

### **3. MODULACIÓ DE LA CONSOLIDACIÓ DE LA MEMÒRIA**

#### **3.1. INTRODUCCIÓ**

Després de l'adquisició d'un aprenentatge segueix un període de temps durant el qual la formació d'una traça de memòria a una zona del cervell pot ser modulada per l'acció d'altres zones cerebrals o per influències hormonals (McGaugh, 1989). Aquest període làbil pel que passa la informació recent adquirida es coneix amb el nom de consolidació, i la seva duració està en relació amb el curs temporal que segueixen els processos cel·lulars i moleculars subjacents a l'aprenentatge, de manera que un cop establitzats, no es pot modular la formació de la traça de memòria recent adquirida. D'acord amb McGaugh (2000), aquest període làbil pot haver estat seleccionat per l'evolució per la seva important funció adaptativa, ja que permet als processos endògens activats per una experiència determinada modular la intensitat del record d'aquesta experiència.

Sembla haver diferents sistemes que poden modular la formació de traces de memòria, però podem destacar tres característiques comuns a tots aquests sistemes (Cahill i McGaugh, 1996):

1. El seu període d'acció està limitat a una finestra de temps després de l'activació de la traça de memòria. Passat un cert temps, aquests sistemes poden ser inactivats sense que s'observi cap afectació sobre la posterior recuperació de la informació.
2. Aquests sistemes poden tant facilitar com dificultar la formació de la memòria en funció de les condicions de l'aprenentatge.

3. Mentre que els diferents sistemes de memòria només poden emmagatzemar un tipus d'informació, els sistemes moduladors poden influenciar la formació de diferents tipus de memòries.

En aquest treball, immediatament després de les sessions d'adquisició de dues tasques d'aprenentatge diferents, hem estimulat elèctricament un d'aquests possibles sistemes moduladors de la consolidació de la memòria: el sistema del reforç del FPM, mitjançant tractament d'AEIC. Abans de centrar-nos en aquest mètode de modulació de la consolidació de la memòria, però, repassarem breument el concepte de consolidació i les seves limitacions, així com les seves bases cel·lulars i moleculars.

### **3.2. CONSOLIDACIÓ DE LA MEMÒRIA**

L'estudi de la memòria sovint s'ha realitzat des d'una perspectiva temporal. Així, s'ha diferenciat una memòria a curt termini i una memòria a llarg termini, i al pas d'una forma de memòria a l'altra se l'ha denominat consolidació. Les primeres observacions clíniques sobre el fenomen de la consolidació de la memòria daten del segle XIX, i van servir a T. Ribot, al 1882, per a enunciar la llei de regressió. Aquesta llei afirma que aquells fets experimentats immediatament abans d'un traumatisme cerebral són més susceptibles de ser oblidats que els experimentats amb anterioritat (Sara, 2000a).

El terme consolidació apareix per primer cop l'any 1900. G.E. Müller i A. Pilzecker, en la monografia titulada *Contribucions Experimentals a la Ciència de la Memòria*, proposen que l'aprenentatge no instaura immediatament memòries permanents, sinó que aquestes triguen un temps en ser fixades, o consolidades, i per tant, passen d'un estat fràgil inicial, vulnerable a la interferència, a un estat final en el que ja no poden ser interferides (Lechner, Squire i Byrne, 1999). L'interès per l'estudi de la consolidació de la memòria, però, no apareix de nou fins al 1949, any en que dos treballs experimentals van mostrar com l'administració d'una descàrrega electroconvulsiva post-entrenament induïa amnèsia retrògrada en rosegadors (McGaugh, 2000). Aquell mateix any, D.O. Hebb va proposar l'existència de dues traces de memòria, una a curt

termini, resultant de l'activitat reverberant de les neurones, i una a llarg termini, resultant de l'estabilització d'aquesta activitat reverberant (Hebb, 1949). Per últim, el descobriment de que els inhibidors de la síntesi de proteïnes no afectaven sobre l'aprenentatge d'una tasca però impedièn el seu record posterior (Agranoff, Davis i Brink, 1966), va demostrar l'existència de com a mínim dues etapes en la formació de la memòria, sent la síntesi de proteïnes important només per a la segona d'aquestes etapes.

Actualment el terme consolidació s'usa en dos tipus diferents d'aproximacions a l'estudi de la memòria. La primera aproximació se situa en l'àmbit de la interacció entre sistemes cerebrals, en el que el concepte de consolidació fa referència al pas de la traça de memòria d'unes estructures cerebrals a d'altres, típicament del hipocamp a la neocòrta (per exemple, Alvarez i Squire, 1994 o Squire i Alvarez, 1995). No parlarem ara d'aquesta aproximació, perquè ja ha estat desenvolupada a l'apartat de sistemes de memòria. La segona aproximació se situa en l'àmbit cel·lular i molecular, on la memòria és vista com un fenomen plàstic que implica canvis en l'efectivitat de la transmissió sinàptica. El concepte de consolidació fa referència als processos intracel·lulars que converteixen les representacions làbils de la memòria a curt termini en representacions estables a llarg termini (per exemple, Bailey, Bartsch i Kandel, 1996 o Abel i Kandel, 1998). Aquesta última aproximació a la consolidació, però, ha estat recentment revisada, demostrant-se algunes limitacions.

### 3.2.1. Limitacions de la teoria de la consolidació de la memòria

En els últims anys parlar de consolidació volia dir parlar d'una traça de memòria làbil i modulable que s'enfortia lentament amb el pas del temps (McGaugh, 2000). Recentment, però, la recuperació d'alguns treballs significatius, oblidats enmig de l'extensa literatura sobre el tema, ha qüestionat l'exactitud d'aquesta aproximació (Nadel i Land, 2000).

#### 3.2.1.1. Recuperació d'amnèsies retrògrades experimentals

Segons la teoria de la consolidació, si després de l'adquisició d'un aprenentatge impedim

l'estabilització de la traça de memòria mitjançant tractaments causants d'amnèsia (xocs electroconvulsius, hipotèrmia, hipertèrmia, concussions cerebrals, tasques interferents, administració de substàncies...) provocarem una amnèsia retrògrada permanent i irrecuperable per a l'aprenentatge en qüestió. Alguns treballs, però, mostren com en determinades circumstàncies l'amnèsia retrògrada pot ser recuperada. Si immediatament abans de la sessió de record es preexposa el subjecte experimental a algun estímul rellevant de l'aprenentatge original, es pot recuperar la traça de memòria (Miller i Matzel, 2000). Així, per exemple, en un aprenentatge de por condicionada, la preexposició a l'EI (xoc elèctric) de l'aprenentatge original, va permetre recuperar la resposta de por condicionada a un to (Miller i Springer, 1972). Igualment, la preexposició a un assaig d'extinció abans de la sessió de record va permetre la recuperació d'un aprenentatge esborrat (Gordon i Mowrer, 1980). Aquest últim cas és especialment interessant, ja que en condicions normals un assaig d'extinció dificulta la recuperació de la informació, però en aquest cas la facilita (Miller i Matzel, 2000).

A l'hora de donar explicació a aquests resultats, el debat està centrat en si l'amnèsia retrògrada és en realitat un problema de consolidació o bé de recuperació de la informació. D'acord amb la primera hipòtesi, alguns autors defensen que els tractaments causants d'amnèsia rarament esborren totalment la traça de memòria (Cherkin, 1972), i per tant, la memòria supervivent permet la readquisició de l'aprenentatge després de l'exposició a algun dels estímuls que formaven part de l'aprenentatge original.

D'altres autors, en canvi, defensen que l'amnèsia retrògrada és un problema de recuperació de la informació (Miller i Matzel, 2000). Segons aquest últim punt de vista, una traça de memòria estable es pot formar en uns quants milisegons, com demostren alguns treballs experimentals (Lewis, Miller i Misanin, 1969). Però els circuits que permetran la posterior recuperació d'aquesta nova informació són vulnerables als tractaments causants d'amnèsia ja des de la fase d'adquisició de l'aprenentatge. La presentació d'un estímul de l'aprenentatge original pot ser una clau de record molt efectiva per superar el problema de recuperació mitjançant la formació de noves rutes d'accés a la informació (Miller i Matzel, 2000).

### 3.2.1.2. Reconsolidació de la memòria

Al contrari del que prediu la teoria clàssica de la consolidació de la memòria, en alguns treballs s'ha observat com l'estat làbil de la traça que segueix a l'adquisició d'un aprenentatge es reproduïx cada vegada que la informació és recuperada, ja que, si durant el període que segueix a la reactivació d'aquesta informació s'apliquen tractaments causants d'amnèsia, s'esborra la traça d'aquesta informació *antiga*, teòricament ja consolidada (Nader, Schafe, i LeDoux, 2000b). El procés de consolidació que segueix a la reactivació d'una traça de memòria és conegut com a reconsolidació (Sara, 2000a; 2000b).

Misanin, Miller i Lewis (1968) van ser els primers en mostrar els efectes amnèsics de l'aplicació de xocs electroconvulsius després de la reactivació de la traça de memòria d'una tasca d'evitació passiva. Amb aquest paradigma conductual, per reactivar la traça de memòria els subjectes poden ser preexposats a l'estímul incondicionat, a l'estímul condicionat o a alguna clau contextual present a l'aprenentatge original, però s'han obtingut resultats similars amb tasques de laberints preexposant els subjectes a la caixa de sortida i al soroll d'obertura de la porta de sortida (Lewis, Bregman i Mahan, 1972).

Recentment, Nader, Schafe i LeDoux (2000a) han demostrat com un aprenentatge de por condicionada consolidat (la memòria es reactivava 1 o 14 dies després de l'aprenentatge inicial), pot ser esborrat si després de preexposar el subjecte a l'estímul condicionat se li injecta un inhibidor de la síntesi de proteïnes als nuclis basal i lateral de l'amígdala (lloc on es localitza la traça de memòria d'aquest aprenentatge). Aquest treball demostra, a més, com la reconsolidació segueix un curs temporal semblant al de la consolidació, ja que quan l'inhibidor de la síntesi de proteïnes és administrat 6 hores després de la reactivació de la memòria no té cap efecte. És a dir, l'amnèsia retrògrada per a les memòries reactivades té també un gradient temporal (Nader et al., 2000a).

Durant el període de reconsolidació, doncs, una traça de memòria estable es torna novament làbil i, per tant, pot ser esborrada aplicant els tractaments adequats. Això va portar a alguns autors a proposar un canvi en la classificació de les etapes de memòria, consistent en substituir

els conceptes de memòria a curt i llarg termini per uns que tinguessin en compte la fase de reconsolidació de la informació. Així, Lewis (1979) va proposar dividir la memòria en **activa**, per a les memòries noves i les reactivades, i **inactiva**, per a les memòries consolidades i no reactivades.

