5	5	30AE – IDE(s)	♂	No A		
			♀	No A		
	10		♂	No A		
			♀	No A		
	15		♂	Deterioro		
			♀	No A		

Tabla 2. Resumen de los resultados de aprendizaje en administración aguda de amitriptilina en evitación inhibitoria (CONTINUACIÓN)

EXPERIMENTO	DOSIS (mg/kg)	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST
6	5	30AE – IDE(s)	♂	A
			♀	A
	7.5		♂	No A
			♀	No A
	10		♂	No A
			♀	No A
7	5	30AE – IDE(s)	♂	No A
			♀	
8	5	30AE – IDE(s)	♂	No A
			♀	

NOTA 2: Efecto de la administración aguda intraperitoneal de amitriptilina en diferentes momentos (30AE: 30 minutos antes del entrenamiento, e IDE: inmediatamente después del entrenamiento) sobre evitación inhibitoria en machos (♂) y en hembras (♀), con dos intensidades de descarga eléctrica en el Experimento 1 (0.3 y 0.5 mA), con intensidad de 0.4 mA en el Experimento 6 y de 0.3 mA en el resto de ellos; y también recibieron salino (s). Donde al realizar comparaciones entre entrenamiento y test se produjo: aprendizaje (A), evaluado a las 24 horas; aprendizaje a largo plazo (ALP), evaluados a los 15 días; recuerdo del aprendizaje (RA), evaluado a los 22 días; no aprendizaje (No A); no recuerdo del aprendizaje (No RA); y deterioro.

Observando los resultados obtenidos, la administración inmediatamente después del entrenamiento de amitriptilina (30 mg/kg) en ambos sexos produjo aprendizaje; no impidiendo la consolidación (Experimento 1 y 2), ni la memoria a largo plazo (Experimento 1); aunque no se produjo recuerdo en hembras a las que se les sometió a ambas intensidades de descarga eléctrica (0.3 y 0.5 mA) y en machos con intensidad de 0.3 mA (Experimento 1). Además, cuando se utilizan la misma dosis y otras dosis (5, 7.5, 10, 15, 20 y 30 mg/kg) de dicho antidepresivo administrado 30 minutos antes del entrenamiento, produce déficit en la adquisición de la memoria (no hay aprendizaje), y también en sujetos machos y hembras (Experimentos 2, 3, 5, 6, 7 y 8). Por lo que, cuando la administración se realiza antes del entrenamiento las latencias en la fase de test se reducen significativamente, pero no ocurre así cuando se administra después de dicho entrenamiento. Este resultado de no provocar efecto amnésico la amitriptilina cuando se administra postentrenamiento, se ha ido observando en nuestro grupo de investigación; pero discrepa con otro estudio también nuestro, donde la dosis de 30 mg/kg deteriora la consolidación en ambos sexos; aunque sí que coinciden estos resultados cuando la amitriptilina es administrada preentrenamiento, donde provoca déficit en la adquisición de la memoria (Everss y cols., 2005).

El no aprendizaje producido por la administración preentrenamiento de amitriptilina, se ha visto reflejado cuando las latencias en la fase de test han sido más cortas que en la fase de entrenamiento. Dicho efecto lo hemos observado en la presente tesis, con la dosis de 5 mg/kg en el Experimento 7 en machos y Experimento 8 en ambos sexos; y más destacado con otras dosis más altas: en el Experimento 2 en machos (30 mg/kg), Experimento 3 en ambos sexos (20 mg/kg), Experimento 5 en machos y hembras (15 mg/kg) y Experimento 6 en sujetos hembras (10 mg/kg). Además, este no aprendizaje se convierte en un gran deterioro, cuando los resultados estadísticos nos indican que significativamente se ha producido dicho efecto (ver Tabla 2); que es el

caso del Experimento 3 en hembras (20 mg/kg) y el Experimento 5 en machos (15 mg/kg), siendo las latencias de cruce en la fase de test inferiores a las del entrenamiento. Una manera de explicar estos efectos podría ser diciendo que el déficit que provoca la amitriptilina sobre la memoria, se debería a su antagonismo con los receptores muscarínicos, adrenérgicos α_1 e histaminérgicos H_1 (Riedel y van Praag, 1995) de los que el antidepresivo es uno de los más potentes (Richelson y Nelson, 1984; Richelson, 1987; Azanza, 2000) y que interfiere negativamente en muchos de los test empleados en seres humanos (Thompson, 1991; Amado-Boccaro y cols., 1995). Los fármacos que tienen una gran acción anticolinérgica deterioran el aprendizaje, mientras que los que carecen de dichas propiedades no tienen efectos o incluso lo mejoran, tanto en seres humanos como animales (Bammer, 1982; Riedel y van Praag, 1995; Amado-Boccaro y cols., 1995).

La mayor parte de los estudios realizados con la administración aguda de amitriptilina en el condicionamiento de evitación inhibitoria han medido su efecto sobre la adquisición, la consolidación o el recuerdo, al administrarla antes del entrenamiento (Shimizu-Sasamata y cols., 1993; Suzuki y cols., 1995; Takahashi y cols., 1995; Yamaguchi y cols., 1995; Takeuchi y cols., 1997), inmediatamente después (Kumar y Kulkarni, 1996; Everss y cols., 1999, 2005; Parra y cols., 2006) o antes del test (Klint, 1991) respectivamente. Nuestros resultados van, más o menos, en la línea de lo obtenido por la mayoría de ellos.

Administración aguda de oxotremorina en evitación inhibitoria

Si nos centramos en el Experimento 4, en el cual se ha trabajado con tres dosis de oxotremorina (0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg), diremos que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento al compararlo con el grupo control.

Aunque, si observamos las representaciones gráficas de los datos (ver Figuras 10.2, 10.3, 10.4 y 10.6) vemos que hay una tendencia a la mejora de la memoria; debido a que las latencias de cruce en la fase de test son más largas que en las del entrenamiento independientemente del sexo y por separado. Sin embargo, al realizar comparaciones entre la fase de entrenamiento y test, se observaron diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos, tanto de machos como de hembras; indicándonos que los animales realizaron bien la tarea de aprendizaje a la que les hemos sometido, de igual modo que en los Experimentos 5 y 6 (ver Tabla 3). Es decir, estos resultados se podrían ver apoyados por la literatura, porque hemos encontrado que dicho fármaco puede producir ausencia de efecto (e.g. Barros y cols., 2004; Doyle y Regan, 1993) y también puede favorecer la consolidación y la retención (Baratti y cols., 1983; Baratti y Kopf, 1996; Huygens y cols., 1980; Miranda y McGauh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a).

Además, después de observar los resultados obtenidos en el Experimento 5, podemos decir que la oxotremorina ejerce un efecto beneficioso en la consolidación de la memoria, independientemente del sexo, cuando se administró postentrenamiento 0.05 mg/kg y previamente preentrenamiento se había administrado salino, ya que las latencias de cruce en la fase de test fueron mayores que en la fase de entrenamiento (ver Figura 11.2.); por lo que, parece ser que se ha producido un efecto favorecedor en la memoria.

Administración aguda de fisostigmina en evitación inhibitoria

La fisostigmina, al igual que la oxotremorina, es un fármaco que se ha utilizado para la enfermedad de Alzheimer, ya que actúa sobre el sistema colinérgico (Cowburn y cols., 1996; Daversh y cols., 2003; Ladner y Lee, 1999; Mohapel y cols., 2005), entre

otros sistemas de neurotransmisión y áreas cerebrales implicadas, y como consecuencia de ello en procesos de aprendizaje y memoria. De la misma manera que la oxotremorina, podemos observar en los Experimentos 7 y 8 que las dosis de fisostigmina (0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg) también han producido un claro aprendizaje en ambos sexos cuando se han realizado comparaciones entre entrenamiento y test (ver Tabla 3), ya que las latencias de cruce en la fase de test fueron mucho más largas que en la fase de entrenamiento. Sin embargo, al igual que la oxotremorina, cuando se administra sola (Experimento 7) y se compara con el grupo control los resultados no fueron estadísticamente significativos; aunque hay una tendencia a la mejora en hembras (ver Figuras 13.4. y 13.6). Esta tendencia a que se beneficie la memoria cuando se administra la fisostigmina sola, puede respaldarse si observamos la literatura, ya que existen algunos trabajos que lo corroboran (e.g. Santucci y Haroutunian, 2004).

Coadministración aguda de amitriptilina y oxotremorina en evitación inhibitoria

El efecto deteriorante en la memoria cuando se administra la amitriptilina, ya se ha mostrado a lo largo de esta tesis doctoral y con anterioridad en este mismo apartado. Como uno de nuestros objetivos fundamentales es ver cual es la actuación e intervención del sistema colinérgico de este antidepresivo, nuestros resultados inciden a nivel de ejecución cognitiva, reflejando deterioro en la memoria cuando se administra amitriptilina; donde dicho déficit puede ser debido al efecto anticolinérgico de este fármaco (Knegtering y cols., 1994). Por ello, la coadministración de dicho antidepresivo con otros fármacos (como es la oxotremorina) que intervienen en este sistema de neurotransmisión, es esencial en este trabajo experimental.

Tabla 3. Resumen de los resultados de aprendizaje en administración aguda de oxotremorina o fisostigmina en evitación inhibitoria				
EXPERIMENTO	DOSIS (mg/kg)	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST
4	O-0.05	IDE	♂	A
			♀	
	O-0.1		♂	
			♀	
	O-0.2		♂	
			♀	
5	O-0.05	30AE(s) – IDE	♂	A
			♀	
6	O-0.1	30AE(s) – IDE	♂	A
			♀	
7	F-0.3	30AE(s) – IDE	♂	A
			♀	

NOTA 3: Efecto de la administración aguda intraperitoneal de oxotremorina (O) o fisostigmina (F) en diferentes momentos (30AE: 30 minutos antes del entrenamiento, e IDE: inmediatamente después del entrenamiento) sobre evitación inhibitoria en machos (♂) y en hembras (♀), con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA en el Experimento 6 y de 0.3 mA el resto de ellos; y también recibieron salino (s). Donde al realizar comparaciones entre entrenamiento y test se produjo aprendizaje (A).

Después de observar los resultados obtenidos y resumidos en la Tabla 4, podemos decir que se ha producido aprendizaje en los siguientes grupos que se administró amitriptilina preentrenamiento y oxotremorina postentrenamiento: (1) 5 mg/kg de amitriptilina y 0.05 mg/kg de oxotremorina en hembras (Experimento 5), (2) 5 mg/kg de amitriptilina y 0.1 mg/kg de oxotremorina en hembras (Experimento 6), y (3) 7.5 mg/kg de amitriptilina y 0.1 mg/kg de oxotremorina en machos (Experimento 6). Así pues, que la oxotremorina ha contrarrestado el efecto deteriorante del antidepresivo cuando se administra solo; ya que muchos estudios han mostrado que la oxotremorina postentrenamiento en diferentes dosis provoca un efecto beneficioso en la memoria (Baratti y cols., 1979, 1983, 1996; Huygens y cols., 1980; Miranda y McGaugh, 2004; Pavone y cols., 1993; Power y cols., 2003a). Además, este efecto también parece ser que ha ocurrido con la dosis de 10 mg/kg de amitriptilina preentrenamiento y postentrenamiento de oxotremorina en hembras, aunque los resultados no han sido estadísticamente significativos como con la dosis baja; por lo que, deberíamos hablar de una tendencia a la mejora (ver Figura 11.6.).

Tabla 4. Resumen de los resultados de aprendizaje en coadministración aguda de amitriptilina y oxotremorina en evitación inhibitoria				
EXPERIMENTO	DOSIS (mg/kg)	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST
5	5 - 0.05	30AE - IDE	♂	No A
			♀	A
	10 - 0.05		♂	Deterioro
			♀	No A
	15 - 0.05		♂	Deterioro
			♀	No A
6	5 - 0.1	30AE - IDE	♂	No A
			♀	A
	7.5 - 0.1		♂	A
			♀	No A
	10 - 0.1		♂	No A
			♀	No A

NOTA 4: Efecto de la coadministración aguda intraperitoneal de amitriptilina y oxotremorina en diferentes momentos (30AE: 30 minutos antes del entrenamiento, e IDE: inmediatamente después del entrenamiento) sobre evitación inhibitoria en machos (♂) y en hembras (♀), con intensidad de descarga eléctrica de 0.4 mA en el Experimento 6 y de 0.3 mA en el resto de ellos. Donde al realizar comparaciones entre entrenamiento y test se produjo: aprendizaje (A), no aprendizaje (No A) y deterioro.

Coadministración aguda de amitriptilina y fisostigmina en evitación inhibitoria

En el análisis realizado, al comparar entrenamiento y test, en los grupos a los que se les coadministró amitriptilina antes del entrenamiento y fisostigmina después de él, nos indicaron que se ha producido aprendizaje en ambos sexos con las dosis de 5 mg/kg de amitriptilina y 0.3 mg/kg de fisostigmina (Experimento 7). Este aprendizaje también se ha dado en el Experimento 8, donde las tres dosis de fisostigmina (0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg) ha revertido el efecto amnésico que provoca la amitriptilina, independientemente del sexo. Al analizar machos y hembras por separado, este efecto es el mismo; excepto, en el caso de los machos tratados con la dosis alta de fisostigmina (ver Tabla 5). Dicho efecto se ha observado en diversos estudios cuando se administra un fármaco que daña la memoria junto con uno que la favorece (Csernansky y cols., 2005; Dong y cols., 2005; Zarrindast y cols., 2006). En la literatura también hemos visto ausencia de efecto en evitación inhibitoria en ratas, cuando se administra 0.6 mg/kg de fisostigmina con otro fármaco deteriorante de la memoria diferente de la amitriptilina (Jafari-Sabet, 2006a).

Resumiendo, en los Experimentos 7 y 8, observamos que la fisostigmina revierte el efecto amnésico que produce la amitriptilina tanto en ratones machos como hembras. Sin embargo, este efecto no se ha visto en los experimentos que se ha trabajado coadministrando amitriptilina y oxotremorina; aunque hay una tendencia a la mejora. Por lo que, parece ser que se confirma nuestra hipótesis de que el deterioro producido por la amitriptilina y posteriormente revertido por dichos agonistas colinérgicos, está mediado (al menos en parte) por su acción sobre el sistema colinérgico.

Tabla 5. Resumen de los resultados de aprendizaje en coadministración aguda de amitriptilina y fisostigmina en evitación inhibitoria				
EXPERIMENTO	DOSIS (mg/kg)	ADMINISTRACIÓN	SEXO	ENTRENAMIENTO vs TEST
7	5 - 0.3	30AE - IDE	♂	A
			♀	
8	5 - 0.15	30AE - IDE	♂	A
			♀	A
	5 - 0.3		♂	A
			♀	A
	5 - 0.6		♂	No A
			♀	A

NOTA 5: Efecto de la coadministración aguda intraperitoneal de amitriptilina y fisostigmina en diferentes momentos (30AE: 30 minutos antes del entrenamiento, e IDE: inmediatamente después del entrenamiento) sobre evitación inhibitoria en machos (♂) y en hembras (♀), con intensidad de descarga eléctrica de 0.3 mA. Donde al realizar comparaciones entre entrenamiento y test se produjo: aprendizaje (A) y no aprendizaje (No A).

Diferencias de sexo en evitación inhibitoria

Tomando en conjunto los datos, hemos encontrado diferencias de sexo en los Experimentos 4, 5, 7 y 8. Las hembras ejecutan mejor la tarea de evitación inhibitoria, presentando latencias de cruce en la fase de test más largas que los machos. Estas diferencias no especifican donde se han producido, si en un grupo concreto de

tratamiento o en el grupo control. Además, dichas diferencias, se concretan tras analizar los datos en el Experimento 8, ya que hemos encontrado nivel de significación estadística cuando comparamos machos y hembras dentro del grupo tratado previamente al entrenamiento con 5 mg/kg de amitriptilina y posteriormente 0.15 mg/kg de fisostigmina; siendo las latencias de cruce en la fase de test mayores en hembras que en machos.

En la literatura, encontramos ejemplos de conductas no-reproductoras en los roedores que presentan claras diferencias de sexo cuya dirección varía en función de las investigaciones (Archer, 1975; Beatty, 1979; Guillamón y cols., 1988). Por ejemplo, algunos defienden un dimorfismo sexual en la actividad de los ratones (Archer, 1975; Guillamón y cols., 1988) que otros no obtienen (Archer, 1979; Lamberty y Gower, 1988; Berger-Sweeny y cols., 1995; Podhorna y cols., 2002). Pero esta diversidad de resultados se puede deber, en parte, al uso de muestras de especies diferentes, y así se pueden encontrar estudios en los que las ratas hembras presentan una peor evitación inhibitoria (e.g. Beatty, 1979; Heinsbroek y cols., 1988); mientras que en ratones, de encontrarse diferencias, sea en las hembras donde se observen latencias claramente superiores a las obtenidas por los machos (e.g. Monleón y cols., 2001, 2002). Heinsbroek y cols. (1988a) atribuyen dichas diferencias de sexo a los mayores niveles cerebrales de serotonina y de la capacidad de síntesis de ella de las hembras, mientras que otros atribuyen el mayor olvido en las hembras en relación al sistema colinérgico (Berger-Sweeney y cols., 1995).

Las investigaciones también han descrito efectos sexodimórficos con otros fármacos, por ejemplo, con los antipsicóticos o neurolépticos, sobre la adquisición de la evitación activa en ratones (Arenas y cols., 1993, 1995, 1999; Monleón y cols., 1998; Monleón y Parra, 1997, 1998; Parra y cols., 1999). Monleón y Parra (1998) señalan que

el origen de las diferencias de sexo en sus resultados puede también estar en las hormonas femeninas o en la sensibilidad al dolor. Quizás las hembras sean más sensibles a la intensidad de descarga eléctrica que los machos, lo que mejoraría su condicionamiento en el caso de los controles del Experimento 6 (a los que se les sometió a una descarga eléctrica de 0.4 mA, que en los demás experimentos fue de 0.3 mA) si los comparamos con los Experimentos 3, 4 y 5; aunque no ocurre así si los comparamos con las hembras control de los Experimentos 7 y 8, ya que las latencias fueron similares. Siendo este efecto aun más pronunciado, si observamos las gráficas en el Experimento 1 entre ambos sexos, cuando hemos sometidos a los sujetos a intensidades de descarga eléctrica de 0.3 y 0.5 mA.

Dichas diferencias de sexo no aparecen cuando se administra amitriptilina sola, pero sí que parece que hay una tendencia a que realizan mejor la tarea las hembras que los machos, cuando se administra solo oxotremorina (Experimentos 4, 5 y 6) o fisostigmina (Experimento 7), o también existe cuando se coadministra amitriptilina-oxotremornia (Experimento 5 y 6) y amitriptilina-fisostigmina (Experimentos 7 y 8). Aunque, también es interesante mencionar que estas latencias disminuyen o se igualan entre machos y hembras, puede ser debido a que exista una posible curva dosis-efecto diferente en cada sexo (Experimento 5, 6 y 8).