### 3.2.2. Bases cel·lulars i moleculars de la consolidació de la memòria

Des del punt de vista cel·lular i molecular la memòria és vista com un seguit de canvis plàstics que modifiquen l'efectivitat de la transmissió sinàptica. El model de plasticitat sinàptica més estudiat és sens dubte el de la potenciació a llarg termini (PLT). La PLT consisteix en una facilitació a llarg termini de l'efectivitat sinàptica en resposta a una estimulació breu i repetida. Aquesta facilitació de la comunicació entre neurones mostra especificitat sinàptica i permet l'associació d'estímuls, ja que sols pot ser induïda quan l'activitat presinàptica coincideix amb la despolarització postsinàptica (Abel i Kandel, 1998). Això és degut a que el receptor del glutamat NMDA, del qual depèn en molts casos la inducció de PLT i en conseqüència l'adquisició d'un aprenentatge (Morris, 1989; Morris, Andersen, Lynch i Baudry, 1986), es comporta com un detector de coincidències a conseqüència de que només és sensible al glutamat quan hi ha una despolarització prèvia de la membrana (Martin, Grimwood i Morris, 2000). Aquest receptor és permeable als ions de  $\text{Ca}^{2+}$ , i l'entrada d'aquests cations al compartiment intracel·lular desencadena una cascada de processos bioquímics que conduiran a la facilitació de la transmissió sinàptica, a curt i a llarg termini.

#### 3.2.2.1. Memòria a curt termini

Una de les zones del cervell on més s'han estudiat les bases moleculars de la memòria a curt termini és a l'àrea CA1 de l'hipocamp. L'entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a l'espai intracel·lular activa diverses quinases (tirosina quinases, PKC, CaMKII) i fosfatases, i estimula la síntesi d'òxid nítric (ON) per part de l'enzim òxid nítric sintasa. El resultat de tot això és un canvi en la configuració de proteïnes existents, com els receptors del glutamat, i l'estimulació d'alliberament de neurotransmissor per part de la neurona presinàptica, gràcies a que l'ON es comporta com un

missatger retrògrad (Mayford, Abel, i Kandel, 1995). És a dir, una facilitació en la transmissió sinàptica. Aquesta traça de memòria a curt termini sembla que pot començar a esborrar-se passats 30 minuts de l'adquisició de l'aprenentatge, augmentant progressivament la pèrdua de memòria amb el pas del temps. Aquest esvaïment de la traça pot ser parcialment compensat per la repetició de l'experiència (Mayford et al., 1995). Tot i que la formació de la memòria a curt termini pot seguir diferents rutes bioquímiques en funció de l'àrea cerebral on és estudiada, en cap cas s'hi veu implicada l'expressió gènica ni la síntesi de proteïnes.

### 3.2.2.2. Memòria a llarg termini

Al contrari del que observàvem en la formació de la memòria a curt termini, el mecanisme bioquímic de la consolidació de la memòria a llarg termini és comú a les diferents àrees cerebrals estudiades. De la mateixa manera, aquests processos estan força conservats al llarg de l'escala filogenètica, i semblen ser els mateixos pels diferents tipus d'aprenentatges que els éssers vius poden realitzar (Bailey et al, 1996). Com ja hem comentat, per a la formació de memòries a llarg termini es necessària l'expressió gènica i la síntesi de proteïnes. La inducció de la fase tardana de la PTL als diferents circuits sinàptics de l'hipocamp, per exemple, requereix d'una estimulació d'alta freqüència més repetida que la necessària per induir fenòmens plàstics a curt termini, el que activarà la proteïna quinasa A (PKA) i el factor de transcripció CREB (*cAMP response element binding protein*) (Abel i Kandel, 1998). En última instància, l'estabilització a llarg termini dels canvis en l'efectivitat sinàptica serà resultat de modificacions estructurals en la neurona, com el creixement de noves connexions sinàptiques (Bailey et al., 1996; Dudai, 1996).

Tot i que sovint es pensa en la memòria a curt termini i en la memòria a llarg termini com dos processos seriatos (Goelet, Castellucci, Schacher i Kandel, 1986), hi ha evidències per a pensar que poden ser, en part, dos processos paral·lels (Izquierdo, Barros, Melloe-Souza, de Souza, Izquierdo i Medina, 1998), i per tant es pot influir sobre un d'ells sense haver de fer-ho necessàriament sobre l'altre. D'aquesta manera, les manipulacions que afectin sobre la memòria a llarg termini sense afectar a la memòria a curt termini, no necessàriament han d'afectar períodes tardans de consolidació de la informació. (Abel i Matthew-Lattal, 2001).

Sembla haver, com a mínim, dos períodes crítics en l'estabilització dels canvis sinàptics a llarg termini (Abel i Matthew-Lattal, 2001), durant els quals s'observa síntesi de proteïnes, però com a conseqüència de l'activitat de diferents sistemes de neurotransmissió. El primer període s'inicia immediatament després de l'aprenentatge, i és causat per l'activació dels receptors NMDA. L'entrada de  $Ca^{2+}$  a l'interior de la cèl·lula induïx la síntesi d'AMPc mitjançant l'activació d'una adenilciclasa. Aquest augment en l'AMPc provoca que s'activi la PKA, que a la seva vegada fosforila el factor de transcripció CREB, responsable de promoure l'expressió gènica i la subsegüent síntesi de les proteïnes. El segon període està regulat per sistemes moduladors. En aquest cas, la síntesi d'AMPc depèn de l'activació de l'adenilciclasa mitjançant una proteïna G associada a un receptor metabotrópic. En el cas de la modulació monoaminèrgica, per exemple, el període de síntesi de proteïnes s'observa quatre hores després de l'aprenentatge (Abel i Matthew-Lattal, 2001).

D'acord amb això, el bloqueig dels receptors NMDA fins a 1 hora després de l'aprenentatge induïx amnèsia retrògrada (Przybylski i Sara, 1997). Els antagonistes  $\beta$ -adrenèrgics, en canvi, poden bloquejar la consolidació de la memòria, però no són efectius tant quan són administrats immediatament després de l'aprenentatge com cinc hores més tard, pel que sembla existir una finestra de temps durant la qual l'activació noradrenèrgica pot modular la consolidació de la memòria (Sara, Roullet i Przybylski, 1999).

El problema que es planteja a continuació és com els sistemes moduladors poden actuar només sobre aquelles sinapsis implicades en l'aprenentatge original. Una possible explicació és la proposada per la teoria dels marcadors sinàptics (Frey i Morris, 1997). Segons aquesta teoria, les noves sinapsis que es formen després d'un aprenentatge queden marcades amb una molècula que *captura* les molècules necessàries per estabilitzar la connexió entre les cèl·lules pre i post sinàptica, de manera que l'acció de les substàncies moduladores només seria efectiva sobre aquelles sinapsis prèviament marcades.

Sembla, doncs, que la formació de traces de memòria pot ser modulada per l'acció d'alguns sistemes de neurotransmissió un temps després de l'adquisició de l'aprenentatge. Aquesta modulació pot ser tant positiva com negativa, i en molts casos d'ella dependrà que una



informació es consolidi a llarg termini o pel contrari sigui oblidada.

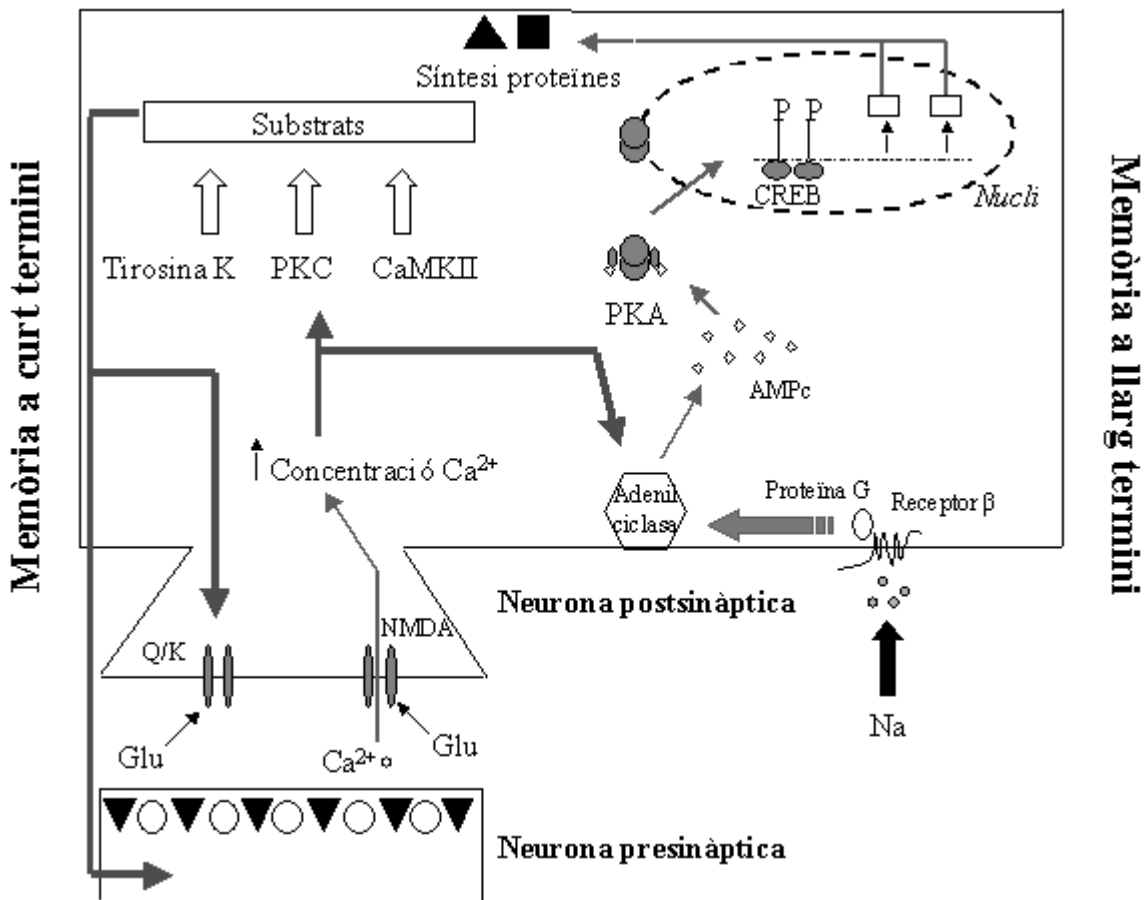


Fig. 3.2,1: Representació esquemàtica de les cascades intracel·lulars responsables de la memòria a curt i llarg termini. CaMKII:  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulina quinasa; CREB: *cAMP response element binding protein*; Glu: Glutamat; Na: Noradrenalina; P: lloc de fosforilació; PKA: Proteïna quinasa A; PKC: Proteïna quinasa C; Q/K: receptor quisqualat/kainat del glutamat. Per detalls vegeu el text. Adaptat de Mayford et al. (1995) i de Sara (2000a).