Consideraciones finales

Independientemente de todo lo dicho hasta ahora, es interesante mencionar que los fármacos utilizados en esta tesis doctoral son tratamientos que suelen afectar a la actividad locomotora, tanto la amitriptilina (e.g. Dziedzicka-Wasylewska y Rogoz, 1997; Brocco y cols., 2002), como la oxotremorina (Chintoh y cols., 2003; Laplante y cols., 2005; Wang y cols., 2004) y también la fisostigmina (e.g. Mach y cols., 2004);

donde este factor ha sido decisivo a la hora de elegir las dosis en estos experimentos. Es el caso de haber reducido las dosis de amitriptilina de los primeros experimentos a los últimos (de 30 a 5 mg/kg), ya que este antidepresivo tiene un efecto sedativo (Epstein y cols., 2003) que hacía que los sujetos no pudieran ejecutar bien la tarea. Además, no hemos utilizado dosis más altas de oxotremorina de las usadas (0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg) y de fisostigmina (0.15, 0.3 y 0.6 mg/kg), porque se ha visto que: (1) la dicha oxotremorina aumenta la actividad y provoca temblores (Chintoh y cols., 2003; Laplante y cols., 2005; Wang y cols., 2004), y (2) la fisostigmina también la aumenta dependiente de dosis (Mach y cols., 2004) y provoca ansiedad (Beracochea y cols., 2004); por lo que, es posible que esto hubiera interferido en la realización de la tarea, aunque al ser administrada después del entrenamiento no afectase a la ejecución.

Parecer ser que la administración aguda de amitriptilina daña el proceso de adquisición y/o primeros momentos de la consolidación, pero no a la plena consolidación y al recuerdo, con la dosis de 30 mg/kg, en ratones machos y hembras. Además, este efecto deteriorante de la amitriptilina sobre la adquisición se confirma con dosis inferiores (20, 15, 10, 7.5 y 5 mg/kg), también en ambos sexos.

Cuando de manera independiente a la amitriptilina, queremos trabajar con otros fármacos que suelen actuar sobre el sistema colinérgico, de manera opuesta a dicho antidepresivo, mejorando las tareas de aprendizaje y memoria; nos encontramos con resultados como que: la oxotremorina no tiene efectos sobre la consolidación de la memoria, pero sí hay una tendencia a la mejora; aunque la fisostigmina sí que parece que provoca beneficio en la ejecución de la tarea de evitación inhibitoria.

Por otra parte, cuando queremos trabajar coadministrando antidepresivo (amitriptilina) con dosis baja y varias dosis de agonistas colinérgicos (oxotremorina y

fisostigmina), encontramos que la oxotremorina no revierte el daño que ocasiona la amitriptilina, pero con una tendencia a ello; sin embargo, la fisostigmina recupera dicho daño ocasionado en la memoria.

Estos resultados, nos indican que el sistema colinérgico está implicado en procesos de aprendizaje y memoria, y que trabajando con fármacos que provocan daño y beneficio sobre estos procesos, podemos desvelar información para futuras investigaciones en encontrar cura a enfermedades degenerativas relacionadas con el déficit cognitivo. Aunque, los resultados no hayan sido muy concluyentes en la recuperación del deterioro; nos podemos atrever a decir que sí que hay una tendencia a que se produzca un revertimiento en la memoria. Además, de indicarnos también que está implicado este sistema de neurotransmisión.

Sería recomendable que en futuras investigaciones se estudiara el efecto que tienen otros antidepresivos, como por ejemplo la fluoxetina, a través de otros sistemas de neurotransmisión, como el serotoninérgico, en tareas de aprendizaje y memoria, como la evitación inhibitoria; estudiando si además del sistema colinérgico también estén implicados otros sistemas de neurotransmisión que son muy importantes en estos procesos cognitivos.

Además, de manera independiente a lo dicho hasta el momento, y centrándonos en el efecto terapéutico de los psicofármacos; se puede decir que el perfil psicopatológico de los desórdenes mentales (como por ejemplo la depresión) es muy diverso y los tratamientos psicotrónicos utilizados (como por ejemplo los antidepresivos) difieren en sus estructuras químicas. No obstante, estos fármacos comparten cuatro características: (1) muestran retraso en la respuesta clínica, (2) ninguno de ellos puede ser utilizado para curar, (3) presentan un alto número de no-

respuestas, y (4) aun se desconoce, en gran medida, el mecanismo responsable de su acción terapéutica. Se ha hipotetizado que la acción de estos fármacos, en parte, es el deterioro de memoria. También se ha sugerido que podría ser beneficioso utilizar algunas estrategias de investigación de la neurobiología del aprendizaje y la memoria, para el estudio de los efectos de los psicofármacos; basándose para ello en los siguientes criterios: (1) la comparación entre los cambios moleculares que provocan los fármacos y la neurobiología de la memoria, (2) los efectos, preferentemente crónicos, que producen estos fármacos sobre pruebas de memoria, y (3) los efectos de fármacos que empeoran la memoria sobre pruebas usadas para cribar psicofármacos (Parra, 2003).

16. CONCLUSIONES

De los experimentos realizados en la presente tesis doctoral, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. La administración aguda de amitriptilina inmediatamente después del entrenamiento, no tuvo efectos significativos sobre la consolidación de la memoria en una tarea de evitación inhibitoria.
 2. La administración aguda de varias dosis de amitriptilina (5, 7.5, 10, 15, 20 y 30 mg/kg), antes del entrenamiento, deteriora la adquisición/consolidación de una tarea de evitación inhibitoria.
 3. La administración aguda de oxotremorina (0.05, 0.1 y 0.2 mg/kg) no mejora, ni en machos ni en hembras, el condicionamiento de evitación inhibitoria; aunque se observa una tendencia a dicho beneficio.
 4. La oxotremorina coadministrada con amitriptilina, no tuvo efectos significativos, aunque existe una tendencia a contrarrestar el efecto deteriorante del antidepresivo en evitación inhibitoria; sobre todo con las dosis baja de amitriptilina (5 mg/kg) y de oxotremorina (0.05 mg/kg).
 5. La administración aguda de 0.3 mg/kg de fisostigmina no mejoró la consolidación de la memoria, pero se observó una tendencia a la mejora tanto en machos como en hembras, en el condicionamiento de evitación inhibitoria.
 6. La fisostigmina coadministrada con amitriptilina contrarrestó significativamente el deterioro ocasionado por el antidepresivo sobre la evitación inhibitoria, tanto en machos y hembras, siendo este efecto dependiente de dosis.
-

-
7. Se producen diferencias de sexo generales al administrar oxotremorina sola o en combinación con amitriptilina, y también al administrar fisostigmina junto con el antidepresivo en evitación inhibitoria; concretándose estas diferencias, cuando se coadministra amitriptilina (5 mg/kg) y fisostigmina (0.15 mg/kg). Además, existe una tendencia a que las hembras controles ejecuten mejor dicha tarea que los machos.
 8. Y como conclusión final, estos resultados nos indican que el deterioro de evitación inhibitoria, en ratones machos y hembras, producido por la amitriptilina está mediado, al menos en parte, por el sistema colinérgico.
-

17. REFERENCIAS

-
- Abdel-Rahman SM, Kauffman RE. The integration of pharmacokinetics and pharmacodynamics: understanding dose-response. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2004; 44: 111-136.
- Abel T, Lattal KM. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 2001; 11: 180-187.
- Adler G, Chwalek K, Jajcevic A. Six-month course of mild cognitive impairment and affective symptoms in late-life depression. *European Psychiatry*, 2004; 19: 502-505.
- Adolphs R, Tranel D, Damasio AR. The human amygdala in social judgement. *Nature*, 1998; 393: 470-474.
- Alberini CM. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends in Neurosciences*, 2005; 28: 51-56.
- Alkon KL; Amaral DG, Bear MF, Black J; Carew TJ, Cohen NJ; Disterhoft JF; Eichenbaum H, Golski S, Gorman LK, Lynch G, McNaughton BL, Mishikin M, Moyer JR, Olds JL, Olton DS, Otto T, Squire LR, Staubli U, Thompson LT, Wible C. *Learning and memory. Brain Research Reviews*, 1991; 16: 193-220.
- Allain H, Masson V, Bentue-Ferrer D, Toulouse P, Lecoz F. Le délai d'action des antidépresseurs : l'approche pharmacologique. *L'Encéphale*, 1995; (2): 9-15.
- Almeida OP. Treatment of Alzheimer's disease: critical evaluation of the use of anticholinesterase. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 1998; 56: 688-696.
- Alonso MP, Abajo FJ, Martínez JJ, Montero D, Martín-Serrano G, Madurga M. Evolución del consumo de antidepresivos en España. Impacto de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. *Medicina Clínica*, 1997; 108: 161-166.
- Alpern HP, Jackson SJ. Estimulantes y depresores: efectos farmacológicos sobre la memoria. En: Lipton MA, DiMascio A, Killam KF (Eds). *Psicofarmacología*. Barcelona: Espaxs, 1982; 747-759.
- Altman HJ, Normille HJ. Different temporal effects of serotonergic antagonists on passive avoidance retention. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1987; 353-359.
- Al-Windi A. Depresión in general practice. *Nordic Journal of Psychiatry*, 2005; 59: 272-277.
- Amado-Boccaro I, Gougoulis N, Poirier-Littré MFP, Galinowski A, Lôo H. Effects of antidepressants on cognitive functions: a review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1995; 19: 479-494.
- Ambrogio Lorenzini CG, Balsi E, Bucherelli C, Sacchetti B, Tassoni G. Neural topography and chronology of memory consolidation a : review of functional inactivation findings. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1999; 71: 1-8.
- American Psychiatric Association (APA). *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, DSM-IV-TR*. Barcelona: Masson; 2005.
- Anderson AK, Phelps EA. Lesions of the human amygdala impair enhanced perception of emotionally salient events. *Nature*, 2001; 411: 305-309.
- Ansari A. The efficacy of newer antidepressants in the treatment of chronic pain: a review of current literature. *Harvard Review of Psychiatry*, 2000; 7: 257-277.
- Archer J. Rodent sex differences in emotional and related behaviour. *Behavioral Biology*, 1975; 14: 451-479.
- Archer J. Inbreeding and sex differences in rats and mice: a rejoinder to gray. *British Journal of Psychology*, 1979; 70: 37.
- Archer T, Ogren SO, Johansson G, Ross SB. The effect of acute zimeldine and alaproclate administration on the acquisition of two-way active avoidance: comparison with other
-

- antidepressant agents, test of selectivity and sub-chronic studies. *Psychopharmacology*, 1984; 84: 188-195.
- Arenas MC, Parra A, Simón VM. Gender differences in escape-avoidance behavior of mice after haloperidol administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1993; 44: 233-236.
- Arenas MC, Parra A, Simón VM. Gender differences in the effects of haloperidol on avoidance conditioning in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1995; 51: 601-609.
- Arenas MC, Vinader-Caerols C, Monleón S, Martos AJ, Everss E, Ferrer-Añó A, Parra A. Are the effects of the antidepressants amitriptyline, maprotiline, and fluoxetine on inhibitory avoidance state-dependent? *Behavioural Brain Research*, 2005; 166: 150-158.
- Arenas MC, Vinader-Caerols C, Monleón S, Parra A, Simón VM. Dose-dependency of sex differences in the effects of repeated haloperidol administration in avoidance conditioning in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 62: 703-709.
- Argyelan M, Szabo Z, Kanyo B, Tanacs A, Kovacs Z, Janka Z, Pavics L. Dopamine transporter availability in medication free and in bupropion treated depression: A (99m) Tc-TRODAST-1 SPECT study. *Journal of Affective Disorders*, 2005; 89: 115-123.
- Arnsten AET. Catecholamine modulation of prefrontal cortical cognitive function. *Trends in Cognitive Sciences*, 1998; 2: 436-447.
- Artigas F. Sinapsis acetilcolinérgicas y monoaminérgicas. En: Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia FJ (Eds). *Manual de Neurociencia*. Madrid: Síntesis; 1998, 201-229.
- Ascher JA, Cole JO, Colin JN. Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1995; 56: 395-401.
- Assi AA. N6-Cyclohexyladenosine and 3-(2-Carboxypiperazine-4-yl)-1-propenyl-1-phosphonic acid enhance the effect of antiepileptic drugs against induced seizures in mice. *Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences*, 2001; 4: 42-51.
- Astur RS, St Germain SA, Baker EK, Calhoun V, Pearson GD, Constable RT. fMRI hippocampal activity during a virtual radial arm maze. *Applied Psychophysiology and Biofeedback*, 2005; 30: 307-317.
- Atkinson RC, Shiffrin RM. Human memory: a proposed system and its control processes. En: Spence KW (Ed). *The psychology of learning and motivation: advances in research and theory*. New York: Academic Press; 1968, 89-195.
- Azanza JR (Ed). *Guía práctica de farmacología del sistema nervioso central (2ª Edición)*. Madrid: Ediciones; 2000.
- Aziz M, Mehringer AM, Mozurkewich E, Razik GN. Cost-utility of 2 maintenance treatments for older adults with depression who responded to a course of electroconvulsive therapy: results from a decision analytic model. *Canadian Journal of Psychiatry*, 2005; 50: 389-397.
- Babyak M, Blumenthal J, Herman S, Khatri P, Doraiswamy M, Craighead W, Baldewicz T, Krishnan R. Exercise treatment for major depression: maintenance of therapeutic benefit at 10 months. *Psychosomatic Medicine*, 2000; 62: 633-638.
- Backman LRD, Forsell Y. The influence of depressive symptomatology on episodic memory functioning among clinically nondepressed older adults. *Journal of Abnormal Psychology*, 1996; 105: 97-105.
- Baddeley AD. Las memorias humanas. *Mundo Científico*, 1994; 150: 802-807.
- Badiani A, Castellano C, Oliveiro A. Effects of acute and chronic stress and of genotype on oxotremorine-induced locomotor depression of mice. *Behavioural and Neural Biology*, 1991; 55: 123-130.
- Bailey KR, Mair RG. Lesions of specific and nonspecific thalamic nuclei affect prefrontal cortex-dependent aspects of spatial working memory. *Behavioural Neuroscience*, 2005; 119: 410-419.

-
- Bajbouj M, Lang UE, Niehaus L, Hellen FE, Heuser I, Neu P. Effects of right unilateral electroconvulsive therapy on motor cortical excitability in depressive patients. *Journal of Psychiatric Research*, 2006a; 40: 322-327.
- Bajbouj M, Lisanby SH, Lang UE, Danker-Hopfe H, Heuser I, Neu P. Evidence for impaired cortical inhibition in patients with unipolar major depression. *Biological Psychiatry*, 2006b; 59: 395-400.
- Baldwin DS, Bridgman K, Buis C. Resolution of sexual dysfunction during double-blind treatment of major depression with reboxetine or paroxetine. *Journal of Psychopharmacology*, 2006, 20: 91-96.
- Ballús C, Gascó C. Aspectos bioquímicos de las depresiones. En: Pallardó F (Coord). *La depresión. Un problema crucial de nuestro tiempo*. Madrid: Espasa-Calpe; 1992, 79-85.
- Bammer G. Pharmacological investigations of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1982; 6: 247-296.
- Baratti CM, Huygens P, Mino J, Merlo A, Gardella J. Memory facilitation with posttrial injection of oxotremorine and physostigmine in mice. *Psychopharmacology*, 1979; 64: 85-88.
- Baratti CM, Intronini IB, Huygens P, Gusovsky F. Possible cholinergic-dopaminergic link in memory facilitation induced by oxotremorine in mice. *Psychopharmacology*, 1983; 80: 161-165.
- Baratti CM, Kopf SR. The post-training memory enhancement induced by physostigmine and oxotremorine in mice is not state-dependent. *Neurobiology of learning and memory*, 1996; 65: 121-124.
- Barbeu E, Wendling F, Regis J, Duncan R, Poncet M, Chauvel P, Bartolomei F. Recollection of vivid memories after perirhinal region stimulations: synchronization in the theta range of spatially distributed brain areas. *Neuropsychologia*, 2005; 43: 1329-1337.
- Barbui C, Hotopf M. Amitriptyline vs. the rest: still the learning antidepressant after 40 years of randomised controlled trials. *British Journal of Psychiatry*, 2001; 178: 129-144.
- Barnes NM; Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 1999; 38: 1083-1151.
- Barros DM, Carlis V, Maidana M, Silva ES, Baisch AL, Ramirez MR, Izquierdo I. Interactions between anandamide-induced anterograde amnesia and post-training memory modulatory systems. *Brain Research*, 2004; 1016: 66-71.
- Barros DM, Izquierdo LA, Medina JH, Izquierdo I. Pharmacological findings contribute to the understanding of the main physiological mechanisms of memory retrieval. *Current Drug Targets CNS Neurological Disorders*, 2003; 2: 81-94.
- Barros DM, Mello e Souza T, David T, Choi H, Aguzzoli A, Madche C, Ardenghi P, Medina JH, Izquierdo I. Simultaneous modulation of retrieval by dopaminergic D₁, β -noradrenergic, serotonergic-1^a and cholinergic muscarinic receptors in cortical structures of the rat. *Behavioural Brain Research*, 2001; 124: 1-7.
- Barros DM, Pereira P, Medina JH, Izquierdo, I. Modulation of working memory and of long- but short-term memory by cholinergic mechanisms in the basolateral amygdala. *Behavioral Pharmacology*, 2002a; 13: 163-167.
- Barros DM, Ramirez MR, Izquierdo I. Modulation of working, short- and long- term memory by nicotinic receptors in the basolateral amygdala in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2005; 83: 113-118.
- Barros HMT, Calil HM, Guimarães FS, Soares JC, Andreatini R. The brain decade in debate: V-Neurobiology of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2002b; 26: 613-617.
-

-
- Barry ES, Naus MJ, Rehm LP. Depresión, implicit memory, and self: a revised memory model of emotion. *Clinical Psychology Review*, 2006; 26: 719-745..
- Bartus RT, Dean FL, Flicker C. Cholinergic psychopharmacology: an integration of human and animal research on memory. En: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Herber, Meltzer (Eds). New York: Raven Press, 1987; 1043-1050.
- Basso MR, Bornstein RA. Relative memory deficits in recurrent versus first-episode major depression on a word-list learning task. *Neuropsychology*, 1999; 13: 557-563.
- Bassuk SS, Berkman LF, Wypij D. Depressive symptomatology and incident cognitive decline in an elderly community sample. *Archives of General Psychiatry*, 1998; 55: 1073-1081.
- Bateman A, Singh A, Kral T, Solomon S. The immune hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinological Reviews*, 1989; 10: 92-112.
- Baudic S, Tzortzis C, Barba GD, Traykov L. Executive deficits in elderly patients with major unipolar depression. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 2004; 17: 195-201.
- Beatty WW. Gonadal hormones an sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: organizational and activational influences. *Hormones and Behavior*, 1979; 12: 112-163.
- Beck AT, Greenberg RL. Brief cognitive therapy. *The Psychiatric Clinics of North America*, 1979; 2: 23-37.
- Belsham B. Glutamate and its role in psychiatric illness. *Human Psychopharmacology*, 2001; 16: 139-146.
- Benazzi F. Gender differences in bipolar-II disorder. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 2006; 256: 67-71.
- Benmansour S, Cecchi M, Morilak D, Gerhardt G, Javors M, Golud G, Frazer A. Effects of chronic antidepressant treatment on serotonin transporter function, density and mRNA level. *Journal of Neuroscience*, 1999; 19: 10494-10501.
- Bennett KM, Smith PT, Hughes GM. Coping, depressive feeling and gender differences in late life widowhood. *Aging and Mental Health*, 2005; 9: 348-353.
- Bentley P, Husain M, Dolan RJ. Effects of cholinergic enhancement on visual stimulation, spatial attention, and spatial working memory. *Neuron*, 2004, 41: 969-982.
- Beracochea D, Celerier A, Pierard C. β -CCM but not physostigmine enhancement of memory retrieval depends on emotional processes in mice. *Psychopharmacology*, 2004; 176: 66-73.
- Berger-Sweeney J, Arnold A, Gabeau D, Mills J. Sex differences in learning and memory in mice: effects of sequence of testing and cholinergic blockade. *Behavioral Neuroscience*, 1995; 5: 859-873.
- Berilgen M, Bulut S, Gonen M, Tekatas A, Dag E, Mungen B. Comparison of the effects of amitriptyline and flunarizine on weight gain and serum leptin, C peptide and insulin levels when used as migraine preventive treatment, 2005; *Cephalalgia*, 25: 1048-1053.
- Bernabeu R, Bevilaqua L, Ardenghi P, Bromberg E, Schmitz P, Bianchin M, Izquierdo I, Medina JH. Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signalling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1997; 94: 7041-7046.
- Berrios GE, Hodges JR. *Trastornos de memoria en la práctica psiquiátrica*. Barcelona: Masson; 2003.
- Bevilaqua LR, Silva WN, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Extinction and reacquisition of a fear-motivated memory require activity of the Src family of tyroxine kinases in the CA1 region of the hippocampus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2005; 81: 139-145.
- Bezchlibasyk-Butler KZ. *Clinical Handbook of Psychothropic Drug*. Bezchlibasyk-Butler KZ, Jeffries JJ (Eds). Toronto: Hogrele and Huber Publishers; 1994, 1-7, 14-27.
-

-
- Blier P, Haddjeri N, Szabo ST, Dong J. Enhancement of serotonergic function: a sometimes insufficient cause of antidepressant action. *Human Psychopharmacology*, 2001; 16: 23-27.
- Bloklarnd A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews*, 1996; 21: 285-300.
- Bianchin MM, Mello e Souza T, Medina JH, Izquierdo I. The amygdala is involved in the modulation of long-term memory, but not working, short- and long-term memory. *Neurobiology of Learning and Memory*; 1999, 71: 127-131.
- Bierman EJ, Comijs HC, Jonker C, Beekman AT. Effects of anxiety versus depression on cognition in later life. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005; 13: 686-693.
- Billings JA, Block S. Depression. Palliative Medicine Update. *Journal of Palliative Care*; 1995, 11: 48-54.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: Effects of i.c.v. injections of hemicholinium-3. *Neuroscience*, 2004; 124: 735-741.
- Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. Memory consolidation and reconsolidation of an inhibitory avoidance task in mice: Effects of a new different learning task. *Neuroscience*, 2005; 135: 19-29.
- Bond AJ. Antidepressant treatments and human aggression. *European Journal of Pharmacology*, 2005; 526: 218-225.
- Bonini JS, Cammarota M, Kerr DS, Bevilacqua LR, Izquierdo I. Inhibition of PKC in basolateral amygdala and posterior parietal cortex impairs consolidation of inhibitory avoidance memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavioural*, 2005; 80: 63-67.
- Bonini JS, Rodrigues L, Kerr DS, Bevilacqua LR, Cammarota M, Izquierdo I. AMPA/kainate and group-I metabotropic receptor antagonists infused into different brain areas impair memory formation of inhibitory avoidance in rats. *Behavioural Pharmacology*, 2003; 14: 161-166.
- Borowicz KK, Kleinrok Z, Czuczwar SJ. Glutamate receptor antagonists differentially affect the protective activity of conventional antiepileptics against amygdala-kindled seizure in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2001; 11: 61-68.
- Bose D, Durgbanshi A, Martinavarro-Dominguez A, Capella-Peiro ME, Carda-Broch S, Esteve-Romero J, Gil-Agusti M. Amitriptyline and nortriptyline serum determination by micellar liquid chromatography. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2005; 52: 323-329.
- Both FL, Meneghini L, Kerber VA, Henriques AT, Elisabetsky E. Psychopharmacological profile of the alkaloid psychollatine as a 5-HT_{2A/C} serotonin modulator. *Journal of Natural Products*, 2005; 68: 374-380.
- Braszko JJ, Wlasienko J, KOziolkiewicz W, Janecka A, Wisniewski K. 3-7 fragment of angiotensin II is probably responsible for its psychotropic activity. *Brain Research*, 1991; 542: 49-54.
- Braune BT, Berger K. The influence of depressive mood on activities of daily living and health care utilization in the elderly the MEMO study on the KORA platform Augsburg. *Gesundheitswesen*, 2005; 67 (1): S176-S179
- Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience*, 1999; 89: 4999-5002.
- Brioni DJ. Role of GABA during the multiple consolidation of memory. *Drug Development Research*, 1993; 28: 3-27.
- Brocco M, Dekeyne A, Veiga S, Girardon S, Millan MJ. Induction of hyperlocomotion in mice exposed to a novel environment by inhibition of serotonin reuptake. A pharmacological characterization of diverse classes of antidepressant agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2002; 71: 667-680.
-

- Brock K, Nguyen B, Liu N, Watkins M, Reutzel T. The use of antidepressant in school-age children. *The Journal of School Nursing*, 2005; 21: 318-322.
- Brown ES, Rush AJ, McEwen BS. Hippocampal remodeling and damage by corticosteroids: implications for mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 1999; 21: 4474-4484.
- Brownhill S, Wilhelm K, Barclay L, Schmied V. 'Big build': hidden depression in men. *The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 2005; 39: 921-931.
- Brunello N, Barbaccia ML, Chuang DM, Costa E. Down-regulation of β -adrenergic receptors following repeated injections of desmethylimipramine: permissive role of serotonergic axons. *Neuropharmacology*, 1982; 21: 1145-1149.
- Brunello N, Racagni G. Rationale for the development of noradrenaline reuptake inhibitors. *Human Psychopharmacology*, 1998; 13: S13-S19.
- Budavari S. *The merck index (12^a Edición)*. New York: Whitehouse Station; 1996.
- Bunce JG, Sabolek HR, Chrobak JJ. Intraseptal infusion of oxotremorine impairs memory in a delayed-non-match-to-sample radial maze task. *Neuroscience*, 2003; 121: 259-267.
- Burdick KE, Endick CJ, Goldberg JF. Assessing cognitive deficits in bipolar disorder: are self-reports valid? *Psychiatry Research*, 2005; 136: 43-50.
- Bures J, Buresová C, Huston JP. *Techniques and basic experiments for the study of brain and behaviour*. Amsterdam: Elsevier; 1983, 148-161.
- Burnside E, Startup M, Byatt M, Rollinson L, Hill J. The role of overgeneral autobiographical memory in the development of adult depression following childhood trauma. *The British Journal of Clinical Psychology*, 2004; 43: 365-376.
- Burt DB, Zembar DJ, Niederehe G. Depression and memory impairment: a meta-analysis of the association, its pattern, and specificity. *Psychological Bulletin*, 1995; 117: 285-305.
- Buzsaki G. Theta rhythm of navigation: link between path integration and landmark navigation, episodic and semantic memory. *Hippocampus*, 2005; 15: 827-840.
- Byrne DG. Sex differences in the reporting of symptoms of depression in the general population. *British Journal of Clinical Psychology*, 1981; 20: 83-62.
- Cabib S, Castellano S. Impairment produced by amphetamine and stress on memory storage are reduced following a chronic stressful experience. *Psychopharmacology*, 1997; 129: 161-167.
- Caldarone BJ, Karthigeyan K, Harrist A, Hunsberger JG, Wittmack E, King SL, Jatlow P, Picciotto MR. Sex differences in response to oral amitriptyline in three animal models of depression in C57BL/6J mice. *Psychopharmacology*, 2003; 170: 94-101.
- Cami J, Farre M. Drug addiction. *The New England Journal of Medicine*, 2003; 349: 975-986.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learning and Memory*, 2004; 11: 572-578.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Rossato JI, Ramirez M, Medina JH, Izquierdo I. Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2005; 84: 25-32.
- Carey JG, Billard W, Binch III H, Cohen-Williams C, Crosby G, Grzelak M, Guzik H, Kozlowski JA, Lowe DB, Pond AJ, Tedesco RP, Watkins RW, Coffin VL. SCH 57790, a selective muscarinic M_2 receptor antagonist, releases acetylcholine and produces cognitive enhancement in laboratory animals. *European Journal of Pharmacology*, 2001; 431: 189-200.
- Carlson NR. *Fisiología de la conducta (8^a Edición)*. Madrid: Pearson Educación; 2006.
- Castellano C, Cabib S, Puglisi-Allegra S, Gasbarri A, Sulli A, Pacitti C, Introini-Collison IB, McGaugh JL. Strain-dependent involvement of D1 dopamine receptors in muscarinic cholinergic influences on memory storage. *Behavior of Brain Research*, 1999; 98: 17-26.

-
- Castellano C, Mele A, Oliverio A. Glutamatergic-cholinergic interaction on memory consolidation in mice. *Psychopharmacology*, 1996; 24: 57-61.
- Cattaneo Z, Postma A, Vecchi T. Gender differences in memory for object and word locations. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 2006; 59: 904-919.
- Cavaljuga S, Licanin I, Kacic E, Potkonjak D. Clomipramine and fluoxetine effects in the treatment of panic disorder. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 2003a; 3: 27-31.
- Cavaljuga S, Licanin I, Mulabegovic N, Potkonjak D. Therapeutic effects of two antidepressant agents in the treatment of posttraumatic stress disorder. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 2003b; 3: 12-16.
- Chan KH, Morell JR, Jarrad LE, Davidson TL. Reconsideration of the role of the hippocampus in learned inhibition. *Behavioural Brain Research*, 2001; 1: 111-130.
- Charney DS, Menkes DB, Heninger GR. Receptor sensitive and the mechanisms of action of antidepressant treatment: implications for the etiology and therapy of depression. *Archives of General Psychiatry*, 1981; 38: 1160-1180.
- Checkley S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *British Medical Bulletin*, 1996; 52: 597-617.
- Chen YG. Specific tau phosphorylation sites in hippocampus correlate with impairment of step-down inhibitory avoidance task in rats. *Behavioural Brain Research*, 2005; 158: 277-284.
- Chen SH, Desmond JE. Temporal dynamics of cerebro-cerebellar network recruitment during a cognitive task. *Neuropsychologia*, 2005; 43: 1227-1237.
- Chen XY, Wolpaw JR. Ablation of cerebellar nuclei prevents H-reflex down-conditioning in rats. *Learning and Memory*, 2005; 12: 248-254.
- Chernin T. New studies target side effects of psychotropic drugs. *Drug Topics*, 2001; 11: 20-23.
- Chintoh A, Fulton J, Koziel N, Aziz M, Sud M, Yeomans JS. Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2003; 76: 53-61.
- Chou KL, Yeung FK, Wong EC. Fear of falling and depressive symptoms in Chinese elderly living in nursing homes: fall efficacy and activity level as mediator or moderator? *Aging and Mental Health*, 2005; 9: 255-261.
- Ciesielczyk K, Pracka D, Pracki T, Tafil-Klawe M, Ziolkowska-Kochan M. Changes of sleep quality and mood disorders under the influence of phototherapy in patients with seasonal affective disorders SAD. *Psychiatria Polska*, 2005; 38: 1105-1114.
- Cipolotti L, Shallice T, Chan D, Fox N, Scahill R, Harrison G, Stevens J, Rudge P. Long-term retrograde amnesia: the crucial role of the hippocampus. *Neuropsychologia*, 2001; 39:151-172.
- Clapcote SJ, Lazar NL, Bechara AR, Wood GA, Roder JC. NIH swiss and black swiss mice have retinal degeneration and performance deficits in cognitive test. *Comparative Medicine*, 2005; 55: 310-316.
- Clark L, Sarna A, Goodwin GM. Impairment of executive function but not memory in first-degree relatives of patients with bipolar I disorder and in euthymic patients with unipolar depression. *The American Journal of Psychiatry*, 2005; 162: 1980-1982.
- Clayton EC, Williams CL. Posttraining inactivation of excitatory afferent input to the locus coeruleus impairs retention in an inhibitory avoidance learning task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2000; 73: 127-140.
- Clayton PJ. Depression subtyping: treatment implications. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1998; 59 (16): 5-12.
- Clements MP, Bourne RC. Passive avoidance learning in the day-old chick is modulated by GABAergic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1996; 53: 629-634.
-

-
- Coll M, Morgado I. Modulación hormonal del aprendizaje y la memoria. *Psicothema*, 1992; 4: 221-235.
- Cook LS, Epperson L, Gariti P. Determining the need for gender-specific chemical dependence treatment: assessment of treatment variables. *The American Journal on Addictions*, 2005; 14: 328-338.
- Cookson J. Side-effects of antidepressant. *British Journal of Psychiatry*, 1993; 163: 20-24.
- Costa D, Portell I, Martí M, Morgado I. La adrenalina: un sistema endógeno de modulación de la memoria. *Psicothema*, 1995; 7: 113-128.
- Costentin J. Los antidepresivos o los analgésicos del alma. Costentin J (Ed). *Los medicamentos del cerebro*. Madrid: Debate; 1996, 115-140.
- Coudoré F, Fialip J, Eschalié A, Lavarenne J. Plasma and brain pharmacokinetics of amitriptyline and its demethylated and hydroxylated metabolites after acute intraperitoneal injection in mice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 1994a; 19: 5-11.
- Coudoré F, Fialip J, Eschalié A, Lavarenne J. Mice plasma and brain pharmacokinetics of amitriptyline and its demethylated and hydroxylated metabolites after half-life repeated administration. Comparison with acute administration. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 1994b; 8: 525-531.
- Cowburn RF, Wiehager B, Ravid R, Winblad B. Acetylcholine muscarinic M2 receptor stimulated (35S)GTP gamma S binding shows regional selective changes in Alzheimer's disease post-mortem brain. *Neurodegeneration*, 1996; 5: 19-26.
- Csernansky JG, Matin M, Shah R, Bertchume A, Colvin J, Dong H. Cholinesterase inhibitors ameliorate behavioural deficits induced by MK-801 in mice. *Neuropsychopharmacology*, 2005; 30: 2135-2143.
- Culbertson F. Depression and gender: an international review. *American Psychologist*, 1997; 52: 25-31.
- Cusak B, Nelson A, Richelson E. Binding of antidepressant to human brain receptors: focus on newer generation compounds. *Psychopharmacology*, 1994; 114: 559-565.
- Cyr M, Brown CM. Nefazodone: its place among antidepressants. *Annual Pharmacotherapy*, 1996; 30: 1006-1012.
- Dacunha C, Roozendaal B, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Microinfusions of flumazenil into the basolateral but not the central nucleus of the amygdala enhance memory consolidation in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1999; 72: 1-7.
- D'Agata V, Cavallaro S. Hippocampal gene expression profiles in passive avoidance conditioning. *European Journal of Neuroscience*, 2003; 2835-2841.
- Danion JM. Antidépresseurs et mémoire. *L'Encéphale*, 1993; 19: 417-422.
- Danion JM, Schroeder W, Zimmermann MA, Grangé D, Schlienger JL, Singer L. Explicit memory and repetition priming in depression. *Archives of General Psychiatry*, 1991; 48: 707-711.
- Danysz W, Plaznik A, Kostowski W, Malatynska E, Järbe TUC, Hiltuner AJ, Archer T. Comparison of desipramine, amitriptyline, zimeldine and alaproclate in six animal models used to investigate antidepressant drugs. *Pharmacology and Toxicology*, 1988; 62: 42-50.
- Darvers S, Walsh R, Kumar R, Caines A, Roberts S, Magee D, Rockwood K, Martin E. Inhibition of human cholinesterases by drugs used to treat Alzheimer disease. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 2003; 17: 117-126.
- Davidson RJ. Pharmacotherapy of generalized anxiety disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62 (11): 46-50.
- Davidson RJ, Abercrombie H, Nitscke JB, Putnam K. Regional brain function, emotion and disorders of emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, 1999; 9: 228-234.
-

-
- Davidson RJ, Irwin W. The functional neuroanatomy of emotion and affective style. *Trends in Cognitive Sciences*, 1999; 3: 11-21.
- Daws LC, Lopez R, Frazer A. Effects of antidepressants treatment on inhibitory avoidance behaviour and amygdaloid β -adrenoceptors in rats. *Neuropsychopharmacology*, 1998; 19: 300-313.
- Dawson GR, Heyes CM, Iversen SD. Pharmacological mechanisms and animal models of cognition. *Behavioural Pharmacology*, 1992; 3: 285-297.
- Degroot A, Parent MB. Infusions of physostigmine into the hippocampus or the entorhinal cortex attenuate avoidance retention deficits produced by intra-septal infusions of the GABA agonist muscimol. *Brain Research*, 2001; 920: 10-18.
- Dekker J, Connor D, Thal L. The role of cholinergic projections from the nucleus basalis in memory. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 1991; 15: 299-317.
- Delgado PL, Moreno FA. Role of norepinephrine in depression. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 61 (1): 5-12.
- Delini-Stula A. Milnacipran: an antidepressant with dual selectivity of action on noradrenaline and serotonin uptake. *Human Psychopharmacology*, 2000; 15: 255-260.
- Del Río J. Fármacos antidepresivos, antimaníacos. En: Flórez J, Armijo J, Mediavilla A (Eds). *Farmacología humana*. Barcelona: Masson; 1997, 549-563.
- DeLuca AK, Lenze EJ, Mulsant BH, Butters MA, Karp JF, Dew MA, Pollock BG, Shear MK, Houck PR, Renolds CF. Comorbid anxiety disorder in late life depression: association with memory decline over four years. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005; 20: 848-854.
- Dennes RP, Barnes JC. Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze. *Psychopharmacology*, 1993; 111: 435-441.
- Desai HD, Jann MW. Major depression in women: a review of the literature. *Journal of American Pharmacology Association*, 2000; 40: 525-537.
- Desmond JE, Fiez JA. Neuroimaging studies of the cerebellum: language, learning and memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 1998; 2: 355-362.
- Deuschle M, Knies A, Niemann H, Erb-Bies M, Colla N, Hamann B, Heuser I. Impaired declarative memory in depressed patients is slow to recover: clinical experience. *Pharmacopsychiatry*, 2004; 37: 147-151.
- Deutsch JA. The cholinergic synapse and the site of memory. *Science*, 1971; 174: 788-794.
- DeVane CL. Pharmacologic characteristics of ideal antidepressants in the 21 century. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 61 (11): 276-277.
- Dezazzo J, Tully T. Dissection of memory formation: from behavioural pharmacology to molecular genetics. *Trends Neuroscience*, 1995; 18: 212-218.
- Di Carlo G, Borrelli F, Ernst E, Izzo A. St. John's Wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2001; 22: 292-297.
- Dilsaver SC, Coffman JA. Cholinergic hypothesis of depression: a reappraisal. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 1989; 9: 173-179.
- Díaz-Véliz G, Dussaubat N, Mora S. Effect of oxotremorine on the acquisition of a conditioned avoidance response is modified by the estrous cycle, ovariectomy, and estradiol replacement in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1995; 51: 279-283.
- Dokla CPJ, Rydelek-Fitzgerald L. Comparison of tetrahydroaminoacridine and physostigmine on scopolamine-induced free swim behaviour in the rat. *Psychopharmacology*, 1991; 103: 240-243.
-