### 3.3. MODULACIÓ DE LA CONSOLIDACIÓ DE LA MEMÒRIA PER L'AEIC DEL FPM

Routtenberg (1974; 1975; 1979) va mostrar com l'estimulació o la lesió de la majoria de zones cerebrals on s'observa conducta d'AEIC provoquen alteracions en els processos d'adquisició i retenció de l'aprenentatge. En concret, l'AEIC del FPM ha mostrat tenir efectes sobre l'aprenentatge i la memòria tant en tractaments administrats després de l'adquisició de

l'aprenentatge com en tractaments pre-entrenament (Aldavert, 1993). Només en el cas de tractaments post-entrenament, però, administrats durant la finestra de temps en que estan actius els processos de consolidació de la memòria, podem afirmar que estem modulant aquesta consolidació. Els tractaments pre-entrenament, en canvi, poden afectar el processament de la informació durant la fase d'adquisició de l'aprenentatge, i només hipotèticament el seu efecte es podria perllongar durant la fase de consolidació de la memòria. En qualsevol cas, hi ha un tipus de tractament pre-entrenament que sembla afectar de manera molt significativa sobre els processos d'aprenentatge i memòria. Es tracta de l'administració de diverses sessions d'AEIC dies abans de l'adquisició de l'aprenentatge. En aquest cas sembla clar que no podem estar afectant directament sobre la fase làbil de consolidació de la memòria, i com més endavant comentarem, aquests efectes s'expliquen en base a canvis a llarg termini en la morfologia neuronal conseqüència del tractament perllongat.

En els experiments del present treball, el tractament d'AEIC era administrat immediatament després de cada sessió d'aprenentatge, pel que podem interpretar els seus efectes com una modulació de la consolidació de la memòria. No obstant això, el fet de que l'adquisició de l'aprenentatge es distribuís en diverses sessions, obre la possibilitat a que a aquests efectes sobre la consolidació de la memòria se sumin els efectes d'un tractament perllongat d'AEIC, segurament similars als efectes que s'observen en tractaments pre-entrenament distribuïts en diverses sessions dies abans de l'adquisició de l'aprenentatge. Així doncs, començarem estudiant els efectes de l'AEIC post-entrenament sobre l'aprenentatge i la memòria, per posteriorment passar a estudiar els efectes dels tractaments pre-entrenament.

### 3.3.1. Tractament d'AEIC post-entrenament

#### 3.3.1.1. Evidències experimentals

L'AEIC post-entrenament del FPM facilita l'adquisició i retenció de múltiples tasques d'aprenentatge (Aldavert, 1993). A la taula 3.3,1 es resumeix l'efecte sobre la retenció a les 24 hores en diverses tasques d'aprenentatge de l'AEIC del FPM (a nivell de l'HL). El tractament

d'AEIC facilita la retenció, i únicament en un treball dels citats (Major i White, 1978, experiment 3) no es van observar efectes significatius, possiblement a causa de que l'elèctrode estava situat en una posició molt medial de l'HL. Pel que fa als efectes sobre l'adquisició i la retenció a llarg termini de l'aprenentatge, en experiments realitzats al nostre laboratori hem observat com l'AEIC del FPM administrada després de cada sessió d'aprenentatge facilita l'adquisició d'una tasca d'EV2 segons un paradigma distribuït (5 dies d'adquisició, 1 sessió diària), així com la seva retenció als 10 (Massanés-Rotger et al., 1998; Segura-Torres et al., 1988; Segura-Torres et al., 1991) i 31 dies (Segura-Torres et al., 1991).

| <b>Treball</b>  | <b>Tipus d'aprenentatge</b>    | <b>Prova de retenció</b> | <b>Efectes</b> |
|---|--------------------------------|--------------------------|----------------|
| Major i White (1978) (exp.1)  | Operant apetitiu               | 24 hores                 | Facilitació    |
| Major i White (1978) (exp.3)  | Operant apetitiu               |                          | No efecte      |
| Coulombe i White (1980)   | Clàssic apetitiu               |                          | Facilitació    |
| Coulombe i White (1980)   | Clàssic aversiu                |                          | Facilitació    |
| Coulombe i White (1982a)  | Supressió condicionada         |                          | Facilitació    |
| Coulombe i White (1982b)  | Precondicionament sensorial    |                          | Facilitació    |
| Aldavert-Vera et al. (1996);<br>Redolar-Ripoll et al., (2001a);<br>Redolar-Ripoll et al., (2001b) | Evitació activa de dos sentits |                          | Facilitació    |

Taula 3.3.1: Efectes sobre la retenció a les 24 hores en diferents tasques d'aprenentatge de l'AEIC post-entrenament del FPM a nivell de l'HL, en rates

Podem veure com entre les tasques facilitades es troben tant tasques apetitives com aversives, però totes elles són no declaratives. Fins el moment no s'ha observat en cap treball un efecte facilitador de l'AEIC post-entrenament sobre tasques de memòria declarativa.

### 3.3.1.2. Paràmetres d'estimulació

Cal destacar en primer lloc, que el component d'autoadministració del tractament no sembla crític per observar efectes facilitadors sobre la consolidació de la memòria. Aquests efectes es poden aconseguir tant quan l'estimulació és autoadministrada (autoestimulació elèctrica intracranial o AEIC) com quan és administrada per l'experimentador (estimulació elèctrica reforçant o EICr). A la següent taula podem veure els efectes de l'EICr post-entrenament del FPM a nivell de l'HL sobre la retenció a les 24 hores de diverses tasques d'aprenentatge. Com es pot observar, aquest tractament facilita la retenció d'aquestes tasques, totes elles no declaratives, tant si són de tipus apetitiu com aversiu, a excepció de l'aversion condicionada al gust.

| <b>Treball</b>  | <b>Tipus d'aprenentatge</b>  | <b>Prova de retenció</b> | <b>Efectes</b> |
|---|------------------------------|--------------------------|----------------|
| Huston i Mueller (1978); Huston, Mueller i Mondadori (1977); Mondadori, Orstein, Waser i Huston (1976)                | Evitació activa d'un sentit  | 24 hores                 | Facilitació    |
| Destrade i Jaffard (1978); Destrade, Jaffard i Cardo (1979); Huston i Mueller (1978); Huston et al. (1977)            | Evitació passiva             |                          | Facilitació    |
| Destrade i Cazala (1979); Destrade i Cardo (1975); Destrade et al. (1979); Huston et al. (1977); White i Major (1978) | Operant apetitiu             |                          | Facilitació    |
| Back i Ungerer (1985); Destrade i Jaffard (1978); Destrade et al. (1979)  | Operant discriminant         |                          | Facilitació    |
| Huston et al. (1977)  | Aversió condicionada al gust |                          | No efecte      |

Taula 3.3.2: Efectes sobre la retenció a les 24 hores de diferents tasques d'aprenentatge de l'EICr post-entrenament del FPM a nivell de l'HL

La intensitat del corrent estimulant i la quantitat de trens administrats, en canvi, si semblen ser paràmetres crítics per facilitar l'adquisició i la retenció de l'aprenentatge (Aldavert, 1993). Concretament, en tractaments d'AEIC, tot i que tant 500 trens d'estimulació al 100% de la intensitat òptima del subjecte com 2500 o 4500 trens al 80% d'aquesta intensitat òptima faciliten l'adquisició d'una tasca d'EV2, la facilitació òptima s'observa en tractaments de 2500 trens al 100% de la intensitat òptima d'estimulació del subjecte (Segura-Torres et al., 1991). Semblen existir diferències, a més, entre la quantitat d'estimulació necessària per observar facilitació de l'aprenentatge amb tractaments d'EICr o d'AEIC. Així, una EICr d'aproximadament 30 trens (durant 30 segons) és suficient per facilitar una àmplia varietat de tasques d'aprenentatge (Huston et al., 1977; Huston i Mueller, 1978), però aquesta quantitat d'estimulació sembla insuficient per facilitar l'aprenentatge quan es tracta d'AEIC (White i Major, 1978). En canvi, 1000 trens d'EICr no tenen efecte facilitador sobre una tasca operant apetitiva, però faciliten la retenció d'aquesta tasca si són administrats en forma d'AEIC (White i Major, 1978).

Pel que fa a la demora de l'administració del tractament, tant en l'EICr com en l'AEIC, en general l'efecte facilitador sobre l'aprenentatge està inversament relacionat amb la demora amb què s'administra l'estimulació en referència a la sessió de condicionament. En el cas de l'EICr, amb una demora de 30 segons podem facilitar una àmplia varietat de condicionaments (Aldavert, 1993), però quan l'estimulació és administrada durant l'adquisició (Bresnahan i Routtenberg, 1980), sense demora o demorada més de 5 minuts (Huston et al., 1977; Huston i Mueller, 1978) no mostra cap efecte sobre la retenció a les 24 hores d'una tasca d'evitació passiva. Pel que fa a l'AEIC, sembla que el període crític pot variar en funció de la tasca d'aprenentatge. En una tasca operant apetitiva, amb una demora de 1 hora s'anul·len els efectes facilitadors sobre la retenció a les 24 hores (Major i White, 1978), mentre que en una tasca de condicionament clàssic semblen necessàries 2 hores perquè desaparegui aquest efecte facilitador (Coulombe i White, 1980), i 4 hores en un paradigma de preconditionament sensorial (Coulombe i White, 1982b).

### 3.3.2. Substrat neural de la facilitació de la consolidació de la memòria per AEIC post-entrenament

#### 3.3.2.1. Hipòtesis explicatives de l'efecte facilitador de l'AEIC post-entrenament

Tal com hem comentat, els tractaments post-entrenament són els únics que poden actuar d'una forma directa sobre la consolidació de la memòria. De totes maneres, això no implica que necessàriament hagi de ser aquest el seu mecanisme d'acció. L'efecte facilitador sobre l'aprenentatge i la memòria de l'AEIC post-entrenament es podria entendre com una forma d'aprenentatge operant, dependent de l'associació entre una resposta concreta i l'estimulació elèctrica reforçant contingent. Segons aquest punt de vista, aquesta estimulació se sumaria a les propietats motivacionals del reforçador de la tasca d'aprenentatge. De tota manera, aquesta hipòtesi sembla poc plausible, ja que l'estimulació cerebral reforçant també facilita l'adquisició de l'aprenentatge quan és administrada immediatament després de les respostes incorrectes, i no de les correctes, tant en tasques de tipus apetitiu com aversiu (Huston, Mueller i Mondadori, 1977; Mondadori, Orstein, Waser i Huston, 1976).

Així doncs, sembla més plausible pensar que l'AEIC post-entrenament provoca un enfortiment retroactiu de les associacions entre estímuls o entre respostes i reforçadors establertes durant l'aprenentatge (Coulombe i White, 1980; Major i White, 1978). Coulombe i White (1980) proposen que el tractament d'AEIC post-entrenament pot actuar de forma similar a la repetició de l'experiència, ja que en una tasca de condicionament clàssic, els subjectes que rebien AEIC després de cada assaig només van necessitar 2 aparellaments entre estímuls per assolir el mateix nivell d'execució que els subjectes control al cap de 10 aparellaments. En aquest sentit, al nostre laboratori hem observat com els efectes de l'AEIC són més potents que la repetició de l'experiència. En un aprenentatge d'EV2, els subjectes que van realitzar 30 assajos d'adquisició seguits de tractament d'AEIC, van mostrar una retenció a les 24 hores superior al dels subjectes que van realitzar 50 assajos d'adquisició sense tractament d'AEIC posterior (Redolar-Ripoll et al., 2001a). De manera similar, Aldavert (1993) proposa que l'AEIC accelera els processos de consolidació de la memòria. En un experiment en que s'estudiava la retenció d'un aprenentatge d'EV2 a diferents temps, va observar com els subjectes que després

de la sessió d'adquisició rebien tractament d'AEIC, mostraven a les 24 hores un nivell de retenció que els subjectes control trigaven set dies en assolir (Aldavert-Vera et al., 1996).