- Dombrowski AY, Mulsant BH, Haskett RF, Prudic J, Begley AE, Sackeim HA. Predictors of remission after electroconvulsive therapy in unipolar major depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2005; 66: 1043-1049.
- Donaldson DI, Petersen SE, Buckner RL. Dissociating memory retrieval processes using fMRI: evidence that priming does not support recognition memory. *Neuron*, 2001; 31: 1047-1059.
- Dong H, Csernansky CA, Martin MV, Bertchume A, Vallera D, Csernansky JG. Acetylcholinesterase inhibitors ameliorate behavioural deficits in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*, 2005; 181: 145-152.
- Donoghue J, Hylan T. Antidepressant use in clinical practice: efficacy v. effectiveness. *British Journal of Psychiatry*, 2001; 179 (42): S9-S17.
- Doris A, Ebmeier K, Shajahan P. Depressive illness. *Lancet*, 1999; 354: 1369-1375.
- Doyle E, Regan CM. Cholinergic and dopaminergic agents which inhibit a passive avoidance response attenuate the paradigm-specific increases in NCAM sialylation state. *Journal of Neural Transmission General Sect*, 1993; 92: 33-49.
- Dozois D, Dobson K. Information processing and cognitive organization in unipolar depression: specificity and comorbidity issues. *Journal of Abnormal Psychology*, 2001; 110: 236-246.
- Drachman DA. Sistema colinérgico central y memoria. En: Lipton MA, DiMascio A, Killan KF (Eds). *Psicofarmacología*: Espaxs, Barcelona; 1982, 735-746.
- Drevets W. Neuroimaging studies of mood disorders. *Biological Psychiatry*, 2000; 48: 813-829.
- Drevets W. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Current Opinion in Neurobiology*, 2001; 11: 240-249.
- Drevets W, Price JL, Simpson JR, Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichie M. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*, 1997; 386: 824-827.
- Drossopoulou G, Antoniou K, Kitraki E, Papanthasiou G, Papelexi E, Dalla C, Papadopoulou-Daifoti Z. Sex differences in behavioural, neurochemical and neuroendocrine effects induced by the forced swim test in rats. *Neuroscience*, 2004; 126: 849-857.
- Dudai Y, Eisenberg M. Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron*, 2004; 44: 93-100.
- Duka T, Curran HV, Rusted JM, Weingartner. Perspectives on cognitive psychopharmacology research. *Behavioural Pharmacology*, 1996; 7: 401-140.
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Archives of General Psychiatry*, 1997; 54: 597-606.
- Dunner DL. Acute and maintenance treatment of chronic depression. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62 (6): 10-16.
- Dunnett SB. Comparative effects of cholinergic drugs and lesions of nucleus basalis or fimbria-fornix on delayed matching in rats. *Psychopharmacology*, 1985; 87: 357-363.
- Dziedzicka-Wasylewska M, Rogoz Z. Time-dependent effects of antidepressant drugs on the low dose of apomorphine-induced locomotor hypoactivity in rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 1997; 49: 337-343.
- Egashira N, Yuzurihara M, Hattori N, Sakakibara I, Ishige A. Ninjin-yoei-to (Ren-Shen-Yang-Rong-Tang) and poligalae radix improves scopolamine-induced impairment of passive avoidance response in mice. *Phycomedicine*, 2003; 10: 467-473.
- Eichenbaum H. Is the rodent hippocampus just for "place"? *Current Opinion in Neurobiology*, 1996; 6: 187-195.
- Eichenbaum H. How does the brain organise memories? *Science*, 1997; 277: 330-332.

-
- Eichenbaum H. The hippocampus and mechanisms of declarative memory. *Behavioural Brain Research*, 1999; 103: 123-133.
- Eichenbaum H. The hippocampus and declarative memory: cognitive mechanisms and neural codes. *Behavioural Brain Research*, 2001; 127: 199-207.
- Eichenbaum H, Schoenbaum G, Young B, Bunsey M. Functional organization of the hippocampal memory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93: 13500-13507.
- Eidi M, Zarrindast MR, Eidi A, Oryan S, Parivar K. Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2003; 465: 91-96.
- Elbert D, Feistel H, Loew T, Pirner A. Dopamine and depression. Striatal dopamine D2 receptor spect before and after antidepressant therapy. *Psychopharmacology*, 1996; 126: 91-94.
- Elliott R. The neuropsychological profile in unipolar depression. *Trends in Cognitive Sciences*, 1998; 2: 447-454.
- Elrod K, Buccafusco JJ. An evaluation of the mechanism of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1988; 29: 15-21.
- Emslie G, Judge R. Tricyclic antidepressant and selective serotonin reuptake inhibitors: use during pregnancy, in children/adolescents and in the elderly. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 101: S26-S34.
- Epstein OI, Molodavkin GM, Voronina TA, Sergeeva SA. Antidepressant properties of proproten and amitriptyline: comparative experimental study. *Bulletin Experimental of Biology Medical*, 2003; 1: 123-124.
- Ernst E, Rand JI, Stevinson C. Complementary therapies for depression. *Archives of General Psychiatry*, 1998; 55: 1026-1032.
- Escande M, Gentil V, Frexinos M. Délai d'action des antidépresseurs: données cliniques. *L'Encléphale*, 1995; (2): 3-8.
- Esel E, Ozsoy S, Tutus A, Sofuoğlu S, Kartalci S, Bayram F, Kokbudak Z, Kula M. Effects of antidepressant treatment and of gender on serum leptin levels in patients with major depression. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2005; 29: 565-570.
- Everitt BJ, Robbins TW. Central cholinergic systems and cognition. *Annual Review of Psychology*, 1997; 48: 649-684.
- Everss E, Parra A. Inhibitory avoidance in a two-way shuttle-box. *Psicothema*, 1998; 10: 387-391.
- Everss E, Arenas MC, Vinader-Caerols C, Monleón S, Parra A. Effects of amitriptyline on memory consolidation in male and female mice. *Medical Science Research*, 1999; 27: 237-239.
- Everss E, Arenas MC, Vinader-Caerols C, Monleón S, Parra A. Piracetam counteracts the effects of amitriptyline on inhibitory avoidance in CD1 mice. *Behavioural Brain Research*, 2005; 159: 235-242.
- Fagioli S, Rossi-Arnaud C, Castellano C. Dose-dependent effect of GM1 ganglioside during development on inhibitory avoidance behaviour in mice_ influence of the period of administration. *Psychopharmacology*, 1992; 109: 457-460.
- Farabaugh A, Fava M, Mischoulon D, Sklarisky K, Petersen T, Alpert J. Relationships between major depressive disorder and comorbid anxiety and personality disorders. *Comprehensive Psychiatry*, 2005; 46: 266-271.
- Farkas L, Crowe SF. The role of the benzodiazepine-GABA system in the memory processes of the day-old chick. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2000; 65: 223-231.
- Farr SA, Banks WA, Morley JE. Estradiol potentiates acetylcholine and glutamate mediated post-trial memory processing in the hippocampus. *Brain Research*, 2000a; 864: 263-269.
-

-
- Farr SA, Uezu K, Creonte T, Flood J, Morley J. Modulation of memory processing in the cingulate cortex of mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2000b; 65: 363-368.
- Fava M. Weight gain and antidepressants. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 57 (11): 37-41.
- Fava M, Alpert J, Nierenberg AA, Mischoulon D, Otto MW, Zajecka J, Murck H, Rosenbaum JF. A double-blind, randomized trial of St John's wort, fluoxetine, and placebo in major depressive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 2005; 25: 441-447.
- Fawcett J. Antidepressants: partial response in chronic depression. *British Journal of Psychiatry*, 1994; 165: 37-41.
- Fehm HL, Perras B, Smolnik R, Kern W, Born J. Manipulating neuropeptidergic pathways in humans: a novel approach to neuropharmacology? *European Journal of Pharmacology*, 2000; 405: 43-54.
- Feighner JP. Mechanism of action of antidepressant medications. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1999; 60 (4): 4-11.
- Feighner JP, Entsuah AR, McPherson MK. Efficacy of once-daily venlafaxine extended release for symptoms of anxiety in depressed outpatients. *Journal of Affective Disorders*, 1998; 47: 55-62.
- Ferreira AR, Furstenu L, Blanco C, Kornisiuk E, Sanchez G, Daroit D, Castro e Silva M, Cervenansky C, Jerusalinsky D, Quillfeldt JA. Role of hippocampal M1 and M4 muscarinic receptor subtypes in memory consolidation in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2003; 74: 411-415.
- Ferrier IN, Stanton BR, Kelly TP, Scott J. Neuropsychological function in euthymic patients with bipolar disorder. *British Journal of Psychiatry*, 1999; 175: 246-251.
- Fibiger HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*, 1991; 14: 220-223.
- Fink M. Convulsive therapy: a review of the first 55 years. *Journal of Affective Disorders*, 2001; 63: 1-15.
- Fishbain DA, Cutler RB, Rosomoff HL, Rosomoff RN. Do antidepressants have an analgesic effect in psychogenic pain and somatoform pain disorder? A meta-analysis. *Psychosomatic Medicine*, 1998; 60: 503-509.
- Flood JF, Cherkin A. Fluoxetine enhances memory processing in mice. *Psychopharmacology*, 1987; 93: 36-43.
- Flórez J, Dierssen M. Fármacos nootropos, neuroprotectores. *Farmacología de las conductas anormales*. En: Flórez J, Amijo J, Mediavilla A (Eds). *Farmacología humana*. Barcelona: Masson; 1997, 434-443.
- Flórez J, Pazos A. Neurotransmisión en el sistema nervioso central. En: Flórez J, Amijo J, Mediavilla A (Eds). *Farmacología humana*. Barcelona: Masson; 1997, 409-433.
- Fossati P, Amar G, Raoux N, Ergis AM, Allilaire JF. Executive functioning and verbal memory in young patients with unipolar depression and schizophrenia. *Psychiatry Research*, 1999; 89: 171-187.
- Frackiewicz EJ, Sramek JJ, Cutler NR. Gender differences in depression and antidepressant pharmacokinetics and adverse events. *The Annals of Pharmacotherapy*, 2000; 34: 80-88.
- Francis AJ. Antidepressant action of St. John's Wort, *Hypericum perforatum*: a test of the circadian hypotheses. *Phytomedicine*, 2005; 12: 167-172.
- Frank E, Prien RF, Jarret RB. Conceptualisation and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. *Archives of General Psychiatry*, 1991; 48: 80-88.
- Frazer A. Antidepressant. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1997; 58 (6): 9-25.
- Frazer A. Serotonergic and noradrenergic reuptake inhibitors: prediction of clinical effects from in vitro potencies. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62 (12): 16-23.
-

-
- Freemantle N, Anderson IM, Young P. Predictive value of pharmacological activity for the relative efficacy of antidepressant drugs. *British Journal of Psychiatry*, 2000; 177: 292-302.
- Freo U, Ricciardi E, Pietrini P, Schapiro MB, Rapoport SI, Furey ML. Pharmacological modulation of prefrontal cortical activity during a working memory task in young and older humans: a PET study with physostigmine. *The American Journal of Psychiatry*, 2005; 11: 2061-2070.
- Frick KM, Gorman LK, Markowska AL. Oxotremorine infusions into the medial septal area of middle-aged rats affect spatial reference memory and ChAT activity. *Behavioural Brain Research*, 1996; 80: 99-109
- Fried I, Wilson CL, Morrow JW, Cameron KA, Behnke ED, Ackerson LC, Maidment NT. Increased dopamine release in the human amygdale during performance of cognitive tasks. *Nature Neuroscience*, 2001; 4: 201-206.
- Frisch C, Hasenóhrl RU, Huston JP. Memory improvement by post-trial injection of lidocaine into the tuberomammillary nucleus, the source of neuronal histamine. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1999; 72: 69-77.
- Fudge JL, Perry PL, Garvey, MJ, Kelly MW. A comparison of the effect of fluoxetine and trazodone on the cognitive functioning of depressed outpatients. *Journal of Affective Disorders*, 1990; 18: 275-280.
- Fuentes EM, Bragulat A, Tomás J, Cucurull E, López C, Baena JM. Evolución del tratamiento antidepresivo (1989-1996): la irresistible ascensión de los inhibidores de la recaptación de serotonina. *Atención Primaria*, 1997; 20 (1): 373.
- Gabrieli JDE. Cognitive neuroscience of human memory. *Annual Review of Psychology*, 1998; 49: 87-115.
- Gaffan D. What is a memory system? Horel's critique revisited. *Behavioural Brain Research*, 2001; 127: 5-11.
- Gais S, Born J. Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 2004, 17: 2140-2144.
- Galeazzi GM, Ferrari S, Giaroli G, Mackinnon A, Merelli E, Motti L. Psychiatric disorders and depression in multiple sclerosis outpatients : impact of disability and interferon beta therapy. *Neurological Sciences*, 2005; 26: 255-265.
- Gandhi M, Aweeka F, Greenblatt RM, Blaschke TF. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2004; 44: 499-523.
- Garcia R, Vouimba RM, Baudry M, Thompson RF. The amygdale modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. *Nature*, 1999; 402: 294-296.
- Gareri P, Falconi U, Fazio P, Sarro G. Convencional and new antidepressant drugs in the elderly. *Progress in Neurobiology*, 2000; 61: 353-396.
- George-Hyslop PH. Componentes de la enfermedad de Alzheimer. *Investigación y Ciencia*, 2001; 2: 50-57.
- Gillbert PG, Hartving P, Gordh T, Sottile A, Jansson I, Archer T, Post C. Behavioral effects after intrathecal administration of cholinergic receptor agonists in the rat. *Psychopharmacology*, 1990; 100: 464-469.
- Glick ID. *Tratamiento de la depresión*. Barcelona: Granica; 2005.
- Gluck MA, Myers CE. Psychobiological models of hippocampal function in learning and memory. En: Martínez JL, Kesner RP (Eds). *Neurobiology of learning and memory*. New York: Academic Press; 1998, 417-444.
- Gold PE. Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2003; 80: 194-210.
-

-
- Gorman JM. Mirtazapine: clinical overview. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1999; 60 (17): 9-13.
- Gorman JM, Sullivan G. Noradrenergic approaches to antidepressant therapy. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 61 (1): 13-16.
- Gould E. Serotonin hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology*, 1999; 21: 46S-51S.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Lügge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkey is diminished by stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998; 95: 3168-3171.
- Grady CL. Functional brain imaging and age-related changes in cognition. *Biological Psychiatry*, 2000; 54: 529-281.
- Graeff FG, Guimaraes FS, Andrade TGCS, Deakins JFW. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1996; 54: 725-730.
- Gralewicz S. Behavioral sensitization to amphetamine induced by a single i.p. dose of oxotremorine in the rat. *Acta of Neurobiology and Experimental*, 2002; 62: 93-98.
- Greden JF. Antidepressants maintenance medications: when to discontinue and how to stop. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1993; 54: 39-45.
- Greeson JM, Stanford B, Monti D. St. John's wort (*Hypericum Perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacology*, 2001; 153: 402-414.
- Guillamón A, Calés JM, Enríquez P. Dismorfismo sexual en el aprendizaje. En: Segovia S, Guillamón A (Eds). *Psicobiología del desarrollo*. Ariel Psicología, Barcelona; 1988, 112-135.
- Guler N, Durmus E, Tuncer S. Long-term follow-up of patients with atypical facial pain treated with amitriptyline. *The New York State Dental Journal*, 2005; 71: 38-42.
- Haduch A, Wojcikowski J, Daniel WA. The effect of tricyclic antidepressant, selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and newer antidepressant drugs on the activity and level of rat CYP3A. *European Neuropsychopharmacology*, 2006; 16: 178-186.
- Hallam KT, Horgan JE, McGrath C, Norman TR. An investigation of the effect of tacrine and physostigmine on spatial working memory deficits in the olfactory bulbectomised rat. *Behavioural Brain Research*, 2004; 153: 481-486.
- Harvey AT, Rudolph RL, Preskorn S. Evidence of the dual mechanisms of action of venlafaxine. *Archives of General Psychiatry*, 2000; 57: 503-509.
- Harvey PO, Fossati P, Pochon JB, Levy R, Lebastard G, Lehericy S, Allilaire JF, Dubois B. Cognitive control and brain resources in major depression: and fMRI study using the n-back task. *Neuroimage*, 2005; 26: 860-869.
- Hasselmo ME. Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*, 1999; 3: 351-359.
- Healy SD. La memoria y la adaptación animal. *Mundo Científico*, 1994; 150: 836-841.
- Heinsbroek R, van Haaren F, van De Poll N. Sex differences in passive avoidance behavior of rats: sex-dependent susceptibility to shock-induced depression. *Physiology and Behavior*, 1988; 43: 201-206.
- Heise GA. Learning and memory facilitators: experimental definition and current status. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1981; 2: 158-160.
- Heise GA. Facilitation of memory and cognition by drugs. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1987; 8: 65-68.
- Heisler LK, Kanarek RB, Homoleski B. Reduction of fat and protein intakes buy not carbohydrate intake following acute and chronic fluoxetine in female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1999; 63: 158-160.
- Heller W. Gender differences in depression: perspectives from neuropsychology. *Journal of Affective Disorders*, 1993; 29: 129-143.
-

- Helton TK, McGrain AR, Muliira JK. A case study: inappropriate use of amitriptyline in the elderly. *Geriatric Nursing*, 2006; 26: 317-320.
- Henry J, Petrides M, St-Laurent M, Sziklas V. Spatial conditional associative learning: effects of thalamo-hippocampal disconnection in rats. *Neuroreport*, 2004; 2427-2431.
- Hernandez-Hernandez A, Adem A, Ravid R, Cowburn RF. Preservation of acetylcholine muscarinic M2 receptor G-protein interactions in the neocortex of patients with Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 1995; 186: 57-60.
- Hertel PT, Rude SS. Depressive deficits in memory: focusing attention improves subsequent recall. *Journal of Experimental Psychology*, 1991; 120: 301-309.
- Heun R, Hein S. Risk factors of major depression in the elderly. *European Psychiatry*, 2005; 20: 199-204.
- Hilger E, Willeit M, Praszak-Rieder N, Stastny J, Neumeister A, Kasper S. Reboxetine in seasonal affective disorder: an open trial. *European Neuropsychopharmacology*, 2001; 11: 1-5.
- Hindmarch I. Effect of antidepressants on cognitive and psychomotor function: the lack of effect of reboxetine. *Human Psychopharmacology*, 1998; 13: S21-S27.
- Hindmarch I. Behavioural toxicity of anti-anxiety and antidepressant agents. *Human Psychopharmacology*, 1999; 14: 137-141.
- Hindmarch I. Expanding the horizons of depression: beyond the monoamine hypothesis. *Human Psychopharmacology*, 2001; 16: 203-218.
- Hindmarch I, Rigney U, Stanley N, Briley M. Pharmacodynamics of milnacipran in young and elderly volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2000; 49: 118-125.
- Hiramatsu M, Satoh H, Kameyama T, Nabeshima T. Nootropic effect of nicotine on carbon monoxide (CO)-induced delayed amnesia in mice. *Psychopharmacology*, 1994; 116: 33-39.
- Hirschfeld RMA. Antidepressants in long-term therapy: a review of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 101 (403): 35-38.
- Hochstrasser B, Isaksen PM, Koponen H, Lauritzen L, Mahnert FA, Rouillon F, Wade AG, Andersen M, Pedersen SF, De Swart JC, Nil R. Prophylactic effect of citalopram in unipolar, recurrent depression. *British Journal of Psychiatry*, 2001; 178: 304-310.
- Hock FJ. Drug influences on learning and memory in aged animals and human. *Neuropsychobiology*, 1987; 17: 145-160.
- Hollon SD, Jarrett RB, Nierenberg AA, Thase ME, Trivedi M, Rush AJ. Psychotherapy and medication in treatment of adult and geriatric depression: which monotherapy or combined treatment? *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2005; 7: 455-468.
- Holsboer F. The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *Journal of Psychiatry Research*, 1999; 33: 181-214.
- Homberg JR, Van del Akker M, Raaso HS, Wardeh G, Binnekade R, Schoffemeer AN, Vries RJ. *The European Journal of Neuroscience*, 2002; 15: 1542-1550.
- Holtkamp K, Muller B, Heussen N, Remschmidt H, Herpertz-Dahlmann B. Depression, anxiety, and obsessiveness in long-term recovered patients with adolescent-onset anorexia nervosa. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 2005; 14: 106-110.
- Hozumi S, Nakagawasai O, Tan-No K, Nijima F, Yamadera F, Murata A, Arai Y, Yasuhara H, Tadano T. Characteristics of changes in cholinergic function and impairment of learning and memory-related behavior induced by olfactory bulbectomy. *Behavioural Brain Research*, 2003; 138: 9-15.
- Huygens P, Baratti CM, Gardella JL, Filinger E. Brain catecholamines modifications. The effects on memory facilitation induced by oxotremorine in mice. *Psychopharmacology*, 1980; 69: 291-294.

-
- Iga Y, Arisawa H, Ise M, Yasuda H, Takeshita Y. Modulation of rhythmical show activity, long-term potentiation and memory by muscarinic receptor agonists. *European Journal of Pharmacology*, 1996; 308: 13-19.
- Ikarashi Y, Kuribara H, Shiobara T, Takahashi A, Ishimaru H, Maruyama Y. Learning and memory in mice treated with choline oxidase, a hydrolytic enzyme for choline. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2000; 65: 519-522.
- Introini-Collison IB, Baratti CM. Memory-modulatory effects of centrally acting noradrenergic drugs: possible involvement of brain cholinergic mechanisms. *Behavioural and Neural Biology*, 1992; 57: 248-255.
- Introini-Collison IB, To S, McGaugh JL. Fluoxetine effects on retention of inhibitory avoidance: enhancement by systemic but not intra-amygdala injections. *Psychobiology*, 1992; 20: 28-32.
- Ioannides-Demos LL, Proietto J, McNeil JJ. Pharmacotherapy for obesity. *Drugs*, 2005; 65: 1391-1418.
- Isometsä E, Seppälä I, Henriksson M, Kekki P, Lönnqvist J. Inadequate dosaging in general practice of tricyclic vs. other antidepressants for depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1998; 98: 451-454.
- Izquierdo LA, Barros DM, Ardenghi PG, Pereira P, Rodrigues C, Choi H, Medina JH, Izquierdo I. Different hippocampal molecular requirements for short- and long-term retrieval of one-trial avoidance learning. *Behavioural Brain Research*, 2000a; 111: 93-98.
- Izquierdo LA, Barros DM, Medina JH, Izquierdo I. Novelty enhances retrieval of one-trial avoidance learning in rats 1 and 31 days after training unless the hippocampus is inactivated by different receptor antagonists and enzyme inhibitors. *Behavioural Brain Research*, 2000b; 117: 215-220.
- Izquierdo I, Barros DM, Mello e Souza T, Souza M, Izquierdo LA, Medina JH. Mechanisms for memory types differ. *Nature*, 1998; 393:635-636.
- Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural Pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behavioural Pharmacology*, 2000; 11: 517-534.
- Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1997a; 98: 285-316.
- Izquierdo I, Medina JH. The biochemistry of memory formation and its regulation by hormones and neuromodulators. *Psychobiology*, 1997b; 25: 1-9.
- Izquierdo I, Medina JH, Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM. Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behavioural Brain Research*, 1999; 103: 1-11.
- Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, Medina JH. Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *European Journal of Neuroscience*, 1997; 9: 786-793.
- Izquierdo LA, Barros DM, Vianna MRM, Cointinho AS, Davide Silva T, Choi H, Izquierdo I. Molecular pharmacological dissection of short- and long-term memory. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2002; 22: 269-288.
- Izquierdo LA, Vianna MRM, Barros DM, Mello e Souza T, Ardenghi P, Sant MK, Rodríguez C, Medina JH, Izquierdo I. Short- and long-term memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2000c; 73: 141-149.
-

-
- Jafari-Sabet M. NMDA receptor antagonists antagonize the facilitatory effects of post-training intrasubcallosal amygdala NMDA and physostigmine on passive avoidance learning. *European Journal of Pharmacology*, 2006a; 529: 122-128.
- Jafari-Sabet M. NMDA receptor blockers prevents the facilitatory effects of post-training intradorsal hippocampal NMDA and physostigmine on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 2006b; 169: 120-127.
- Janowsky DS, Overstreet DH. The role of acetylcholine mechanisms in mood disorders. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press; 1995, 945-956.
- Jarrard LE. Retrograde amnesia and consolidation: anatomical and lesion considerations. *Hippocampus*, 2001; 11: 43-49.
- Jenden DJ. Chemistry and biochemical pharmacology of cholinergic neurons. En: Herbet, Meltzer (Eds). *Psychopharmacology: The Third Generation Of Progress*. New York: Raven Press; 1987, 233-239.
- Johne A, Schmider J, Brockmüller J, Stadelmann A, Störmer E. Decreased plasma levels of amitriptyline and its metabolites on comedication with an extract from St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 2001; 22: 46-54.
- Jones MD, Lucki I. Sex differences in the regulation of serotonergic transmission and behaviour in 5-HT receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, 2005; 30: 1039-1047.
- Kalivas PW., Jackson D, Romanidies A, Wyndham L, Duffy P. Involvement of pallidothalamic circuitry in working memory. *Neuroscience*, 2001; 104: 129-136.
- Kalynchuk LE, Gregus A, Bourdreau D, Perrot-Sinal TS. Corticosterone increases depression-like behaviour, with some effects on predator odor-induced defensive behaviour, in male and female rats. *Behavioural Neuroscience*, 2004; 118: 1365-1377.
- Kandel ER, Jessell TM, Schwartz JH. *Neurociencia y conducta*. Madrid: Prentice Hall; 1997.
- Kanner AM. Depression and the risk of neurobiological disorders. *Lancet*, 2005; 366: 1147-1148.
- Kapur S, Mann J. Role of the dopaminergic system in depression. *Biological Psychiatry*, 1992; 32: 1-17.
- Karczmar AG. Physiological cholinergic functions in the CNS. En: Aquilonius SM, Gillberg PG (Eds). *Cholinergic Neurotransmission: Functional and clinical Aspects*. Elsevier, Amsterdam; 1990, 437-466.
- Karczmar AG. Brief presentation of the story and present status of studies of the vertebrate cholinergic system. *Neuropsychopharmacology*, 1993a; 9: 181-199.
- Karczmar AG. Comments to session on electrophysiological aspects of cholinergic mechanisms. En: Cuello AC (Ed). *Cholinergic Function and Dysfunction*. Elsevier, Amsterdam; 1993: 279-284.
- Karczmar AG. Cholinergic substrates of cognition and organism-environment interaction. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 1995; 19: 187-211.
- Karmisholt K, Gotzche PC. Physical activity for secondary prevention of disease. Systematic reviews of randomised clinical trials. *Danish Medical Bulletin*, 2005; 52: 90-94.
- Kasper S, de Swart H, Friis-Andersen H. Escitalopram in the treatment of depressed elderly patients. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005; 13: 884-891.
- Katz LJ, Goldstien G, Geckle M. Neuropsychological and personality differences between men and woman with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 1998; 2: 239-247.
- Kauhanen M, Korpelainen JT, Hiltunen P, Brusin E, Mononen H, Maatta R, Nieminen P, Sotaniemi KA, Myllyla VV. Poststroke depression correlates with cognitive impairment and neurological deficits. *Stroke*, 1999; 30: 91875-91880.
-

-
- Kawa I, Carter JD, Joyce PR, Doughty CJ, Frampton CM, Wells JE, Walsh AE, Olds RJ. Gender differences in bipolar disorder: age of onset, course, comorbidity, and symptom presentation. *Bipolar Disorder*, 2005; 7: 119-125.
- Kazlauskas V, Schuh J, Dall'igna OP, Pereira GS, Bonan CD, Lara DR. Behavioral and cognitive profile of mice with high and low exploratory phenotypes. *Behavioural Brain Research*, 2005; 162: 272-278.
- Keene MS, Eaddy MT, Nelson WW, Sarnes MW. Adherence to paroxetine CR compared with paroxetine IR in a medicare-eligible population with anxiety disorders. *The American Journal of Managed Care*, 2005; 11 (12): S362-S369.
- Kelly SJ, Ostrowski NL, Wilson MA. Gender differences in brain and behaviour: hormonal and neural bases. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 64: 655-664.
- Kemle ED, Enger JM. Sex differences in shock motivated behaviors, activity and discrimination learning of northern grasshopper mice. *Physiology and Behavior*, 1984; 32: 375-380.
- Kempermann G. Why new neurons? Possible functions for adult hippocampal neurogenesis. *Journal of Neurosciencie*, 2002; 22: 635-638.
- Kendler K, Prescott CA. A population-based twin study of lifetime major depression in men and women. *Archives of General Psychiatry*, 1999; 56: 39-44.
- Kerr JS, Sherwood N, Hindmarch I. Separate and combined effects of the social drugs on psychomotor performance. *Psychopharmacology*, 1991; 104: 113-119.
- Khanna K, Madan BR. Effects of some b-adrenoceptor antagonists on oxotremorine induced tremor: physostigmine induced lethality and perphenazine-induced catatonia. *Indian Journal of Pharmacology*, 1975; 1: 14-21.
- Khromov A, Segal M, Nissinoff J, Fast A. Migraines linked to interferon-beta treatment of multiple sclerosis. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2005; 84: 644-647.
- Kielholz P. Observaciones sobre la frecuencia de la depresión y sobre los cambios en su sintomatología. En : Kielholz P (Ed). *El médico no psiquiatra y nos pacientes depresivos*. Herder, Barcelona; 1983, 11-15.
- Kim JJ, Jung MW. Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: a critical review. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 2006; 46: 142-145.
- Klein SB. *Aprendizaje. Principios y aplicaciones*. Madrid: McGrawHill; 1994.
- Klerman GK, Weissman MM. Increasing rates of depresión. *JAMA*, 1989; 261: 2229-2235.
- Klint T. Effects of 8-OH-DPAT and buspirone in a passive avoidance test in the elevated plus-maze test in rats. *Behavioural Pharmacology*, 1991; 2; 481-489.
- Knegtering H, Eijck M, Huisjsman A. Effects of antidepressant on cognitive functioning of elderly patients. *Drugs and Aging*, 1994; 5: 192-199.
- Kornstein SG. Gender differences in depression: implications for treatment. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1997; 58 (15): 12-18.
- Kornstein SG, McEnany G. Enhancing pharmacologic effects in the treatment of depression in women. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 61 (11): 18-27.
- Kornstein SG, Schatzberg AF, Thase ME, Yonkers KA, McCullough JP, Keitner GI, Gelenberg AJ, Ryan CE, Hess AL, Harrison W, Davis SM, Keller MB. Gender differences in chronic major and double depression. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 60: 1-11.
- Krazem A, Borde N, Beracochéa D. Effects of diazepam and beta-CCM on working memory in mice: relationships with emotional reactivity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2001; 68: 235-244.
-

-
- Krell HV, Leuchter AF, Cook IA, Abrams M. Evaluation of reboxetine, a noradrenergic antidepressant, for the treatment of fibromyalgia and chronic low back pain. *Psychosomatics*, 2005; 46: 379-384.
- Kronstein SG, Schatzberg AF, Thase MA, Yonkers KA, McCulloch JP, Keitner GI, Gelenberg AJ, Davis SD, Harrison WM, Keller MB. Gender differences in treatment response to sertraline versus imipramine in chronic depression. *American Journal of Psychiatry*, 2000; 157: 1445-1452.
- Kuhs H, Tolle R. Sleep deprivation therapy. *Biological Psychiatry*, 1991; 29: 1129-1148.
- Kumar S, Kulkarni SK. Influence of antidepressant drugs on learning and memory paradigms in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1996; 34: 431-435.
- Kunugi H, Ida I, Owashi T, Kimura M, Inoue Y, Nakagawa S, Yabana T, Urushibara T, Kanai R, Aihara M, Yuuki N, Otsubo T, Oshima A, Kudo K, Inoue T, Kitaichi Y, Shirakawa O, Isogawa K, Nagayama H, Kamijima K, Nanko S, Kanba S, Higuchi T, Mikuni M. Assessment of the dexamethasone/CRH test as state-dependent marker for hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis abnormalities in major depressive episode: a multicenter study. *Neuropsychopharmacology*, 2006; 31: 212-220.
- Kumar S, Kulkarni SK. Influence of antidepressant drugs on learning and memory paradigms in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1996; 34: 431-435.
- Kuziemka-Leska M, Car H, Wisniewski K. Baclofen and AII 3-7 on learning and memory processes in rats chronically treated with ethanol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 62: 39-43.
- Laborit H, Zerbib R. Action of PMA phorbol myristate acetate, scopolamine, propranolol, and oxotremorine on memorization of an active or passive avoidance test. *Encephale*, 1989; 15: 29-35.
- Ladner CJ, Lee JM. Reduced high-affinity agonist binding at the M1 muscarinic receptor in Alzheimer's disease brain: differential sensitivity to agonists and divalent cations. *Experimental Neurology*, 1999; 158: 451-458.
- Lalumiere RT, Nawar EM, McGaugh JL. Modulation of memory consolidation by the basolateral amygdala or nucleus accumbens shell requires concurrent dopamine receptor activation in both brain regions. *Learning and Memory*, 2005; 12: 296-301.
- Lalumiere RT, Nguyen LT, McGaugh JL. Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. *European Journal of Neuroscience*, 2004; 20: 2804-2810.
- Lamberty Y, Gower AJ. Investigation into sex-related differences in locomotor activity, place learning and passive avoidance responding in NMRI mice. *Physiology and Behavior*, 1988; 44: 787-790.
- Lamberty Y, Gower AJ. Cholinergic modulation of spatial learning in mice in a Morris-type water maze. *Archives Internationales de Pharmacodynamie Et de Therapie*, 1991; 309: 5-19.
- Lamping DL, Spring B, Gelenberg AJ. Effects of two antidepressants on memory performance in depressed outpatients: a double-blind study. *Psychopharmacology*, 1984; 84: 254-261.
- Lander CJ, Lee JM. Reduced high-affinity agonist binding at the M1 muscarinic receptor in Alzheimer's disease brain: differential sensitivity to agonists and divalent cations. *Experimental Neurology*, 1999; 158: 451-458.
- Lane RM, O'Hanlon JF. Cognitive and psychomotor effects of antidepressants with emphasis on selective serotonin reuptake inhibitors and the depressed elderly patients. *German Journal of Psychiatry*, 1999; 2: 1-42.
-

- Laplante F, Nakagawasai O, Srivastava LK, Quirion R. Alterations in behavioral responses to a cholinergic agonist in post-pubertal rats with neonatal ventral hippocampal lesions: relationship to changes in muscarinic receptor levels. *Neuropharmacology*, 2005; 30: 1076-1087.
- Laroche S. Los mecanismos de memoria. *Investigación y Ciencia*, 1999; 3º, 42-49.
- Lavenex P, Amaral DG. Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 2000; 10: 420-430.
- Lawlor DA, Hopker SW. The effectiveness of exercise as an intervention in the management of depression: systematic review and meta-regression analysis of randomised controlled trials. *British Medical Journal*, 2001; 322: 763-778.
- Lee EHY, Lin WR, Chen HY, Shiu WH, Liang KC. Fluoxetine and 8-OH-DPAT in the lateral septum enhances and impairs retention of an inhibitory avoidance response in rats. *Physiology and Behavior*, 1992; 681-688.
- Lee HJ, Berger SY, Stiedl O, Spiess J, Kim JJ. Post-training injections of catecholaminergic drugs do not modulate fear conditioning in rats and mice. *Neuroscience Letters*, 2001; 123-126.
- Le Foll B, Goldberg SR, Sokoloff P. The dopamine D3 receptor and drug dependence: effects on reward or beyond? *Neuropharmacology*, 2005; 49: 525-541.
- Lehtinen V, Joukamaa M. Epidemiology of depression: prevalence, risk factors and treatment situation. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1994; 377s: 7-10.
- Lejoyeux M, Rouillon F, León E, Adés J. Le syndrome sérotoninergique : revue de la littérature et description d'une étude originale. *L'Encéphale*, 1995; 21: 537-543.
- Lemogne C, Piolino P, Friszer S, Claret A, Girault N, Jouvent R, Allilaire JF, Fossati P. Episodic autobiographical memory in depression: specificity, auto-noetic consciousness, and self-perspective. *Consciousness and Cognition*, 2006; 15: 258-268.
- Leonard BE, Song C. Stress and the immune system in the etiology of anxiety and depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1996; 54: 299-303.
- Levey AI. Muscarinic acetylcholine receptor expression in memory circuits: implications for treatment of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93: 13541-13546.
- Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in morris water maze: possible involvement of cholinergic system. *Pharmacology of Biochemistry and Behavioral*, 2001; 68: 507-513.
- Linde K, Mulrow CD, Berner M, Egger M. St. John's wort for depression. *Cochrane Database of Systematic Review*, 2005; 18: CD000448.
- Loscertales M, Rose SPR, Daisley JN, Sandi C. Piracetam facilitates long-term memory for a passive avoidance in chicks through a mechanism that requires a brain corticosteroid action. *European Journal of Neuroscience*, 1998; 10: 2238-2243.
- Lu D, Mahmood A, Goussev A, Schallert T, Chopp M. Erythropoietin enhances neurogenesis and restores spatial memory in rats after traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*, 2005; 22: 1011-1017.
- Lynch ME. Antidepressant as analgesics: a review of randomized controlled trials. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2001; 26: 30-36.
- Mach M, Grubbs RD, Price WA, Paton SJ, Lucot JB. Behavioral changes after acetylcholinesterase inhibition with physostigmine in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2004; 79: 533-540.
- Madsen TM, Greisen MH, Nielsen SM, Bolwig TG, Mikkelsen JD. Electroconvulsive stimuli enhance both neuropeptide Y receptor Y1 and Y2 messenger RNA expression and levels of binding in the rat hippocampus. *Neuroscience*, 2000; 1: 33-39.