Alguns autors consideren que el caràcter reforçant de l'AEIC és crític per observar el seu efecte facilitador de la formació de la memòria (Huston i Oitzl, 1989). D'acord amb aquesta hipòtesi, la traça de memòria formada després de l'aprenentatge desapareixeria en un curt període de temps a no ser per l'acció enfortidora d'algun esdeveniment crític, com la presència d'un reforçador. D'altres treballs, però, mostren com l'efecte facilitador de l'AEIC post-entrenament és independent del seu efecte reforçant. Així, l'estimulació del FPM per sota del llindar del reforç pot facilitar la retenció de diferents tasques d'aprenentatge (Destrade i Cazala, 1979; Destrade i Jaffard, 1978). Igualment, s'ha pogut comprovar com l'administració d'amfetamina al nucli caudat, tot i no tenir efectes reforçants, facilita la formació de la memòria per a algunes tasques, mentre que l'administració a l'accumbens, tot i els seus potents efectes reforçants, no mostra aquests efectes facilitadors (White i Milner, 1992).

Si el caràcter reforçant de l'AEIC no és crític en els seus efectes facilitadors, hem de buscar algun altre efecte del tractament que pugui modular la formació de la memòria. Si tenim en compte que la desincronia cortical i subcortical i l'activació metabòlica de l'escorça són correlats neurals de la conducta d'AEIC (Newman i Feldman, 1964; Wright i Craggs, 1979; Harley et al., 1995), podem pensar que la millora en la retenció de l'aprenentatge és deguda als efectes arousalitzants de l'AEIC post-entrenament durant la fase làbil de consolidació de la memòria (Bloch, 1970; Destrade i Cazala, 1979; Destrade i Jaffard, 1978). Anem a estudiar, doncs, mitjançant quins sistemes d'arousal pot produir-se aquest efecte facilitador del tractament d'AEIC post-entrenament.

### 3.3.2.2. Efectes de l'AEIC post-entrenament mediat per sistemes d'arousal central

El concepte d'arousal fa referència a un estat de l'organisme en vigília relacionat amb les fluctuacions en l'activitat conductual, autonòmica i de l'activitat elèctrica de l'escorça en resposta a l'estimulació interna i externa (Marrocco et al., 1994). A nivell neuroanatòmic i

neurofisiològic es tracta de grups d'axons que s'originen a la formació reticular troncocefàlica i que projecten, a través de relleus sinàptics localitzats principalment als nuclis intralaminars del tàlem, al neocòrtex, on incrementen l'excitabilitat de les neurones i provoquen desincronia electroencefalogràfica (Steriade, 1996).

L'activació de la formació reticular pot afavorir el processament de la informació. En primer lloc, els ritmes ràpids i espontanis (30 a 40 Hz) que s'observen després de l'estimulació de la formació reticular es sincronitzen al llarg de diferents xarxes de neurones corticals i corticotalàmiques, de manera que s'observen respostes coherents i integrades de les neurones de l'escorça i del tàlem en resposta a l'estimulació sensorial (Steriade, 1996). Per exemple, l'estimulació de la formació reticular mesencefàlica sincronitza l'activitat de grups de neurones situats a diferents llocs de l'escorça en resposta a l'estimulació visual (Munk, Roelfsema, König, Engel i Singer, 1996). Per altra banda, l'arousal influeix també els processos de plasticitat sinàptica a curt termini que s'observen a l'escorça. Un tipus de plasticitat que mostren les neurones corticals, anomenada *resposta augmentant*, es pot modular per l'estat de vigilància (Castro-Alamancos i Connors, 1996).

Així doncs, mitjançant aquest efecte facilitador sobre el processament de la informació, la inducció d'arousal pot afectar sobre els processos d'atenció i d'aprenentatge i memòria (Marrocco et al., 1994). De fet, l'estimulació elèctrica de la formació reticular mesencefàlica millora la retenció d'una resposta de por condicionada quan és administrada immediatament després de l'adquisició de l'aprenentatge o de la reactivació de la traça de memòria (Devietti, Conger i Kirkpatrick, 1977). I en humans, un increment en el nivell d'arousal després de l'aprenentatge d'una llista de paraules millora el posterior record de la llista (Nielson, Radtke i Jensen, 1996).

El concepte unitari d'arousal com el resultat de l'activitat inespecífica del sistema reticular activador ascendent (SRAA), però, ha caigut en desús. D'acord amb Mesulam (1995), el concepte de SRAA ha de ser ampliat, i actualment es diferencien de manera anatòmica, bioquímica i funcional fins a cinc sistemes d'arousal central: *el sistema noradrenèrgic coeruleo-cortical*, *el sistema dopaminèrgic mesencefàlic*, *el sistema colinèrgic del tronc de*



*l'encèfal i del prosencèfal basal, el sistema serotoninèrgic mesencefàlic* (Robbins, Everitt, Muir i Harrison, 1992) *i el sistema histaminèrgic del nucli tuberomamil lar* (Marrocco et al., 1994).

L'AEIC del FPM incrementa l'activitat d'alguns d'aquests sistemes d'arousal central. Shankaranarayana Rao et al., (1998c) mostren com l'AEIC de l'HL incrementa l'activitat noradrenèrgica, dopaminèrgica, colinèrgica i glutamatèrgica a l'hipocamp i l'escorça motora, però no l'activitat serotoninèrgica o gabaèrgica. Com tot seguit veurem, això vol dir que l'AEIC incrementa l'activitat dels sistemes de neurotransmissió que es relacionen positivament amb els processos d'aprenentatge i memòria sense afectar sobre aquells que dificulten aquests processos cognitius.

#### A. El sistema noradrenèrgic *coeruleo*-cortical

S'origina al *locus coeruleus* de la protuberància dorsal donant origen al feix noradrenèrgic dorsal, que, juntament amb el feix noradrenèrgic ventral, envia axons de profusa ramificació a diverses parts de l'encèfal (Saper, 1995). Clàssicament aquest sistema ha estat relacionat amb la consolidació de la memòria (Crow, 1968), però per a d'altres autors la depleció noradrenèrgica central no afecta sobre la capacitat d'aprenentatge, sinó sobre la capacitat de discriminació dels estímuls sobresortints en situacions arousalitzants; és a dir, sobre l'atenció selectiva (Robbins, 1997; Selden, Robbins i Everitt, 1990). Algunes dades, però, mostren que, tal com s'havia pensat, el sistema activador noradrenèrgic pot realment jugar un paper important en la consolidació, reconsolidació i recuperació de la memòria.

En primer lloc, l'administració d'antagonistes  $\alpha$ -adrenèrgics en les hores posteriors a l'adquisició o reactivació d'una traça de memòria indueix amnèsia retrògrada per a l'aprenentatge (Sara et al., 1999). En segon lloc, un alt nivell d'arousal provocat per l'estimulació del *locus coeruleus* durant la fase de record facilita la recuperació de memòries oblidades (segons el model d'amnèsies experimentals).

Segons Sara (2000a), els estímuls presents en l'aprenentatge original, o el context, queden

associats amb el reforçament presentat durant l'aprenentatge, pel que poden actuar com estímuls condicionats i provocar una resposta condicionada d'activació. Aquesta activació cortical condicionada rep el nom de reflex condicionat truncat, i és conegut des dels temps de Pavlov (Kupalov, 1961, cfr. Sara, 2000a). Així, quan el *locus coeruleus* és estimulat elèctricament abans de la sessió de retenció a la mateixa cambra experimental on s'havia desenvolupat l'aprenentatge original, es facilita la retenció (Sara i Devauges, 1988), i aquest efecte es pot bloquejar per l'administració d'antagonistes  $\alpha$ -adrenèrgics (Devauges i Sara, 1991). De la mateixa manera, l'administració pre-retenció d'antagonistes dels autoreceptors  $\alpha_2$ , el que augmenta l'activitat del *locus coeruleus*, facilita també la recuperació d'un aprenentatge oblidat (Sara i Devauges, 1989).

S'ha proposat que la noradrenalina pot incrementar la raó senyal/soroll inhibint l'activitat elèctrica de fons en favor de l'evocada (Hasselmo, Linster, Patil, Ma i Cekic, 1997), de la mateixa manera que s'ha proposat que la noradrenalina pot fer més petits els camps receptors de les neurones sensorials (Manunta i Edeline, 1999). D'aquesta manera, l'alliberació condicionada de noradrenalina pot facilitar el record dirigint l'atenció vers els estímuls rellevants, tal com Robbins (1997) proposa per a la fase d'adquisició de l'aprenentatge a l'afirmar que la noradrenalina és essencial per preservar l'atenció selectiva en condicions d'alta activació. Així doncs, la recuperació de la informació estaria íntimament relacionada amb els processos de percepció dels estímuls (Sara, 2000a), el que reconcilia, al menys parcialment, les diferents posicions sobre el paper de la noradrenalina en les tasques d'aprenentatge.

## B. El sistema dopaminèrgic mesencefàlic

Aquest sistema es pot dividir en el sistema mesolímbic, el mesoestriatal i el mesocortical. El sistema mesolímbic s'origina a les cèl·lules dopaminèrgiques de la l'Àrea tegmental ventral, i projecta cap a estructures com el nucli septal, l'hipocamp, l'habènula, l'amígdala, el tubercle olfatori, i molt especialment el nucli accumbens. El sistema mesoestriatal s'origina a la substància negra i projecta bàsicament a l'estriat dorsal (caudat i putàmen). El sistema mesocortical s'origina també a l'Àrea tegmental ventral, i proporciona innervació dopaminèrgica bàsicament a l'escorça prefrontal (White, 1996). En general, la seva funció es

relaciona amb l'activació conductual i/o cognitiva, i de manera molt especial, amb el processament de la informació reforçant (Robbins, 1997). Més concretament, l'activació dopaminèrgica també ha estat relacionada amb els processos d'aprenentatge i memòria. Els treballs amb rates, primats no humans i humans donen suport al paper crític de la dopamina en la modulació d'aquests processos cognitius (Fried, Wilson, Morrow, Cameron, Behnke, Ackerson i Maidment, 2001; Goldman-Rakic, 1998).

Les neurones dopaminèrgiques mesencefàliques proporcionen un senyal, no específic per a cada reforçador particular, que pot modificar l'activitat de les sinapsis implicades en l'aprenentatge de conductes que permeten l'obtenció d'un reforçador (Redgrave et al., 1999; Schultz, Dayan i Montague, 1997). Com ja hem comentat en l'apartat de sistemes del reforç, els errors de predicció del reforç, codificats per les neurones mesencefàliques de les àrees A8, A9 i A10, poden constituir un important senyal d'aprenentatge (Hollerman i Schultz, 1998; Schultz, 2000; Schultz i Dickinson, 2000; Schultz et al., 1997). Recordem que els errors de predicció positius incrementen l'activitat de les neurones dopaminèrgiques mesencefàliques, mentre que els errors de predicció negatius decrementen aquesta activitat. Aquest fet ens dóna la base per a una modulació de la transmissió sinàptica a les estructures que reben innervació d'aquests grups de neurones, i per tant per a una modulació de la formació de les connexions sinàptiques subjacents als aprenentatges que depenen d'aquestes estructures, com l'amígdala, l'EPF, l'estriat dorsal o l'hipocamp (Hollerman i Schultz, 1998; Schultz, 2000).