- Maes M, Meltzner HY. The serotonin hypothesis of major depression. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, New York, 1995; 933-944.
- Magni G. The use of antidepressants in the treatment of chronic pain. *Drugs*, 1991; 42: 730-748.
- Maguire EA, Burgess N, O'Keefe J. Human spatial navigation: cognitive maps, sexual dimorphism, and neural substrates. *Current Opinion in Neurobiology*, 1999; 9: 171-177.
- Maho C, Dutrieux G, Ammassari-Teule M. Parallel modifications of spatial memory performances, exploration patterns, and hippocampal theta rhythms in fornix-damaged rats: reversal by oxotremorine. *Behavior Neuroscience*, 1988; 102: 601-604.
- Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation- a decade of progress? *Science*, 1999; 285: 1870-1874.
- Mann JJ, Malone KM, Diehl DJ, Perel J, Cooper TB, Mintun MA. Demonstration in vivo of reduced serotonin responsivity in the brain of untreated depressed patients. *American Journal of Psychiatry*, 1996; 153: 174-182.
- Marcos T, Portella MJ, Navarro V, Gasto C, Rami L, Lazaro L, Salamero M. Neuropsychological prediction of recovery in late-onset major depression. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005; 20: 790-795.
- Marcus SM, Young EA, Kerber KB, Kornstein S, Farabaugh AH, Mitchell J, Wisniewski SR, Balasubramani GK, Trivedi MH, Rush AJ. Gender differences in depression: findings from the STAR*D study. *Journal of Affective Disorders*, 2005; 87: 141-150.
- Maren S. Long-term potentiation in the amygdale: a mechanism for emotional learning and memory. *TINS*, 1999; 22: 561-567.
- Maren S. Synaptic mechanisms of associative memory in the amygdale. *Neuron*, 2005; 47: 783-786.
- Marks MJ, Artman LD, Patinkin DM, Collins AC. Cholinergic adaptations to chronic oxotremorine infusion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1981; 218: 337-343.
- Martényi F, Dossenbach M, Mraz K, Metcalfe S. Gender differences in the efficacy of fluoxetine and maprotiline in depressed patients: a double-blind trial of antidepressants with serotonergic or norepinephrinergic reuptake inhibition profile. *European Neuropsychopharmacology*, 2001; 11: 227-232.
- Martos AJ, Vinader-Caerols C, Monleón S, Arenas MC, Parra A. Efectos de la fisostigmina y de la nicotina sobre la inmovilidad aprendida en la prueba de natación forzada. *Psicothema*, 1999; 11: 631-639.
- Mathis C, Paul SM, Crawley JN. The neurosteroid pregnenolone sulphate blocks NMDA antagonist-induced deficits in a passive avoidance memory task. *Psychopharmacology*, 1994; 116: 201-206.
- Matsushita T, Matsushima E, Maruyama M. Anxiety and depression of patients with digestive cancer. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 2005; 59: 576-583.
- Matthies H. Pharmacology of learning and memory. *TIPS*, 1980; august: 333-336.
- Matthies H. Neurobiological aspects of learning and memory. *Annual Review of Psychology*, 1989; 40: 381-404.
- Matynia A, Anagnostaras SG, Silva AJ. Weaving the molecular and cognitive strands of memory. *Neuron*, 2001; 32: 557-559.
- Mayers AG, Baldwin DS. Antidepressants and their effect on sleep. *Human Psychopharmacology*, 2005; 20: 533-559.
- McCall WV, Reboussin BA, Cohen W, Lawton P. Electroconvulsive therapy is associated with superior symptomatic and functional change in depressed patients after psychiatric hospitalization. *Journal of Affective Disorders*, 2001; 63: 17-25.

-
- McDonald MP, Overmier B. Present imperfect: a critical review of animal models of the mnemonic impairments in Alzheimer's disease. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 1998; 22: 99-120.
- McElroy JF, Du Pont AF, Feldman RS. The effects of fenfluramine and fluoxetine on acquisition of a conditioned avoidance response in rats. *Psychopharmacology*, 1982; 77: 356-359.
- McEwen BS. Clinically relevant basic science studies of gender differences and sex hormone effects. *Psychopharmacology Bulletin*, 1998; 34: 251-259.
- McGauht JL. Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 1966; 153: 1351-1358.
- McGaugh JL. Memory: A century of consolidation. *Science*, 2000; 287: 248-251.
- McGaugh JL, Cahill L, Roozendaal B. Involvement of the amygdale in memory storage: Interaction with other brain systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1996; 93: 13508-13514.
- McNair DM, Kahn RJ, Frankenthaler LM, Faldetta L. Amoxapine and amitriptyline II. Specificity of cognitive effects during brief treatment of depression. *Psychopharmacology*, 1984; 83: 134-139.
- Meana JJ; García-Sevilla JA. Transmisión catecolaminérgica. Fármacos agonistas catecolaminérgicos. En: Flórez J, Armijo J, Mediavilla A (Eds). *Farmacología humana*. Barcelona: Masson; 1997, 235-260.
- Medina JH, Schroder H, Izquierdo I. Two different properties of short- and long- term memory. *Behavioral Brain Research*, 1999; 103: 119-121.
- Meguro K, Yanai K, Sakai N, Sakurai E, Maeyama K, Sasaki H, Watanabe T. Effects of thioperamide, a histamine H₃ antantagonist, on step-through passive avoidance response and histamine descarboxylase activity in senescent-accelerated mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1995; 50: 321-325.
- Melo LC, Cruz AP, Valentim SJ, Marinho AR, Mendonca JB, Nakamura-Palacios EM. Delta(9)-THC administered into the medial prefrontal cortex disrupts the spatial working memory. *Psychopharmacology*, 2005; 15: 11
- Meneses A. 5-HT system and cognition. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 1999; 23: 1111-1125.
- Meneses A, Hong E. Effect of fluoxetine on learning and memory involves multiple 5-HT systems. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1995; 52: 341-346.
- Metha MA, Gumaste D, Monthomery AJ, McTavish SF, Grasby PM. The effects of acute tyrosine and phenylalanine depletion on spatial working memory and planning in healthy volunteers are predicted by changes in striatal dopamine levels. *Psychopharmacology*, 2005; 180: 654-663.
- Meyers BS, Bruce ML. The depression-dementia conundrum. *Archives of General Psychiatry*, 1998; 55: 1082-1083.
- Milano W, Siano C, Putrella C, Capasso A. Treatment of bulimia nerviosa with fluvoxamine: a randomized controlled trial. *Advances in Therapy*, 2005; 22: 278-283.
- Milekic MH, Alberine CM. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron*. 2002; 36:521-525.
- Miller AL. Epidemiology, etiology, and natural treatment of seasonal affective disorder. *Alternative Medicine Review*, 2005; 10: 5-13.
- Miller HL, Delgado PL, Salomon RM, Berman R, Krystal JH, Heninger GR, Charney DS. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Archives of General Psychiatry*, 1996; 53: 117-128.
-

-
- Minett TS, Dean JL, Firbank M, English P, O'Brien JT. Subjective memory complaints, white-matter lesions, depressive symptoms, and cognition in elderly patients. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2005; 13: 665-671.
- Mir S, Taylor D. The adverse effects of antidepressants. *Current Opinion in Psychiatry*, 1997; 10: 88-94.
- Miranda MI, McGaugh JL. Enhancement of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion memory with insular cortex infusions of 8-Br-cAMP: involvement of the basolateral amygdale. *Learning and Memory*, 2004; 11: 312-317.
- Mirrow S. Cognitive dysfunction associated with fluoxetine. *American Journal of Psychiatry*, 1991; 148: 948-949.
- Mishima K, Egashira N, Matsumoto Y, Iwasaki K, Fujiwara M. Involvement of reduced acetylcholine release in Delta9-tetrahydrocannabinol-induced impairment of spatial memory in the 8-arm radial maze. *Life Sciences*, 2002; 72: 397-407.
- Mitchell AS, Dalrymple-Alford JC. Dissociable memory effects after medial thalamus lesions in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 2005; 22: 973-985.
- Miyamoto M, Narumi S, Nagaoka A, Coyle JT. Effects of continuous infusion of cholinergic drugs on memory impairment in rats with basal forebrain lesions. *Journal of Pharmacology Experimental Therapie*, 1989; 248: 825-835.
- Mohamed AF, Matsumoto K, Tabata K, Takayama H, Kitajima M, Watanabe H. Effects of uncaria tomentosa total alkaloid its components on experimental amnesia in mice: elucidation using the passive avoidance test. *Journal of Pharmacology and Pharmacological*, 2000; 52: 1553-1561.
- Mohapel P, Leanza G, Kokaia M, Lindvall O. Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. *Neurobiology of Aging*, 2005; 26: 939-946.
- Möller HJ, Volz HJ. Drug treatment of depression in the 1990s. An overview of achievements and future possibilities. *Drugs*, 1996; 52: 625-638.
- Mongeau R, Blier P, de Montigny C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus : their interactions and the effects of antidepressants treatments. *Brain Research Reviews*, 1997; 23: 145-195.
- Monleón S, Parra A. Sex differences in escape-avoidance behaviour in BALB/c mice after haloperidol administration. *Medical Science Research*, 1997; 25: 565-567.
- Monleón S, Parra A. The higher the dose, the greater the sex differences in escape-avoidance response in mice after acute administration of haloperidol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1998; 60: 279-285.
- Monleón S, Vinader-Caerols C, Parra A. Sex differences in escape-avoidance response in mice after acute administration of raclopride, clozapine, and SCH23390. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1998; 60: 489-497.
- Monleón S, Casino A, Vinader-Caerols C, Arenas MC. Acute effects of fluoxetine on inhibitory avoidance consolidation in male and female OF1 mice. *Neuroscience Research Communications*, 2001; 28: 123-130.
- Monleón S, Urquiza A, Arenas MC, Vinader-Caerols C, Parra A. Chronic administration of fluoxetine impairs inhibitory avoidance in male but not female mice. *Behavioural Brain Research*, 2002; 136: 483-488.
- Montgomery SA, Jugde R. Treatment of depression with associated anxiety: comparisons of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 101: S9-S16.
- Montgomery SA, Racagni G, Nutt DJ, Schatzberg AF, Kasper S, Thase ME. Understanding depression: a long-term, recurring disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62: 379-392.
-

-
- Morgado I. Aprendizaje y memoria: conceptos, categorías y sistemas neurales. En: Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia FJ (Eds). *Manual de Neurociencia*. Madrid: Síntesis; 1998, 825-854.
- Moritz S, Kuelz AK, Jacobsen D, Kloss M, Fricke S. Severity of subjective cognitive impairment in patients with obsessive-compulsive disorder and depression. *Journal of Anxiety Disorders*, 2006; 20: 427-443.
- Morris JS, Öhman A, Dolan RJ. Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala. *Nature*, 1998; 393: 467-470.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, Nadel L. Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of Anatomy*, 2005; 207: 35-66.
- Mucci M. Reboxetine: a review of antidepressant tolerability. *Journal of Psychopharmacology*, 1997; 11: S33-S37.
- Müller-Oerlinghausen B, Berghöfer A. Antidepressants and suicide risk. *Journal of Clinical Psychiatry*; 1999, 60 (2): 94-99.
- Murphy D, Carli C, McIntosh A, Daly E, Mentis M. Sex differences in human brain morphometry and metabolism: an in vivo quantitative magnetic resonance imaging and positron emission tomography study on the effect of aging. *Archives of General Psychiatry*, 1996; 53: 585-594.
- Murray EA, Bussey TJ. Consolidation and the medial temporal lobe revisited: methodological considerations. *Hippocampus*, 2001; 11: 1-7.
- Nadel L, Bohbot V. Consolidation of memory. *Hippocampus*, 2001; 11: 56-60.
- Nadel L, Moscovitch M. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology*, 1997; 7: 217-227.
- Nader K, Schafe GE, LeDoux JE. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 2000; 406: 722-726.
- Nakagasaki O, Yamadera F, Sato S, Taniguchi R, Hiraga H, Arai Y, Murakami H, Mawatari K, Niiijima F, Tan-No K, Tadano T. Alterations in cognitive function in prepubertal mice with protein malnutrition: relationship to changes in choline acetyltransferase. *Behavior Brain Research*, 2006; 167: 111-117.
- Naughton M, Mulrooney JB, Leonard BE. A review of the role of serotonin receptors in psychiatric disorders. *Human Psychopharmacology*, 2000; 15: 397-415.
- Nemeroff CB. Neurobiología de la depresión. *Investigación y Ciencia*, 1998; 263: 4-12.
- Nemeroff CB, Schatzberg AF. Diagnóstico y tratamiento de los trastornos psiquiátricos. *Manual de Psicofarmacología para atención primaria*. Barcelona: Ars Medica; 2001.
- Nesse RM. Is depression an adaptation? *Archives of General Psychiatry*, 2000; 57: 14-20.
- Nikisch G, Mathe AA, Czernik A, Thiele J, Bohner J, Eap CB, Agren H, Baumann P. Long-term citalopram administration reduces responsiveness of HPA axis in patients with major depression: relationship with S-citalopram concentrations in plasma and cerebrospinal fluid (CSF) and clinical response. *Psychopharmacology*, 2005; 181: 751-760.
- Niklson IA, Reimtz PE. Baseline characteristics of major depressive disorder patients in clinical trials in Europe and United States: is there a transatlantic difference? *Journal of Psychiatric Research*, 2001; 35: 71-81.
- Nishizawa S, Benkelfat C, Young SN, Leyton M, Mzengeza S, Montigny C, Blier P, Diksic M. Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997; 94: 5308-5313.
-

-
- Nutt DJ. The medicine: current treatment advances in depression. Understanding depression: a long-term, recurring disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62: 382-385.
- Nutt DJ, Forshall S, Bell C, Rich A, Sandford J, Nask J, Argyropoulos S. Mechanisms of action of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of psychiatric disorders. *European Neuropsychopharmacology*, 9 (3): 81-86.
- Nyberg L, Tulving E. Classifying human long-term memory: evidence from converging dissociations. *European Journal of Cognitive Psychology*, 1996; 8: 163-183.
- Ogasawara T, Itoh Y, Tamura M, Mushiroi T, Ukai Y, Kise M, Kimura K. Involvement of cholinergic and GABAergic systems in the reversal of memory disruption by NS-105, a cognition enhancer. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 64: 41-52.
- O'Keane V, Dinan TG, Scott L, Corcoran C. Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal axis measures after vagus nerve stimulation therapy in chronic depression. *Biological Psychiatry*, 2005; 58: 963-968.
- O'Keefe J, Dostrowlky T. The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Research*, 1971: 171-175.
- Olfson M, Klerman GL. Trends in the prescription of antidepressants by office-based psychiatrists. *Annual Journal of Psychiatry*, 1993; 150: 571-577.
- O'Mara S, Commins S, Anderson M. Synaptic plasticity in the hippocampal area CA7-subiculum projection: implications for theories of memory. *Hippocampus*, 2000; 10: 447-456.
- Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2001; 25: 219-233.
- Pan SY. Features of memory on novel situation and avoidance response: evidence from comparisons between open-field behaviour and step-through task. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1995; 16: 125-129.
- Pape HC, Narayanan RT, Smid J, Stork O, Seidenbecher T. Theta activity in neurons and networks of the amygdala related to long-term fear memory. *Hippocampus*, 2005; 15: 874-880.
- Paratcha G, Furman M, Bevilacqua L, Cammarota M, Vianna M, Levi de Stein M, Izquierdo I, Medina J. Involvement of hippocampal PKC β 1 isoform in the early phase of memory formation of an inhibitory avoidance learning. *Brain Research*, 2000; 855: 199-205.
- Pariante CM. Glucocorticoid receptor function in vitro in patients with major depression. *Stress*, 2004; 7: 209-219.
- Park SK, Nguyen MD, Fischer A, Luke MP, Affar B, Dieffenbach PB, Tseng HC, Shi Y, Tsai LH. Par-4 links dopamine signalling and depression. *Cell*, 2005; 122: 275-287.
- Parmigiani S, Palanza P, Rodgers J, Ferrari F. Selection, evolution of behavioral neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1999; 23: 957-970.
- Parra A. Antidepressivos. En: Gómez-Jarabo G (Ed). *Farmacología de la conducta*. Madrid: Síntesis; 1997, 173-187.
- Parra A. A common role for psychotropic medications: memory impairment. *Medical Hypotheses*, 2003; 60: 133-142.
- Parra A, Arenas MC, Monleón S, Vinader-Caerols C, Simón VM. Sex differences in the effects of neuroleptics on escape-avoidance behavior in mice: a review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999a; 64: 813-820.
- Parra A, Everss E, Arenas MC, Vinader-Caerols C, Monleón S. Amitriptyline administered after consolidation of inhibitory avoidance does not affect memory retrieval. *Psicothema*, 2006; 18: 513-517.
-

-
- Parra A, Everss E, Monleón S, Vinader-Caerols C, Arenas MC. Effects of acute amitriptyline administration on memory, anxiety and activity in male and female mice. *Neuroscience Research Communications*, 2002; 31: 135-144.
- Parra A, Martos A, Monleón S, Arenas MC, Vinader-Caerols C. Effects of acute and chronic maprotiline administration on inhibitory avoidance in male mice. *Behavioural Brain Research*, 2000; 109: 1-7.
- Parra A, Vinader-Caerols C, Monleón S, Simón V. Learning immobility is also involved in the forced swimming test in mice. *Psicothema*, 1999b; 11: 239-246.
- Pasani MB, Bacciottini L, Mannaioni P, Blandina P. Central histaminergic system and cognition. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 2000; 24: 107-113.
- Patel V. Cultural factors and international epidemiology. *British Medical Bulletin*, 2001; 57: 33-45.
- Pavone F, Fagioli S, Castellano C. Effects of oxotremorine on inhibitory avoidance behaviour in two inbred strains of mice: interaction with 5-methoxy-NN-dimethyltryptamine. *Psychopharmacology*, 1993; 112: 249-252.
- Pavone F, Battaglia M, Sansone M. Prevention of amitriptyline-induced avoidance impairment by tacrine in mice. *Behavioural Brain Research*, 1997; 89: 229-236.
- Pelkonen M, Marttunen M. Adolescent outpatients with depressive disorders: clinical characteristics and treatment received. *Nordic Journal of Psychiatry*, 2005; 59: 272-277.
- Pelosi L, Slade T, Blumhardt LD, Sharima VK. Working memory dysfunction in major depression: an event-related potential study. *Clinical Neurophysiology*, 2000; 111: 1531-1543.
- Peretti S, Judge R, Hindmarch I. Safety and tolerability considerations: tricyclic antidepressant vs. selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 101: S17-S25.
- Peters KR, Graf P, Hayden S, Feldan H. Neuropsychological subgroups of cognitively-impaired-not-demented (CIND) individuals: delineation, reliability, and predictive validity. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 2005; 27: 164-188.
- Petty F, Trivedi MH, Fulton M, Rush J. Benzodiazepines as antidepressants: does GABA play a role in depression? *Biological Psychiatry*, 1995; 38: 578-591.
- Philipp M, Kohnen R, Hiller K. Hypericum extract versus imipramine or placebo in patients with moderate depression: randomised multicentre study of treatment for eight weeks. *British Medical Journal*, 1999; 319: 1534-1539.
- Piccinelli M, Wilkinson G. Gender differences in depression. Critical review. *British Journal of Psychiatry*, 2000; 177: 486-492.
- Pinder RG. On the feasibility of designing new antidepressant. *Human Psychopharmacology*, 2001; 16: 53-59.
- Pinel JPJ. *Biopsicología*. Madrid: Pearson Education; 2001.
- Pivovarov AS, Nistratova VL, Boguslavskii DV. Involvement of Na/Ca exchange and intracellular mobilized Ca²⁺ in Na, K-pump-mediated control of depression of the cholinergic sensitivity of common snail neurons (correction of neurons) using a cellular analog of habituation. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2003; 33: 113-131.
- Podhorna J, McCabe S, Brown RE. Male and female C57BL/6 mice respond differently to diazepam challenge in avoidance learning tasks. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2002; 72: 13-21.
- Pollak DD, Scharl T, Leisch F, Herkner K, Villar SR, Hoeger H, Lubec G. Strain-dependent regulation of plasticity-related proteins in the mouse hippocampus. *Behavioural Brain Research*, 2006; 5: 200-204.
- Pollock M. Gender differences in psychotropic drug metabolism. *Psychopharmacology Bulletin*, 1997; 33: 235-241.
-

-
- Polster MR. Drug-induced amnesia: implications for cognitive neuropsychological investigations of memory. *Psychological Bulletin*, 1993; 114: 477-493
- Power AE, McGaugh JL. Phthalic acid amygdalopetal lesion of the nucleus basalis magnocellularis induces reversible memory deficits in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2002; 77: 372-388.
- Power AE, McIntyre CK, Litmanovich A, McGaugh JL. Cholinergic modulation of memory in the basolateral amygdale involves activation of both M1 and M2 receptors. *Behavioural Pharmacology*, 2003a; 14: 207-213.
- Power AE, Vazdarjanova, A; McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2003b; 80: 178-193.
- Puglisi-Allegra S, Cabib S, Cestari V, Castellano C. Post-training minaprine enhances memory storage in mice. Involvement of D₁ and D₂ dopamine receptors. *Psychopharmacology*, 1994a; 113: 476-480.
- Puglisi-Allegra S, Cestari V, Cabib S, Castellano C. Strain-dependent effects of post-training cocaine or nomifensine on memory storage involve both D₁ and D₂ dopamine receptors. *Psychopharmacology*, 1994b; 115: 157-162.
- Puolivali J, Jakala P, Koivisto E, Riekkinen PJR. Oxotremorine suppresses thalamocortical oscillations via thalamic muscarinic acetylcholine receptors. *Psychopharmacology*, 1998; 140: 285-292.
- Quartermain D, Nuygen T, Sheu J, Herting RL. Milacemide enhances memory storage and alleviates spontaneous forgetting in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1991; 39: 31-35.
- Quevedo J, Vianna M, Zanatta MS, Roesler R, Izquierdo I, Jerusalinsky D, Quillfeldt JA. Involvement of mechanisms dependent on NMDA receptors, nitric oxide and protein kinase A in the hippocampus but not in the caudate nucleus in memory. *Behavioural Pharmacology*, 1997; 8: 713-717.
- Racagni G. The role of neurotransmitters in depression. En: Montgomeruy SA y cols. (Eds). Understanding depression: a long-term, recurring disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2001; 62: 380-382.
- Rajkowska G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biological Psychiatry*, 2000; 48: 766-777.
- Rammsayer TH, Rodewald S, Groh D. Dopamin-antagonistic, anticholinergic and GABAergic effects on declarative and procedural memory functions. *Cognitive Brain Research*, 2000; 9: 61-71.
- Rankin EJ. Bedside evaluation of learning and memory: descriptive information on a shortened version of the Luria Memory Words Test. *Journal of Clinical Psychology*, 2000; 56: 113-118.
- Rapoport MJ, McCullagh S, Shammi P, Feinstein A. Cognitive impairment associated with major depression following mild and moderate traumatic brain injury. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 2005, 17: 61-65.
- Raymond JL, Lisberger SG, Mauk MD. The cerebellum: a neuronal learning machine? *Science*, 1996; 272: 1126-1131.
- Reber PJ, Knowlton BJ, Squire LR. Dissociable properties of memory systems: differences in the flexibility of declarative and nondeclarative knowledge. *Behavioral and Neuroscience*, 1996; 110: 861-871.
- Reid IC, Steward CA. How antidepressants work? New perspectives on the pathophysiology of depressive disorder. *British Journal of Psychiatry*, 2001; 178: 299-303.
-

-
- Ressler KJ, Nemeroff CB. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biological Psychiatry*, 1999; 46: 1219-1233.
- Ressler KJ, Nemeroff CB. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depression and Anxiety*, 2000; 12: 2-19.
- Reynolds JEF (Ed). *Martindale. The extra pharmacopoeia (28ª Edición)*. London: The Pharmaceutical Press, 1982.
- Rhodes ME, Rubin RT. Functional sex differences (sexual diergism) of central nervous system cholinergic systems, vasopressin, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in mammals: a selective review. *Brain Research Reviews*, 1999; 30: 135-152.
- Ribeiro RL, Andreatini R, Wolfman C, Viola H, Medina JH, Da Cunha C. The "anxiety state" and its relation with rat models of memory and habituation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1999; 72: 78-94.
- Richelson E. Cholinergic transduction. En: Bloom FE, Kupfer DJ. *Psychopharmacology. The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, Nueva York, 1995; 1081-1099.
- Richelson E, Nelson A. Antagonism by antidepressants of neurotransmitter receptors of normal human brain in vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1984; 230: 94-102.
- Richelson E. Pharmacology of antidepressants. *Psychopathology*, 1987; 20: S1-S12.
- Riedel WJ, van Praag HM. Avoiding and managing anticholinergic effects of antidepressants. *CNS Drugs*, 1995; 3: 245-259.
- Robinson DS, Roberts DL, Smith JM, Stringfellow JC, Kaplita SB, Seminara JA. The safety profile of nefazodone. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1996; 57: 31-38.
- Rogers JL, Kesner RP. Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2003; 80: 332-342.
- Rogers JL, Kesner RP. Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval of tone/shock-induced fear conditioning. *Learning and Memory*, 2004; 11: 102-107.
- Roldan G, Cobos-Zapain G, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA. Dose- and time-dependent scopolamine-induced recovery of an inhibitory avoidance response after its extinction in rats. *Behavioural Brain Research*, 2001; 121: 173-179.
- Rolls ET. Memory systems in the brain. *Annual Review of Psychology*, 2000; 51: 599-630.
- Roof RL, Stein DG. Gender differences in Morris water maze performance depend on task parameters. *Psychology and Behavior*, 1999; 68: 81-86.
- Roosendaal B. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology*, 2000; 25: 213-238.
- Roosendaal B, McGaugh JL. Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1996; 65: 1-8.
- Ropartz, P. Enfoque etológico de la noción de aprendizaje. En: Delacour J (Ed). *Neurobiología del aprendizaje*. Madrid: Alambra Universidad; 1981, 2-14.
- Rosatto JJ, Bonini JS, Coitinho A, Vianna MR, Medina JH, Cammarota M, Izquierdo I. Retrograde amnesia induced by drugs acting on different molecular systems. *Behavioural Neuroscience*, 2004; 118: 563-568.
- Rosenbaum RS, Winocur G, Moscovitch M. New views in old memories: reevaluating the role of the hippocampal complex. *Behavioural Brain Research*, 2001; 127: 183-197.
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Colombo PJ, Lee DW, Serrano PA. Short-term, intermediate-term, and long-term memories. *Behavioural Brain Research*, 1993; 57: 193-198.
-

- Ross S, Williams D. Bupropion: risks and benefits. *Expert opinion on drug safety*, 2005; 4: 995-1003.
- Roth JA. Antidepresivos: fármacos utilizados en el tratamiento de las alteraciones del humor. En: Smith CM, Reynard AM (Eds). *Farmacología*. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1993.
- Rubin MA, Boemo RL, Jurach A, Rojas DB, Zanolla GR, Obregon ADC, Souza DO, Mello CF. Intra-hippocampal spermidine administration improves inhibitory avoidance performance in rats. *Behavioural Pharmacology*, 2000; 11: 57-61.
- Rubin MA, Stiegemeier JA, Volkweir MA, Oliveira DM, Fenili AC, Boemo RL, Jurach A, Mello CF. Intra-amygdala spermidine administration improves inhibitory avoidance performance in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2001; 423: 35-39.
- Rush K, Streit K. Memory modulation with peripherally acting cholinergic drugs. *Psychopharmacology*, 1992; 106: 375-382.
- Ruske AC, White KG. Facilitation of memory performance by novel muscarinic agonist in young and old rats. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 1999; 63: 663-667.
- Russo-Neustadt A, Ramirez R, Kessler P. Physical activity-antidepressant treatment combination: impact on brain-derived neurotrophic factor and behaviour in an animal model. *Behavioural Brain Research*, 2001; 120: 87-95.
- Saarto T, Wiffen P. Antidepressants for neuropathic pain. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2005; 20: CD005454.
- Sacchetti B, Scelfo B, Strata P. The cerebellum: synaptic changes and fear conditioning. *Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 2005; 11: 217-227.
- Sachs GS, Guillo C. Weight gain associated with use of psychotropic medications. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1999; 60: (21): 16-19.
- Sackeim HA, Haskett RF, Mulsant BH, Thase ME, Mann JJ, Pettinati H, Greenberg R, Crowe R, Cooper T, Prudic J. Continuation pharmacotherapy in the prevention of relapse following electroconvulsive therapy. *JAMA*, 2001; 285: 1299-1307.
- Salinas JA, Introini-Collison IB, Dalmaiz C, McGaugh JL. Posttraining intraamygdala infusions of oxotremorine and propranolol modulate storage of memory for reductions in reward magnitude. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1997; 68: 51-59.
- Sanacora G, Fenton LR, Fasula MK, Rothman DL, Levin Y, Krystal JH, Mason GF. Cortical gamma-aminobutyric acid concentrations in depressed patients receiving cognitive behavioural therapy. *Biological Psychiatry*, 2006; 59: 284-286.
- Sambunaris A, Hesselink J, Pinder R, Panagides J, Stahl S. Development of new antidepressants. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1997; 58 (6): 40-53.
- Sandi C, Venero C, Cordero MI (Eds). *Estrés, memoria, trastornos asociados*. Barcelona: Ariel; 2001.
- Sanger KJ, Joly D, LePichon M. Buspirone, gepirone and ipsapirone disrupt both active and passive avoidance responding in rats. *Behavioural Pharmacology*, 1989; 1: 153-160.
- Sansone M. Effects of chlordiazepoxide, amitriptyline, imipramine and their combinations on avoidance behaviour in mice. *Psychopharmacology*, 1978; 59: 151-155.
- Sansone M, Battaglia M, Pavone F. Attenuation by nimodipine of amitriptyline-induced avoidance impairment in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 62: 613-618.
- Sansone M, Castellano C, Battaglia M, Ammassari-Teule M. Effects of oxiracetam-nicotine combinations on active and passive avoidance learning in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1991; 39: 197-200.

-
- Sansone M, Castellano C, Palazzesi S, Battaglia M, Ammassari-Teule M. Effects of oxiracetam, physostigmine, and their combination on active and passive avoidance learning in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1993; 44: 451-455.
- Santucci AC, Haroutunian V. P-Chloroamphetamine blocks pssostigmine-induced memory enhancement in rats with unilateral nucleus basalis lesions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2004; 77: 59-67.
- Sapolsky RM. Why stress is bad for your brain? *Science*, 1996; 273: 749-750.
- Sapolsky RM. The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. *Biological Psychiatry*, 2000; 48: 755-765.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen B. Corticosterone receptors decline in a site-specific manner in the aged rat brain. *Brain Research*, 1983; 289: 235-240.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen B. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocrine Reviews*, 1986; 7: 284-301.
- Sarnthein J, Morel A, von Stein A, Jeanmonod D. Thalamocortical theta coherence in neurological patients at rest and during a wording memory task. *International Journal of Psychophysiology*, 2005; 57: 87-96.
- Sauer H, Huppertz-Helmhold S, Dierkes W. Efficacy and safety of venlafaxine ER vs. amitriptyline ER in patients with major depression of moderate severity. *Pharmacopsychiatry*, 2003; 36: 169-175.
- Saunders RC, Mishikin M, Aggleton JP. Projections from the entorhinal cortex, perirhinal cortex, presubiculum, and parasubiculum to the medial thalamus in macaque monkeys: identifying different pathways using disconnection techniques. *Experimental Brain Research*, 2005; 163: 1-16.
- Schafe GE, Bauer EP, Rosis S, Farb CR, Rodrigues SM, LeDoux JE. Memory consolidation of Pavlovian fear conditioning requires nitric oxide signalling in the lateral amygdale. *European Journal of Neuroscience*, 2005; 22: 201-211.
- Schafe GE, LeDoux JE. Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in The amygdale. *Journal of Neuroscience*, 2000; 18: RC96.
- Schatzberg H. New indications for antidepressants. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2000; 61: (11): 9-17.
- Schatzberg AF, Schilkraut JJ. Recent studies on norepinephrine systems in mood disorders. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press; 1995, 911-920.
- Schneider AM, Wilkins E, Firestone A, Everbach EC, Naylor JC, Simson PE. Enhanced retention in the passive-avoidance task by 5-HT(1A) receptor blockade is not associatd with increased activity of the central nucleus of the amygdale. *Learning and Memory*, 2003; 10: 394-400.
- Schoenbaum M, Sherbourne C, Well K. Gender patterns in cost effectiveness of quality improvement for depression: results of a randomized, controlled trial. *Journal of Affective Disorders*, 2005; 87: 319-325.
- Schroeder N, de Paris F, Roesler R, Medina JH, Souza DO, Izquierdo I. Effect of inhibitory avoidance training on 3H-glutamate binding in the hippocampus and parietal cortex of rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2000; 33: 229-232.
- Schroeder JP, Packard MG. Facilitation of memory for extinction of drug-induced conditioned reward: role of amygdala and acetylcholine. *Learning and Memory*, 2004; 11: 641-647.
- Schwaninger M, Weisbrod M, Knepel W. Progress in defining the mechanism of action of antidepressants. Across receptors and into gene transcription. *CNS Drugs*, 1997; 8: 237-243.
-

- Segovia S, Guillamón A, del Cerro MCR, Ortega E, Pérez-Laso C, Rodríguez-Zafra M, Beyer C. The development of brain sex differences: a multisignaling process. *Behavioural Brain Research*, 1999; 105: 69-80.
- Sein-Anand J, Chodorowski Z, Habrat B. Recreational amitriptyline abuse. *Przegląd Lekarski*, 2005; 62: 397-398.
- Senda T, Matsuno K, Kobayashi T, Mita S. Reduction of the scopolamine-induced impairment of passive-avoidance performance by σ receptor agonist in mice. *Physiology and Behavior*, 1997; 61: 257-264.
- Serra P, González L, Sabater A, Fontané MM, Esteva M, Carandell E. Perfil de prescripción de fármacos antidepresivos en un equipo de atención primaria. *Atención Primaria*, 1997; 20 (1): 373-373.
- Servicio Nacional de Salud. Grupos terapéuticos y principios activos de mayor consumo en el Sistema Nacional de Salud durante 2004. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 2005; 29 (2): 49-53.
- Shapiro BH, Agrawal AK, Pampori NA. Gender differences in drug metabolism regulated growth hormone. *International Journal of Biochemistry and Cellular Biology*, 1995; 27; 9-20.
- Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93: 3908-3913.
- Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss on medically healthy women with recurrent major depression. *Journal of Neuroscience*, 1999; 19: 5034-5043.
- Shim I, Ha Y, Chung JY, Lee HJ, Yang KH, Chang JW. Association of learning and memory impairments with changes in the septohippocampal cholinergic system in rats with kaolin-induced hydrocephalus. *Neurosurgery*, 2003; 53: 416-425.
- Shimizu E, Tang YP, Rampson C, Tsien JZ. NMDA receptor dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science*, 2000; 290: 1170-1174.
- Shimizu-Sasamata A, Yamamoto M, Harada M. Cerebral activating properties of indeloxazine HCl and its optical isomers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1993; 45: 335-341.
- Simpson HB, Nee JC, Endicott J. First-episode major depression. Few sex differences in course. *Archives of General Psychiatry*, 1997; 54: 633-639.
- Sing N, Parle M. Sildenafil improves acquisition and retention of memory in mice. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2003; 47: 318-324.
- Sir A, D'Souza RF, Uguz S, George T, Vahip S, Hopwood M, Martin AJ, Lam W, Burt T. Randomized trial of sertraline vs. venlafaxine XR in major depression: efficacy and discontinuation symptoms. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2005; 66: 1312-1320.
- Skolnick P. Antidepressants for the new millennium. *European Journal of Pharmacology*, 1999; 375: 31-40.
- Smiley JF, Mesulam MM. Cholinergic neurons of the nucleus basalis of Meynert receive cholinergic, catecholaminergic and GABAergic synapses: an electron microscopic investigation in the monkey. *Neuroscience*, 1999; 88: 241-255.
- Smith CC, McMahon LL. Estrogen-induced increase in the magnitude of long-term potentiation occurs only when the ratio of NMDA transmission to AMPA transmission is increased. *The Journal of Neuroscience*, 2005; 25: 7780-7791.
- Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Ames; 1980.
- Snyder SH. El cerebro y sus mensajeros. En: Snyder SH (Ed). *Drogas y Cerebro*. Prensa Científica, Barcelona; 1992, 1-29.