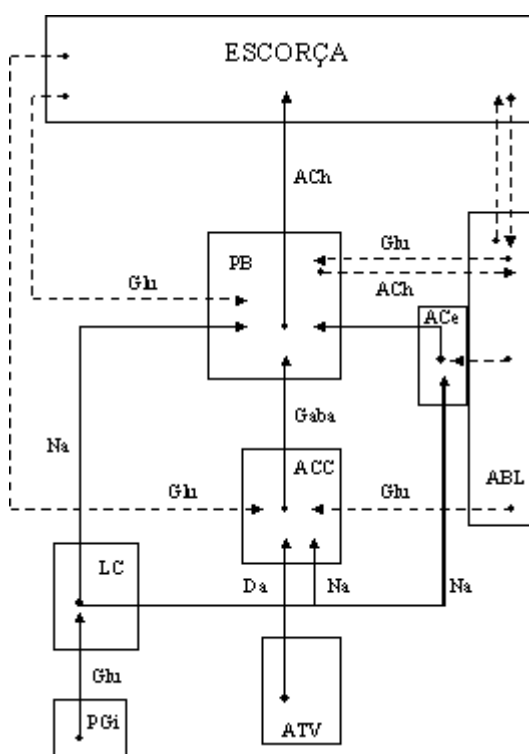
A l'EPF, per exemple, l'activitat dopaminèrgica sembla crítica per a la memòria de treball (Williams i Goldman-Rakic, 1995). A més, s'ha observat una relació directa entre la transmissió dopaminèrgica i certs fenòmens plàstics, com l'activitat perllongada de les neurones de l'EPF (Williams i Goldman-Rakic, 1995). L'activitat d'aquestes neurones pot ser mantinguda durant segons (Miller, Erickson i Desimone, 1996; Rainer et al., 1998a; Romo, Brody, Hernandez i Lemus, 1999), el que permet la formació d'associacions entre esdeveniments discontinus temporalment (Asaad, Rainer, i Miller, 1998; Fuster, Bodner i Kroger, 2000). D'aquesta manera, la transmissió dopaminèrgica permet que a l'EPF es formin associacions entre estímuls sensorials, motors i els propis successos que causen l'activació de les neurones dopaminèrgiques mesencefàliques (Miller, 2000), el que permet que els estímuls

sensorials i motors es converteixen en reforçadors condicionats. Un cop establerts els reforçadors condicionats, poden generar-se senyals dopaminèrgics anticipatoris provinents de les neurones de l'ATV (Schultz et al., 1997), de manera que durant l'aprenentatge, a mesura que els senyals dopaminèrgics anticipen la seva arribada a l'EPF, més informació podrà ser associada dins una representació multivariable creixent, que en última instància podrà descriure un seguit de tasques dirigides a l'assoliment d'un objectiu (Miller, 2000).

### C. El sistema colinèrgic del prosencèfal basal i del tronc de l'encèfal

Al prosencèfal basal trobem els nuclis de la banda diagonal de Broca, la substància innominada i el nucli basal magnocel·lular, que projecten principalment al neocòrtex, escorça cingolada i amígdala, juntament amb l'àrea septal medial, principal aferència colinèrgica de l'hipocamp. Al tronc de l'encèfal trobem el nucli pedunculo-pòntic tegmental i el nucli laterodorsal tegmental, que proporcionen innervació colinèrgica principalment al tàlem i a la substància negra (Everitt i Robbins, 1997). Les projeccions corticopetals originades al prosencèfal basal regulen el processament de la informació per part de les neurones de l'escorça afavorint la seva excitabilitat. Segons el model proposat per Sarter i Bruno (2000) (vegeu figura 3.3,1), quan aquestes neurones colinèrgiques del prosencèfal basal són activades per aferències glutamatèrgiques telencefàliques, estan implicades en la regulació de processos d'atenció sostinguda, selectiva i dividida. Quan l'activació d'aquestes neurones és deguda a aferències noradrenèrgiques provinents del *locus coeruleus*, en canvi, s'estaria afavorint el processament de la informació en situacions d'alta activació (o arousal), el que està d'acord amb la proposta de Robbins (1997) del paper crític que juga la noradrenalina en el manteniment de l'atenció selectiva en situacions d'alta activació. L'activació d'aquestes neurones colinèrgiques també està regulada per aferències inhibidores gabaèrgiques provinents del nucli accumbens, que a la seva vegada són inhibides per l'alliberació de dopamina a aquesta estructura, i per aferències glutamatèrgiques provinents del complex basolateral de l'amígdala, pel que sembla que al prosencèfal basal podrien convergir diferents sistemes moduladors i d'aquesta manera poder afavorir el processament de la informació per part de les neurones corticals a través de les projeccions colinèrgiques corticopetals (Sarter i Bruno, 2000).

Figura 3.3,1: Model de les aferències moduladores que poden convergir al prosencèfal basal. La desincronia cortical està regulada per les aferències colinèrgiques corticopetals provinents del prosencèfal basal. Aquestes neurones colinèrgiques, a la seva vegada poden estar regulades per neurones glutamatèrgiques provinents de la pròpia escorça i d'altres estructures telencefàliques, el que estaria molt relacionat amb els processos atencionals. Les aferències noradrenèrgiques i dopaminèrgiques (aquestes últimes actuarien inhibint la transmissió gabaèrgica al prosencèfal basal), s'encarregarien d'afavorir el processament de la informació cortical en situacions d'alta activació o de presència d'estímuls que activessin el sistema nerviós del reforç. L'amígdala també pot regular l'activació de les neurones del prosencèfal basal en funció del valor emocional dels estímuls, a través d'aferències glutamatèrgiques provinents del complex basolateral, o bé



través de les projeccions noradrenèrgiques que arriben al seu nucli central. ABL: Complex basolateral de l'amígdala; ACC: Nucli accumbens; ACe: Nucli central de l'amígdala; ACh: Acetilcolina; ATV: Àrea tegmental ventral; Da: Dopamina; Glu: Glutamat; LC: *Locus coeruleus*; Na: Noradrenalina; PB: Prosencèfal basal; PGI: nucli paragigantocelular (una estructura simpaticoadivadora). Adaptat de Sarter i Bruno (2000).

Així doncs, tot i que les projeccions corticopetals han estat molt relacionades amb la regulació de processos atencionals (Everitt i Robbins, 1997; Sarter i Bruno, 2000), diverses evidències experimentals demostren que també poden jugar un paper important en els processos d'aprenentatge i memòria. De fet, si les projeccions colinèrgiques corticopetals afavoreixen l'excitabilitat de les neurones corticals, i per tant el processament de la informació, quan aquesta activació es manifesti durant la fase crítica de consolidació de la memòria, podem modular positivament el posterior record d'una tasca d'aprenentatge. De fet, al nostre laboratori hem observat com l'estimulació elèctrica post-entrenament del nucli basal magnocelular facilita la retenció d'una tasca d'EV2 (Montero-Pastor, Vale-Martínez, Guillazo-Blanch, Nadal-Alemny, Martí-Nicolovius i Morgado-Bernal, 2001). Les projeccions septohipocampals, per la seva part, estan molt relacionades amb la memòria de treball en tasques espacials del tipus no aparellament demorat a la posició (McAlolan, Dawson, Wilkinson, Robbins i Everitt,

1995), mentre que les projeccions entre la banda diagonal de Broca i l'escorça cingolada semblen importants per a l'adquisició de regles de resposta en tasques de discriminació condicionada (Marston, West, Wilkinson, Everitt i Robbins, 1994). Finalment, les connexions entre el nucli basal magnocel lular i l'amígdala poden jugar un paper important en el condicionament de respostes emocionals (Everitt i Robbins, 1997) o en la modulació de la formació de la memòria dependent de l'activació del complex basolateral de l'amígdala (Power, Roozendaal i McGaugh, 2000).

La funció de les projeccions colinèrgiques del tronc de l'encèfal no ha estat tan estudiada. Les que es dirigeixen al tàlem semblen implicades en processos d'activació bàsica (cicles són-vigília), mentre que les dirigides a estructures dopaminèrgiques mesencèfàliques semblen implicades en l'activació conductual (Everitt i Robbins, 1997). Al nostre laboratori hem observat com la lesió del nucli pedúnculo-pòntic tegmental dificulta l'adquisició d'una tasca d'EV2, i com aquest efecte pot ser degut a l'alteració dels sistemes de resposta necessaris per l'adquisició d'aquesta tasca (Satorra-Marín, Coll-Andreu, Portell-Cortés, Aldavert-Vera i Morgado-Bernal, 2001).

#### D. El sistema serotoninèrgic mesencefàlic

Els nuclis del rafe es distribueixen a la línia mitja del tronc de l'encèfal, estant localitzats els grups B1-6 al bulb i la protuberència i els grups B7-9 al mesencèfal. D'aquests últims s'origina el sistema del rafe dorsal i el sistema del rafe medial, que envien els seus axons a diferents parts de l'encèfal (Saper, 1995). El sistema serotoninèrgic actua controlant l'acció excitadora dels altres sistemes d'arousal, i promou la inhibició conductual i la disminució de l'arousal cortical (Robbins, 1997). De fet, la depleció serotoninèrgica central facilita l'aprenentatge de tasques aversives i de tasques espacials reforçades apetitivament, mentre que l'increment de l'acció serotoninèrgica dificulta l'execució en aquestes tasques (McEntee i Crook, 1991).

#### E. El sistema histaminèrgic del nucli tuberomamil lar

Les neurones histaminèrgiques es localitzen al nucli tuberomamil lar i zones adjacents de

l'hipotàlem posterior, i, com la majoria de grups de neurones monoaminèrgiques, projecten els seus axons de manera difusa a diverses àrees prosencefàliques (Pollard i Schwartz, 1987), encara que probablement envii també axons descents cap a estructures tronccencefàliques (Lin, Hou, Sakai i Jouvet, 1996). Les neurones histaminèrgiques poden ajudar al manteniment de la vigília, ja que exerceixen un control tònic sobre estructures relacionades amb la inducció del son, com l'hipotàlem anterior o l'àrea preòptica (Lin, Sakai i Jouvet, 1994). A més, les seves projeccions directes a l'escorça, o indirectes a través del tàlem i les neurones colinèrgiques del prosencèfal basal, promouen l'activació cortical (Lin et al., 1996). Igualment, les seves projeccions descendents podrien promoure també l'activació cortical estimulants les neurones colinèrgiques de la zona tegmental mesopontina (Lin et al., 1996).

La relació del sistema histaminèrgic amb l'aprenentatge i la memòria no està clara. Huston, Wagner i Hasenöhr (1997), troben que la lesió del nucli tuberomamillar facilita l'execució en diverses tasques d'aprenentatge, possiblement mitjançant un augment del valor reforçant d'estímuls específics o del sistema del reforç en general. En aquest mateix sentit, al nostre laboratori hem pogut comprovar com la lesió unilateral pre-entrenament del nucli tuberomamillar facilita la retenció d'una tasca d'EV2 (Segura-Torres, Wagner, Massanés-Rotger, Aldavert-Vera, Martí-Nicolovius i Morgado-Bernal, 1996).

Com a conclusió, podem dir que dels diferents sistemes d'arousal central, el noradrenèrgic, el dopaminèrgic i el colinèrgic semblen facilitar l'aprenentatge i la memòria. Tot i que en moltes ocasions s'ha fet èmfasi en el paper que juguen aquestes sistemes activadors en processos atencionals, possiblement això no estigui en contradicció amb que també tinguin un efecte facilitador sobre la consolidació de la memòria. En primer lloc, les seves vies d'acció poden ser múltiples, pel que poden estar implicats també en la modulació de múltiples funcions cognitives. En segon lloc, quan es promou l'excitabilitat de les neurones de l'escorça (o d'altres estructures telencefàliques, com l'amígdala, l'hipocamp o l'estriat dorsal) es facilita el processament de la informació. Si aquesta facilitació succeeix durant la fase crítica de consolidació de la memòria, es podrà modular positivament aquest procés cognitiu, de la mateixa manera que podem modular positivament els processos atencionals quan l'activació d'aquests sistemes d'arousal coincideix amb la fase de recollida d'informació. El tractament

d'AEIC al FPM, per la seva part, facilita l'alliberació de noradrenalina, dopamina, acetilcolina i glutamat a estructures telencefàliques (Shankaranarayana Rao et al., 1998c), pel que sembla activar els sistemes d'arousal que afavoreixen el processament de la informació i el sistema de neurotransmissió excitatori més important del sistema nerviós central. Si aquest tractament és administrat post-entrenament, doncs, podem aconseguir una modulació positiva de la consolidació de la memòria, tal com ens mostren diverses evidències experimentals (vegeu el punt 3.3.1.1.).

A continuació es representen les principals projeccions dels cinc sistemes d'arousal estudiats en aquest apartat.

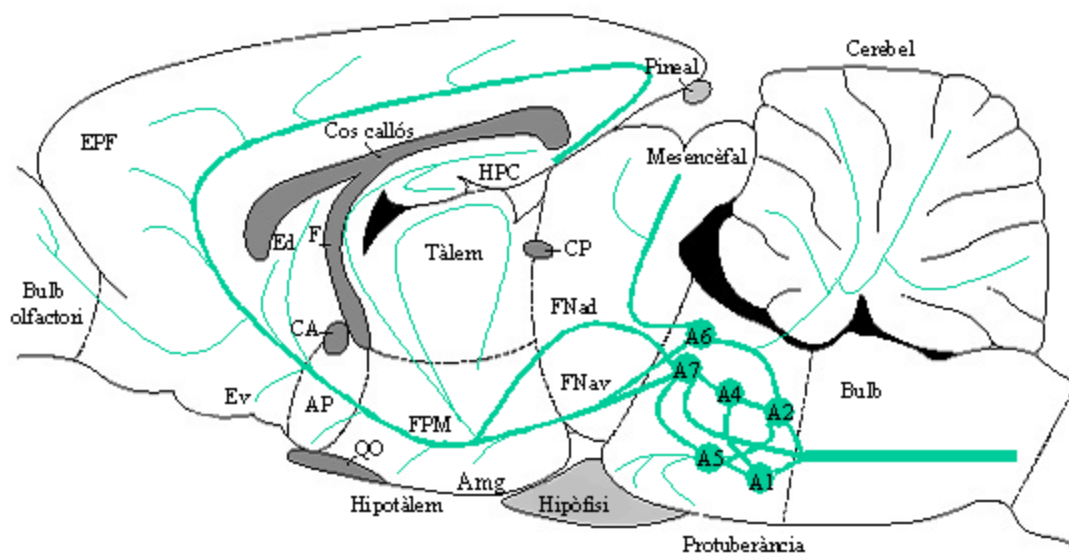


Fig. 3.3,2: Representació de les principals vies noradrenèrgiques del cervell de la rata. A1-A7: Grups cel·lulars noradrenèrgics, inclòs el *locus coeruleus* (A6); Amg: Amígdala; AP: Àrea preòptica; CA: Comissura anterior; CP: Comissura posterior; Ed: Estriat dorsal; EPF: Escorça prefrontal; Ev: Estriat ventral; F: Fòrnix; FNad: Feix noradrenèrgic dorsal; FNav: Feix noradrenèrgic ventral; FPM: Feix prosencefàlic medial; HPC: Hipocamp; QO: Quiasme òptic. Adaptat de Robbins i Everitt (1999).



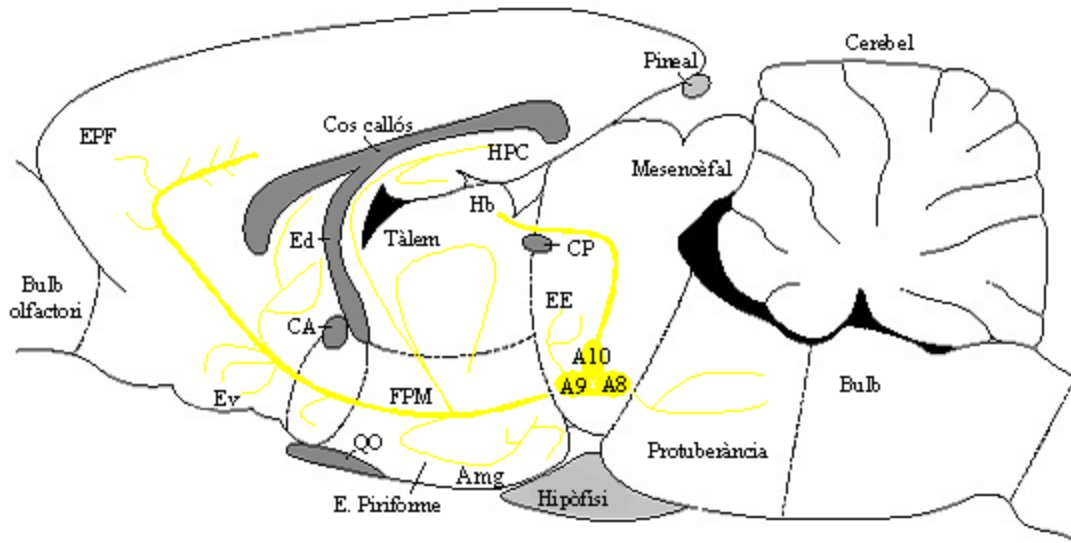


Fig. 3.3,3: Representació de les principals vies dopaminèrgiques del cervell de la rata. A8-A10: Grups celulars dopaminèrgics mesencefàlics; Amg: Amígdala; CA: Comissura anterior; CP: Comissura posterior; Ed: Estriat dorsal; EE: Escorça entorrinal; EPF: Escorça prefrontal; Ev: Estriat ventral; FPM: Feix prosencefàlic medial; Hb: Habènula; HPC: Hipocamp; QO: Quiasme òptic. Adaptat de Robbins i Everitt (1999).

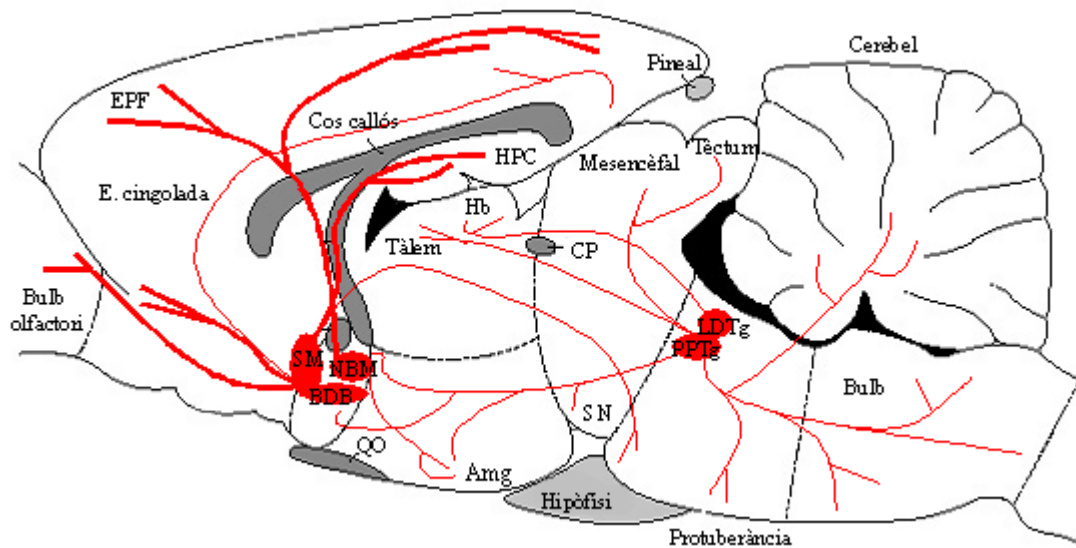


Fig. 3.3,4: Representació de les principals vies colinèrgiques del cervell de la rata. Amg: Amígdala; BDB: Banda diagonal de Broca; CP: Comissura posterior; EPF: Escorça prefrontal; Hb: Habènula; HPC: Hipocamp; LDTg: Nucli laterodorsal tegmental; NBM: Nucli basal magnocelular; PPTg: Nucli pedúnculo-pòntic tegmental; QO: Quiasme òptic; SM: Sèptum medial; SN: Substància negra. Adaptat de Robbins i Everitt (1999).

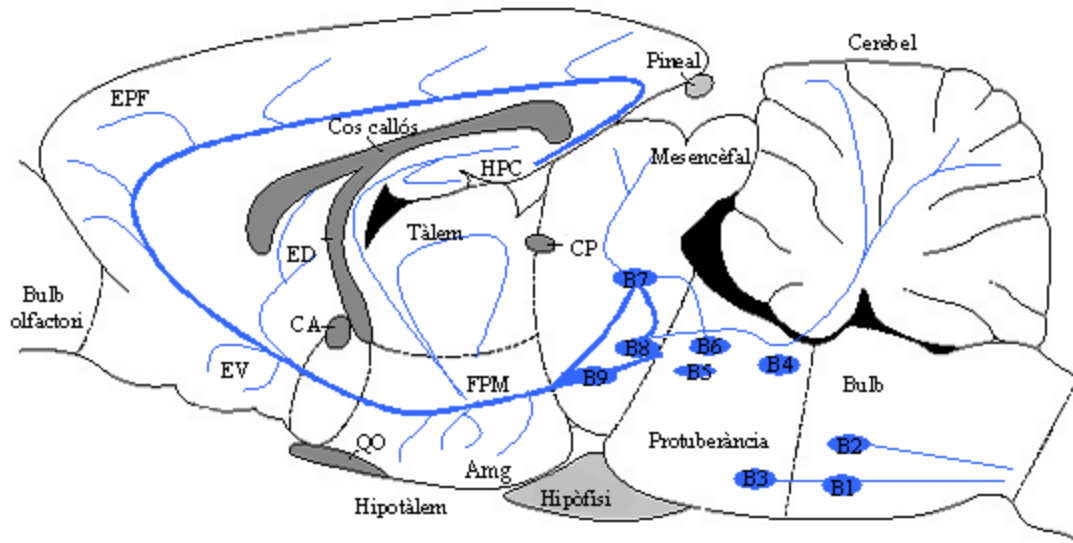


Fig. 3.3,5: Representació de les principals vies serotoninèrgiques del cervell de la ratxa. Amg: Amígdala; B1-B9: Grups cel·lulars serotoninèrgics; CA: Comissura anterior; CP: Comissura posterior; Ed: Estriat dorsal; EPF: Escorça prefrontal; Ev: Estriat ventral; FPM: Feix prosencefàlic medial; HPC: Hipocamp; QO: Quiasme òptic. Adaptat de Robbins i Everitt (1999).