-
- Son SE, Kirchner JT. Depression in children and adolescents. *American Family Physician*, 1997; 56: 697-704.
- Souza MM, Mello e Souza T, Vinadé E, Rodríguez C, Choi H, Dedavid e Silva TL, Medina I, Izquierdo I. Effects of posttraining treatments in the posterior cingulate cortex on short- and long-term memory consolidation for inhibitory avoidance in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2002; 77: 202-210.
- Souza FA, Sanchis-Segura C, Fukada SY, Bortoli VC, Zangossi HJR, Oliveira AM. Intracerebroventricular effects of angiotensin II on a step-through passive avoidance task in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2004; 81: 100-103.
- Sourza FA, Pereira FR, Santos R. Validation of a new computerized system for recording and analysing drug-induced tremor in rats. *The Journal of Pharmacology Toxicology Methods*, 2001; 46: 137-143.
- Squire LR. *Memory and brain*. New York: Oxford University Press; 1987.
- Squire LR. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychological Review*, 1992; 99: 195-231.
- Squire LR, Clark RE, Knowlton BJ. Retrograde amnesia. *Hippocampus*, 2001; 11: 50-55.
- Squire LR, Zola S. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93: 13515-13522.
- Stahl SM. *Psicofarmacología esencial: bases neurocientíficas y aplicaciones clínicas*. Barcelona: Ariel; 2002.
- Stanton ME. Multiple memory systems, development and conditioning. *Behavioural Brain Research*, 2000; 110: 25-37.
- Stefanacci L, Bufalo EA, Schmolck H, Squire LR. Profound amnesia after damage to the medial temporal lobe: a neuroanatomical and neuropsychological profile of patient E.P. *Journal of Neuroscience*, 2000; 20: 7024-7036.
- Sternbach H. The serotonin syndrome. *American Journal of Psychiatry*, 1991; 148: 705-713.
- Sternberg DE, Jarvick ME. Memory functions in depression. Improvement with antidepressants medication. *Archives of General Psychiatry*, 1976; 33: 219-224.
- Suen LJ, Morris DL. Depression and gender differences: focus on Taiwanese American older adults. *Journal of Gerontological Nursing*, 2006; 32: 28-36.
- Sulser F, Vetulani J, Mobley PL. Mode of action of antidepressants drugs. *Biochemical Pharmacology*, 1978; 27: 257-261.
- Suzuki M, Yamaguchi T, Ozawa Y, Ohyma M, Yamamoto M. Effects of YM796 a novel muscarinic agonist, on disturbance of passive avoidance learning behavior in drug-treated and senescent-accelerated mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1995; 275: 725-728.
- Suzuki WA, Clayton NS. The hippocampus and memory: a comparative and ethological perspective. *Current Opinion in Neurobiology*, 2000; 10: 168-773.
- Suzuki WA, Zola-Morgan S, Squire LR; Amaral DG. Lesions of the perirhinal and parahippocampal cortices in the monkey produce long-lasting memory impairment in the visual and tactual modalities. *Journal of Neuroscience*, 1993; 13: 5418-5432.
- Swiecicki L, Bidzinski A, Tonderska A. Platelet serotonin transport in the group of outpatients with seasonal affective disorder before and after light treatment, and in remission (in the summer). *Psychiatria Polska*, 2005; 39: 459-468.
- Syvalahti EKG. Biological aspects of depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1994; 377: 11-15.
-

- Taibjee SM, Ramani P, Brown R, Moss C. Lethal cardiomyopathy in epidermolysis bullosa associated with amitriptyline. *Archives of Disease in Childhood*, 2005; 90: 871-872.
- Takahashi K, Yamamoto M, Suzuki M, Ozawa Y, Yamaguchi T, Andoh H, Ishikawa K. Effects of cerebral metabolic enhancers on brain function in rodents. *Current Therapeutic Research*, 1995; 56: 478-485.
- Takamori K, Yoshida S, Okuyama S. Availability of learned helplessness test as a model of depression compared to a forced swimming test in rats. *Pharmacology*, 2001; 63: 147-153.
- Takeuchi H, Yatsugi S, Hatanaka K, Nakato K, Hattori H, Sonoda R, Koshiya K, Fuji M, Yamaguchi T. Pharmacological studies on YM992, a novel antidepressant with selective serotonin reuptake inhibitory and 5-HT_{2A} receptor antagonistic activity. *European Journal of Pharmacology*, 1997; 329: 27-35.
- Talley CEP, Kahn S, Alexander LJ, Gold PE. Epinephrine fails to enhance performance of food-deprived rats on a delayed spontaneous alternation task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2000; 73: 79-86.
- Tanabe S, Shishido Y, Furushiro M, Kado K, Hashimoto S, Yokokura T, Ohsawa T. Facilitation of passive avoidance response by newly synthesized cationized arginine vasopressin fragment 4-9 in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 1997, 57: 251-256.
- Tanabe S, Shishido Y, Nakayama Y, Furushiro M, Hashimoto, S, Terasaki T, Tsujimoto G, Yokokura T. Effects of arginine-vasopressin fragment 4-9 on rodent cholinergic systems. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999; 63: 549-553.
- Tassin JP. Interrelations entre les neuromédiateurs impliqués dans la dépression et les antidépresseurs. *L'Encéphale*, 1994; 20: 623-628.
- Taubenfeld SM, Wiig KA, Bear MF, Alberini C. A molecular correlate of memory and amnesia in the hippocampus. *Nature Neuroscience*, 1999; 2: 309-310.
- Taylor DP, Carter RB, Eison AS, Mullins UL, Smith HL, Torrente JR. Pharmacology and neurochemistry of nefazodone, a novel antidepressant drug. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1995; 56: 3-11.
- Terman JS, Terman M, Cooper TB. Circadian time of morning light administration and therapeutic response in winter depression. *Archives of General Psychiatry*, 2001; 58: 69-75.
- Teufel-Mayer R, Gleitz J. Effects of long-term administration of hypericum extracts on the affinity and density of the central serotonergic 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors. *Pharmacopsychiatry*, 1997; 30 (supp 2): 113-116.
- Thase ME, Rush AJ. Treatment-resistant depression. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press; 1995, 1081-1097.
- Thompson PJ. Antidepressant and memory: a review. *Human Psychopharmacology*, 1991; 6: 79-90.
- Thompson RF, Kim JJ. Memory system in the brain and localization of a memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996; 93: 13438-13444.
- Thompson RF, Krupa DJ. Organization of memory traces in the mammalian brain. *Annual Review of Neuroscience*, 1994; 17: 519-549.
- Thomson PLM. *Diccionario de especialidades farmacéuticas (DEF)*. México: Edición 51; 2005. Available from: <http://www.thomsonplm.com/>.
- Tucha O, Aschenbrenner S, Eichnammer P, Putzhammer A, Sartor H, Klein HE, Lange KW. The impact of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors on handwriting moments of patients with depression. *Psychopharmacology*, 2002; 159: 211-215.
- Torras M, Portell I, Morgado I. The amygdaloid body: functional implications. *Revista de Neurobiología*, 2001; 33: 471-476.

- Trinh JV, Nehrenberg DL, Jacobsen JP, Caron MG, Wetsel WC. Differential psychostimulant-induced activation of neural circuits in dopamine transporter knockout and wild type mice. *Neuroscience*, 2003; 118: 279-310.
- Tzavara ET, Bymaster FP, Felder CC, Wade M, Gomeza J, Wess J, McKinzie DL, Nomidos GG. Dysregulated hippocampal acetylcholine neurotransmission and impaired cognition in M2, M4, and M2/M4 muscarinic receptor knockout mice. *Molecular Psychiatry*, 2003; 8: 673-679.
- Uhr M, Steckler T, Yassouridis A, Holsboer F. Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain barrier deficiency due to Mdr1a P-Glycoprotein gene disruption. *Neuropsychopharmacology*, 2000; 22: 380-387.
- Vaeroy H, Tanum L, Bruaset H, Morkrid L, Forre O. Symptoms of depression and anxiety in functionally disabled rheumatic pain patients. *Nordic Journal of Psychiatry*, 2005; 59: 109-113.
- Vaidya VA, Duman RS. Depression-emerging insights from neurobiology. *British Medical Bulletin*, 2001; 57: 61-79.
- Vaidya VA, Terwilliger RZ, Duman RS. Alterations in heavy and light neurofilament proteins in hippocampus following chronic ECS administration. *Synapse*, 2000; 35: 137-143.
- Vallejo J. *Introducción a la psicopatología y la psiquiatría*. Barcelona: Masson-Salvat; 1994.
- Vallejo MA. Depresión. En: Vallejo MA (Ed). *Manual de terapia de conducta. Volumen I*. Madrid: Dykinson; 1998.
- Van Ophoven A, Hertle L. Long-term results of amitriptyline treatment for interstitial cystitis. *The Journal of Urology*, 2005; 147: 1837-1840.
- Vazdarjanova A, McGaugh JL. Basolateral amygdale is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning. *Journal of Neuroscience*, 1999; 19: 6615-6622.
- Vedel KL. Gender differences in patients presenting with a single depressive episode according to ICD-10. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 2005; 40: 197-201.
- Velasco A, Alvarez FJ. *Compendio de psiconeurofarmacología*. Madrid: Díaz de Santos; 1988.
- Vetulani J, Stawarz RJ, Dingell JV, Sulser F. A possible common mechanisms of action of antidepressants treatments. Reduction in the sensitivity of the noradrenergic cyclic AMP generating system in the rat limbic forebrain. *Archives of Pharmacology*, 1976; 293: 109-114.
- Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM, Medina JH, Izquierdo I. Intrahippocampal infusión o fan inhibitor of protein kinase A separates short- from long-term memory. *Behavioural Pharmacology*, 1999; 10: 223-227.
- Vianna MRM, Izquierdo IA, Barros DM, Souza MM, Rodrigues C, Sant'Anna MK, Medina JH, Izquierdo I. Pharmacological differences between memory consolidation of habituation to an open field and inhibitory avoidance learning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2001; 34: 233-240.
- Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM, Walz R, Medina JH, Izquierdo I. Short- and long-term memory: Differential involvement of neurotransmitter systems and signal transduction cascades. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2000; 72: 353-364.
- Vinader-Caerols C, Aguilar MA, Pérez-Iranzo N, Miñarro J, Parra A, Simón VM. Apparent vs. real effects of scopolamine on learning o an active avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1996; 66: 246-251.
- Vinader-Caerols C, Martos AJ, Monleón S, Arenas MC, Parra A. Acute effects of maprotiline on learning, anxiety, activity and analgesia in male and female mice. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 2006; 66: 23-31.
- Walsh BT, Sysko R, Parides MK. Early response to desipramine among women with bulimia nervosa. *The International Journal of Eating Disorders*, 2006; 39: 177-181.

-
- Walz R, Roesler R, Barros DM, Souza MM, Rodrigues C, Sant'Anna MK, Quevedo J, Choi H, Neto WP, DeDavid e Silva TL, Medina JH, Izquierdo I. Effects of post-training infusions of amito-gen-activated protein kinase inhibitor into the hippocampus or entorhinal cortex on short- and long-term retention of inhibitory avoidance. *Behavioural Pharmacology*, 1999; 10: 723-730.
- Walz R, Roesler R, Reinke A, Martins MR, Quevedo J, Izquierdo I. Differential role of entorhinal and hippocampal nerve growth factor in short- and long-term memory modulation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2005; 38: 55-58.
- Wang N, Orr-Urtreger A, Chapman J, Rabinowitz R, Korczyn AD. Nicotinic acetylcholine receptors α_5 subunits modulate oxotremorine-induced salivation and tremors. *Journal Of The Neurological Sciences*, 2004; 222: 87-91.
- Wauterickx N, Bracke P. Unipolar depression in the Belgian population trends and sex differences in an eight-wave sample. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 2005; 40: 691-699.
- Wenzel A, Steer RA, Beck AT. Are there any gender differences in frequency of self-reported somatic symptoms of depression? *Journal of Affective Disorders*, 2005; 89: 177-181.
- Weissman MM, Klerman GL. Sex differences and the epidemiology of depression. *Archives of General Psychiatry*, 1977; 34: 98-111.
- Weissman MM, Leaf PJ, Holzer CE, Myers JK, Tischler GL. The epidemiology of depression. An update on sex differences in rates. *Journal of Affective Disorders*, 1984; 7: 179-188.
- Weissman MM, Klerman GL. Gender and depression. *Trends in Neurosciences*, 1985; 8: 416-420.
- Weissman MM, Bland R, Joyce PR, Newman S, Wells JE, Wittchen H. Sex differences in rates of depression: cross-national perspectives. *Journal of Affective Disorders*, 1993; 29: 77-84.
- West CH, Weiss JM. A selective test for antidepressant treatments using rats bred for stress-induced reduction of motor activity in the swim test. *Psychopharmacology*, 2005; 182: 9-23.
- Wiggis CL, Weisberg J, Martin A. Neural correlates of semantic and episodic memory retrieval. *Neuropsychologia*, 1999; 37: 103-118.
- Wileman SM, Eagles JM, Andrew JE, Howie FL, Cameron IM, McCormack K, Naji S. Light therapy for seasonal affective disorder in primary care. *British Journal of Psychiatry*, 2001; 178: 311-316.
- Wilensky AE, Schafe GE, LeDoux JE. The amygdale modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 2000; 20: 7059-7066.
- Williams CL, Meck WH. The organizational effects of gonadal steroids on sexually dimorphic spatial ability. *Psychoneuroendocrinology*, 1991; 16: 155-176.
- Williams FE, Messer WS. Muscarinic acetylcholine receptors in the brain of the zebrafish (*Danio rerio*) measured by radioligand binding techniques. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology and Pharmacology*, 2004; 137: 349-353.
- Williams JM, Barnhofer T, Crane C, Beck AT. Problem solving deteriorates following mood challenge in formerly depressed patients with a history of suicidal ideation. *Journal of Abnormal Psychology*, 2005; 114: 421-431.
- Willner P. Dopamine and depression: a review of recent evidence. III. The effects of antidepressant treatment. *Brain Research Reviews*, 1983; 6: 237-246.
- Willner P. Dopaminergic mechanisms in depression and mania. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press; 1995, 921-930.
- Wilson S, Argyropoulos S. Antidepressants and sleep: a qualitative review of the literature. *Drugs*, 2005; 65: 927-947.
-

- Winkler D, Pjrek E, Kasper S. Anger attacks in depression evidence for a male depressive syndrome. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 2005; 74: 303-307.
- Winocur G, Hasher L. Aging and time of day effects on cognition in rats. *Behavioral of Neuroscience*, 1999; 113: 991-997.
- Wong E, Sonders M, Amara S, Tinholt P, Piercey M, Hoffmann W, Hyslop D, Franklin S, Porsolt R, Bonsignori A, Carfagna N, McArthur R. Reboxetine: a pharmacologically potent, selective, and specific norepinephrine reuptake inhibitor. *Biological Psychiatry*, 2000; 47: 818-829.
- Wong ML, Licinio J. Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews*, 2001; 2: 343-351.
- Wood ER, Dudchenko PA, Robitsek RJ, Eichenbaum H. Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron*, 2000; 27: 623-633.
- Xu Y, Ku BS, Yao HY, Lin YH, Ma X, Zhang YH, Li XJ. Antidepressant effects of curcumin in the forced swim test and olfactory bulbectomy models of depression in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2005; 82: 200-206.
- Yamada M, Higuchi T. Functional genomics and depression research: beyond the monoamine hypothesis. *European Neuropsychopharmacology*, 2002; 12: 235-244.
- Yamaguchi T, Takahashi K, Suzuki M, Yamamoto M, Andoh H, Ishikawa K. Effects of indeloxazine hydrochloride, a cerebral activator, on brain function in rodents. *Current Therapeutic Research*, 1995; 56: 436-443.
- Yamazaki N, Kato K, Kurihara E, Nagaoka A. Cholinergic drugs reverse AF64A-induced impairment of passive avoidance in rats. *Psychopharmacology*, 1991; 103: 215-222.
- Yanai K, Son LZ, Endou M, Sakurai E, Nakagawasai O, Tadano T, Kisara K, Inoue I, Watanabe T. Behavioural characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H1 receptors. *Neuroscience*, 1998; 87: 479-487.
- Yau JL, Noble J, Hibberd C, Rowe WB, Meaney MJ, Morris RG, Seckl JR. Chronic treatment with the antidepressant amitriptyline prevents impairments in water maze learning in aging rats. *Journal of Neuroscience*, 2002; 22: 1436-1442.
- Yonkers KA. Assessing unipolar mood disorders in women. *Psychopharmacological Bulletin*, 1998; 34: 261-266.
- Yonkers KA, Kando JC, Cole JO, Blumenthal S. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychotropic medication. *American Journal of Psychiatry*, 1992; 149: 587-595.
- Zanatta MS, Schaeffer E, Schmitz PK, Medina JH, Quevedo J, Quillfeldt JA, Izquierdo I. Sequential involvement of NMDA receptor-dependent processes in hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in memory processing. *Behavioural Pharmacology*, 1996; 7:341-347.
- Zarrindast MR, Farahmandfar M, Rostami P, Rezayof A. The influence of central administration of dopaminergic and cholinergic agents on morphine-induced amnesia in morphine-sensitized mice. *Journal of Psychopharmacology*, 2006; 20: 59-66.
- Zarrindast MR, Jamali-Racufy N, Shafaghi B. Effects of high doses of theophylline on memory acquisition. *Psychopharmacology*, 1995; 122: 307-311.
- Zarrindast MR, Khodjastehfar E, Oryan S, Torkaman-Boutorabi A. Baclofen –impairment of memory retention in rats: possible interaction with adrenoceptors mechanism(s). *European Journal of Pharmacology*, 2001; 411: 283-288.
- Zarrindast MR, Sadegh M, Shafaghi B. Effects of nicotine on memory retrieval in mice. *European Journal of Pharmacology*, 1996; 295: 1-6.

-
- Zhao MG, Toyoda H, Lee YS, Wu LJ, Ko SW, Zhang XH, Jia Y, Shum F, Xu H, Li BM, Kaang BK, Zhuo M. Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron*, 2005; 47: 859-872.
- Zohar J, Westenberg HGM. Anxiety disorders: a review of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2000; 101: S39-S49.
- Zunzunegui MV, Bland F, Llacer A, León V. Gender differences in depressive symptoms among Spanish elderly. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 1998; 33: 195-205.
-