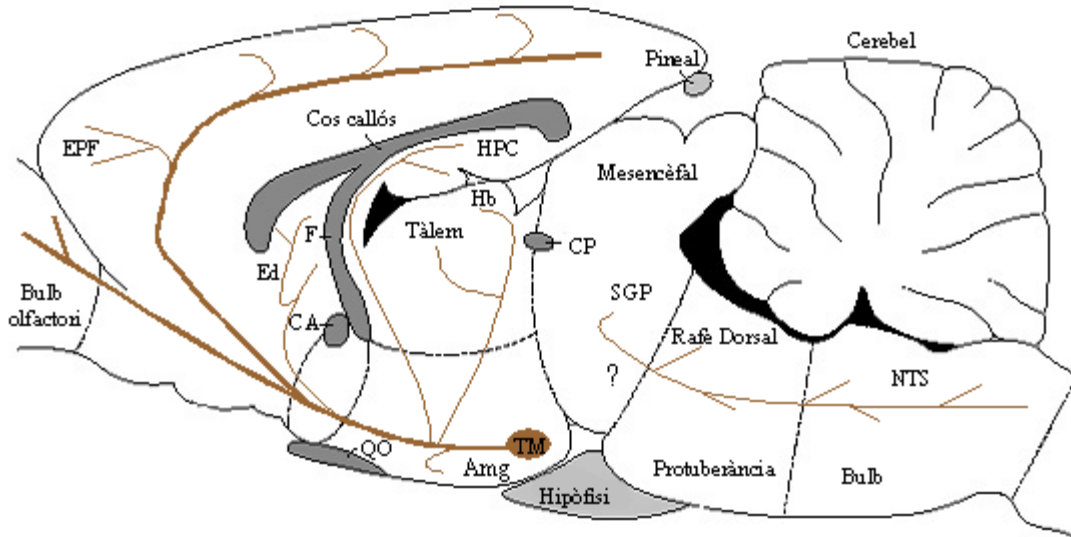


Fig. 3.3,6: Representació de les principals vies histaminèrgiques del cervell de la ratxa. Amg: Amígdala; CA: Comissura anterior; CP: Comissura posterior; Ed: Estriat dorsal; EPF: Escorça prefrontal; F: Fòrnix; Hb: Habèndula; HPC: Hipocamp; NTS: Nucli del tracte solitari; QO: Quiasme òptic; SGP: Substància gris periaqüeductal; TM: Regió del nucli tuberomamilar. Adaptat de Pollard i Schwartz (1987).

A més d'aquesta acció sobre els sistemes d'arousal central, però, el tractament d'AEIC incrementa el nivell d'arousal simpàtic, incrementant el consum d'oxigen, la freqüència cardíaca, la pressió arterial i la temperatura rectal, així com els nivells plasmàtics d'adrenalina, noradrenalina i corticosterona (Burgess, Davis, Wilson, Borg, Burgess i Buggy, 1993). Aquest és el patró d'activació que s'observa davant d'estímuls que indueixen emocions, i s'ha demostrat que pot modular la consolidació de la memòria. Pot ser aquest, doncs, un altre mecanisme mitjançant el qual el tractament d'AEIC post-entrenament facilita la formació de la memòria. Anem a repassar breument les principals característiques de la modulació de la memòria pels sistemes d'arousal emocional.

### 3.3.2.3. Efectes de l'AEIC post-entrenament mediat per sistemes d'arousal emocional

L'activació de determinades àrees cerebrals i les respostes hormonals específiques que s'observen en situacions d'arousal emocional poden modular la formació de la memòria (Cahill i McGaugh, 1998). Per exemple, les hormones alliberades perifèricament per les glàndules suprarenals en situacions d'estrès faciliten la formació de la memòria de manera dosi-dependent (Cahill i McGaugh, 1998). En el cas dels glucocorticoides alliberats per l'escorça suprarenal, aquests poden travessar fàcilment la barrera hematoencefàlica, i d'aquesta manera interactuar amb els receptors del sistema nerviós central, localitzats en alta densitat a l'hipocamp. L'efecte modulador sobre la formació de la memòria és degut a la seva interacció amb els receptors de glucocorticoides, o tipus II (de baixa afinitat), que són els activats en situacions d'estrès (Cahill i McGaugh, 1996).

El cas de l'adrenalina alliberada per la medul·la suprarenal és una mica més complex. L'adrenalina no travessa la barrera hematoencefàlica, pel que el seu efecte facilitador s'inicia a nivell perifèric mitjançant l'estimulació de receptors  $\alpha$ -adrenèrgics situats a les branques aferents del nervi vague. D'aquesta manera, l'administració d'antagonistes  $\alpha$ -adrenèrgics que no entren al sistema nerviós central, com el sotalol, bloqueja el seu efecte facilitador. Els aferents vagals projecten al nucli del tracte solitari, i d'aquest nucli surten noves projeccions a l'amígdala (McGaugh, Cahill i Roozendaal, 1996). D'acord amb aquest circuit, la lesió del

nucli tracte solitari bloqueja els efectes facilitadors de l'adrenalina sobre la formació de la memòria (Williams i McGaugh, 1993). Quan els glucocorticoides són administrats de forma sistèmica, també poden fer servir aquesta via del nucli del tracte solitari (Roozendaal, Williams i McGaugh, 1999b).

Aquests senyals moduladors convergeixen al complex basolateral de l'amígdala, de manera que l'efecte sobre la memòria d'aquestes hormones, i d'alguns sistemes de neurotransmissió, com el gabaèrgic i el dels opiacis endogens, depèn críticament de l'activació d'aquesta estructura (McGaugh et al., 1996; Power et al., 2000). En el cas de l'adrenalina, aquesta activació prové de les aferències noradrenèrgiques que el complex basolateral rep del nucli del tracte solitari (McGaugh et al., 1996). De la mateixa manera, els efectes facilitadors dels glucocorticoides depenen críticament de l'alliberació de noradrenalina al complex basolateral de l'amígdala, tant si els glucocorticoides són administrats de forma sistèmica (Quirarte, Roozendaal i McGaugh, 1997), com directament a l'hipocamp (Roozendaal, Nguyen, Power i McGaugh, 1999a). Per tal que l'activació del complex basolateral mostri efectes facilitadors sobre la memòria, però, es necessita de la interacció del sistema noradrenèrgic amb el sistema colinèrgic (Introini-Collison i McGaugh, 1988). Aquest important paper modulador de l'acetilcolina pot ser degut a la presència d'interneurons colinèrgiques que controlen la connexió entre les aferències del complex basolateral activades durant les situacions d'estrès i les eferències moduladores (Power et al., 2000).

El complex basolateral de l'amígdala pot modular la formació de traces a diferents sistemes de memòria. Potser el millor exemple de que aquest efecte modulador no és específic per a un sol sistema de memòria és l'experiment de Packard, Cahill i McGaugh (1994), en el que l'administració d'amfetamina post-entrenament a l'hipocamp facilitava específicament la retenció del Morris Water Maze guiat per claus espacials, mentre que l'administració d'amfetamina al nucli caudat facilitava específicament la retenció del mateix laberint guiat per claus visuals. L'administració d'amfetamina a l'amígdala, en canvi, va facilitar la retenció de la tasca en totes dues condicions.

Les vies de sortida de la informació moduladora del complex basolateral de l'amígdala poden

ser múltiples. En el cas de les memòries hipocamp-dependents poden ser connexions directes o indirectes, via escorça entorrinal, entre el complex basolateral i l'hipocamp (Roosendaal et al., 1999a). Un altre via per on es pot produir aquesta acció moduladora és l'estria terminal, en especial a través de les connexions amb el nucli accumbens (Setlow, Roosendaal i McGaugh, 2000). La lesió d'aquest nucli dificulta l'adquisició i consolidació de tasques de memòria declarativa (Setlow, 1997), i l'efecte facilitador dels glucocorticoides sobre una tasca de memòria declarativa pot ser bloquejat per la lesió de les connexions entre l'amígdala basolateral i el nucli accumbens (Setlow et al., 2000). Alguns autors han proposat que l'accumbens podria ser un lloc de convergència entre la informació moduladora provinent de l'amígdala i l'aprenentatge codificat per l'hipocamp (Mulder, Hodepijl, Lopes da Silva, 1998). En el cas de les memòries hipocamp-independents les vies d'acció també poden ser múltiples. El complex basolateral pot modular la formació de memòries a l'escorça (Armony, Quirk i LeDoux, 1998) activant l'EEG cortical, possiblement a través de les seves connexions amb el nucli basal magnocel·lular o el *locus coeruleus* (Cahill i McGaugh, 1998). Igualment, les eferències de l'estria terminal a l'estriat dorsal poden modular la formació de memòries dependents d'aquesta estructura (Packard, Introini-Collison i McGaugh, 1996; Packard i Teather, 1998). No obstant això, sembla que el sistema modulador del complex basolateral no pot modular la formació de memòries que tenen la seva traça localitzada en la pròpia amígdala (Nader et al., 2000b).

### 3.3.3. Efectes de l'AEIC pre-entrenament

Com ja hem comentat, a més de la facilitació de la formació de la memòria que s'observa amb tractaments post-entrenament, l'AEIC també pot tenir efectes facilitadors quan el tractament és administrat pre-entrenament. L'administració d'una sessió d'AEIC immediatament abans de l'adquisició de l'aprenentatge, però, no sembla facilitar la posterior recuperació de la informació (Coulombe i White, 1980). Igualment, tampoc semblen ser efectiva una sessió d'AEIC administrada abans de la sessió de retenció de l'aprenentatge (Redolar-Ripoll et al., 2001a). En canvi, els tractaments perllongats d'AEIC, distribuïts en diverses sessions administrades dies abans de l'aprenentatge, si semblen facilitar els processos d'aprenentatge

i memòria.

Els primers estudis sobre aquest tipus de tractaments van ser fets amb EICr, i es va estudiar l'efecte de l'estimulació primerenca sobre diferents condicionaments en l'edat adulta. Es va observar com l'EICr del FPM als 15 dies d'edat augmentava clarament la capacitat per adquirir una resposta operant a les 4 setmanes de l'estimulació (Velley i Cardo, 1979; Velley, Manciet i Cardo, 1978; Velley, Nassif, Kempf i Cardo, 1983). En rates adultes, Yoganarasimha, Shankaranarayana Rao, Raju i Meti (1998), han demostrat com un tractament d'AEIC de 15 minuts durant 10 dies és capaç de facilitar tant la posterior adquisició d'un condicionament operant apetitiu com la adquisició d'una tasca espacial en laberint en T. Igualment, Yoganarasimha i Meti (1999), han mostrat com aquest mateix tractament d'AEIC pre-entrenament reverteix els efectes disruptors de la lesió del fòrnix sobre un aprenentatge espacial en laberint en T. En aquest mateix sentit, al nostre laboratori, Segura-Torres et al. (1988) van observar un efecte facilitador sobre l'adquisició i retenció als 10 dies d'una tasca d'EV2 amb l'administració de 2500 trens immediatament abans de cada sessió de condicionament. L'efecte, però, no es va observar fins l'última sessió de l'adquisició (sobre un total de 5), no observant-se cap efecte facilitador a les 24 hores de la primera sessió d'adquisició, pel que els resultats són fàcilment interpretables com a conseqüència de l'acumulació de sessions d'AEIC.

Com hem comentat anteriorment, en aquest cas difícilment podem pensar que l'efecte facilitador sigui conseqüència d'una modulació positiva de la consolidació de la memòria. Els tractaments perllongats d'AEIC poden causar canvis a llarg termini en la morfologia de les neurones, i molt possiblement aquests canvis puguin ser els responsables de la facilitació de la memòria. Shankaranarayana Rao, Desiraju i Raju (1993) van mostrar com el tractament d'AEIC a l'HL durant 1 hora al llarg de 10 dies, causava canvis plàstics en les neurones piramidals de l'hipocamp i de la capa V de l'escorça motora, com ara un increment en les ramificacions dendrítiques o un increment en el gruix dels estrats *lacunosum* i *radiatum* de l'àrea CA3 de l'hipocamp. Més recentment, Shankaranarayana Rao, Raju i Meti (1998b) han observat un increment en les espines de les dendrites apicals de CA3 després d'un tractament d'AEIC d'ídntiques característiques que l'anterior. Aquests mateixos autors (Shankaranarayana Rao, Raju i Meti; 1998a), novament després del mateix tractament,

observen un increment en el número de dendrites apicals i basals en les neurones piramidals de CA3 i de la capa V de l'escorça motora, increment que es manté al cap de 60 dies de finalitzar el tractament, el que demostra que aquests canvis plàstics són perdurables.

En tractaments d'AEIC post-entrenament en paradigmes d'aprenentatge distribuïts, aquests canvis plàstics a llarg termini en la morfologia de les neurones poden sumar-se als efectes sobre la consolidació de la memòria mediats per sistemes d'arousal central i emocional. Tot plegat pot contribuir als efectes facilitadors que l'AEIC del FPM ha mostrat sobre l'adquisició i retenció de diverses tasques d'aprenentatge.

## **4. ENVELLIMENT, APRENENTATGE I MODULACIÓ DE LA MEMÒRIA**

### **4.1 INTRODUCCIÓ**

L'envelliment d'un organisme és conseqüència de l'envelliment de les seves cèl·lules. S'han desenvolupat diverses teories per explicar l'envelliment cel·lular, que es poden dividir en dos grans grups. Per un costat tenim les teories que veuen l'envelliment com un procés passiu conseqüència de l'acumulació d'alteracions en els components bàsics de les cèl·lules, com els àcids nucleics, les proteïnes o els lípids, i per l'altre, les teories que veuen l'envelliment com un procés actiu, programat genèticament. Dins del primer grup, trobem les teories que parlen d'una acumulació d'errors a l'ADN al llarg de la vida per disminució en l'efectivitat de la reparació de l'ADN o per l'augment d'agents mutagens, com els radicals lliures (Belsky, 1999). Algunes teories d'aquest primer grup posen èmfasi no en l'edat cronològica de la cèl·lula, sinó en el número de divisions mitòtiques que ha experimentat, ja que en cada divisió és possible que es perdi part de l'ADN de la cèl·lula, tal com es deriva de la hipòtesi de l'escurçament dels telòmers (Mora i Porras, 1998).

Per a les teories que consideren que l'envelliment és degut a l'activació d'un programa genètic, aquest és vist com una fase tardana del procés de desenvolupament. De la mateixa manera que durant el desenvolupament embrionari s'observen molts casos d'apoptosi, o mort cel·lular programada, aquest programa genètic, o qualsevol altre que inhibeixi el creixement cel·lular, podria també activar-se a una determinada edat cronològica de la cèl·lula o després d'un determinat número de divisions mitòtiques (Mora i Porras, 1998). En qualsevol cas, amb independència del mecanisme responsable, certament l'envelliment de les cèl·lules ocasionarà una sèrie de canvis involutius en el teixit del que formen part, afectant sobre les seves funcions, que en el cas del sistema nerviós central seran diferents processos conductuals i cognitius. En aquest capítol farem un breu resum dels canvis que s'observen en el sistema nerviós central a



conseqüència de l'envel·liment, centrant-nos en l'efecte que tenen sobre l'aprenentatge i la memòria i en les possibilitats de facilitació d'aquests processos cognitius en animals vells.

## **4.2. ENVEL·LIMENT DEL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL**

El procés d'envel·liment es manifesta al sistema nerviós central per un seguit de canvis involutius comuns a totes les espècies de mamífers, com ara atròfia de les neurones piramidals, disminució del número de sinapsis, disminució del número de receptors dopaminèrgics a l'estriat, acumulació de pigments i productes d'oxidació, i increment de l'activitat dels astròcits i la micròglia. Es solen observar també dipòsits de proteïna  $\beta$ -amiloide al neuròpil i als vasos sanguinis cerebrals, així com anormalitats en el citoesquelet de les neurones, que en el cas de l'ésser humà es manifesten en forma de cabdells neurofibril·lars (Finch i Roth, 1999).

Un aspecte interessant és que, al contrari del que es creia anteriorment (Meaney, Aitken, van Berkel, Bhatnagar i Sapolsky, 1988), s'ha pogut comprovar com durant l'envel·liment normal no s'observa una pèrdua significativa de neurones en l'hipocamp ni en d'altres estructures corticals. Si sembla observar-se, però, una clara atròfia que es manifesta per la disminució de l'àrea somàtica de les neurones i per la reducció de l'arborització dendrítica (Finch i Roth, 1999; Gallagher i Rapp, 1997). En estructures subcorticals, en canvi, es pot observar tant atròfia com neurodegeneració. L'afectació subcortical implica estructures colinèrgiques i monoaminèrgiques que projecten a zones corticals definides, com el lòbul frontal, amb el que contribueix als dèficit funcionals que són conseqüència de la disfunció cortical (Gallagher i Rapp, 1997).

Durant l'envel·liment també es poden observar canvis en la neurotransmissió química. Per exemple, s'observa una disminució de l'alliberació d'acetilcolina a l'estriat, l'escorça i l'hipocamp i de dopamina a l'estriat, així com una disminució de la transmissió noradrenèrgica, serotoninèrgica i aminoacidèrgica en certes regions cerebrals (Finch i Roth, 1999). La disminució de la neurotransmissió colinèrgica és deguda, en gran part, a l'atròfia i degeneració de les neurones colinèrgiques del prosencèfal basal, força prominent durant l'envel·liment

(Smith i Booze, 1995), mentre que el número de receptors colinèrgics està relativament preservat (Chouinard, Gallagher, Yasuda, Wolfe i McKinney, 1995). Com ja hem comentat, aquest no és el cas dels receptors dopaminèrgics, en concret dels D<sub>2</sub>, que es troben disminuïts durant l'envelliment, especialment a l'estriat (Shinkai, Zhang, Mathais i Roth, 1997).

D'altres processos d'interès afectats durant l'envelliment són aquells relacionats amb la plasticitat sinàptica. La potenciació post-tetànica, per exemple, està disminuïda a l'hipocamp de rates velles (Barnes, 1994). Igualment, la regulació a l'alça de receptors (*up-regulation*) que s'observa després de tractaments perllongats amb antagonistes, està parcialment disminuïda pels receptors D<sub>2</sub>, els  $\alpha$ -adrenèrgics i els muscarínics (Finch i Roth, 1999). La potenciació a llarg termini també està afectada durant l'envelliment. Si bé s'assoleix un nivell asimptòtic de potenciació similar al de les rates joves, en rates velles costa més desencadenar potenciació a llarg termini, i aquesta decau més ràpidament (Barnes, 1979; Barnes i McNaughton, 1985). El registre de l'activitat neuronal a l'hipocamp, a més, mostra com durant la realització de diferents tasques conductuals la informació és codificada de manera menys fiable, específica i flexible per les neurones hipocampals de les rates velles (Barnes, McNaughton i O'Keefe, 1983; Mizumori, Lavoie i Kalyani, 1996; Tanila, Shapiro i Eichenbaum, 1996).

Alguns resultats mostren com el sistema nerviós reacciona davant d'aquest conjunt de canvis involutius amb mecanismes compensatoris per intentar disminuir l'afectació funcional. Així és possible observar un increment en la resposta postsinàptica en les sinapsis encara funcionals (Foster, Barnes, Rao i McNaughton, 1991) o un creixement de col·laterals per formar noves connexions sinàptiques (Nicolle, Bizon i Gallagher, 1996). De tota manera, aquests mecanismes compensatoris no sempre s'observen, ja que la resposta postsinàptica a certs neurotransmissors, com l'acetilcolina, pot estar disminuïda en algunes estructures, com l'hipocamp (Chouinard et al., 1995). En d'altres ocasions, aquests mecanismes compensatoris poden tenir importants efectes negatius que se sumen als causats directament per l'envelliment, com el cas de la reinnervació d'estructures per col·laterals provinents d'àrees del sistema nerviós que originàriament no innervaven aquestes estructures, amb la subsegüent alteració de la funció (Gallagher i Rapp, 1997; Nicolle et al., 1996).

### **4.3. EFECTES DE L'ENVEL·LIMENT SOBRE L'APRENENTATGE I LA MEMÒRIA**

L'envelliment del sistema nerviós té una traducció funcional molt clara, que es pot valorar en una gran quantitat de proves de conducta. En aquest apartat ens interessarem especialment per les proves que avaluen aprenentatge i memòria, però abans cal fer esment d'algunes consideracions importants que cal tenir en compte a l'hora de valorar els efectes de l'envelliment sobre els processos cognitius. En primer lloc, si bé l'execució dels animals vells és diferent a la dels animals joves en una gran varietat de tasques conductuals, en ocasions aquestes diferències no són més grans que les que s'observen amb d'altres animals vells. La heterogeneïtat és la principal característica conductual dels animals vells, mentre que entre els animals joves s'observen patrons de conducta molt més homogenis (Baxter i Gallagher, 1996). És especialment interessant, a més, que aquesta característica també s'observi en condicions de laboratori, on es poden controlar moltes variables estranyes (com ara la dieta, l'estat de salut, la història d'aprenentatges previs) que podrien afectar sobre el nivell d'execució en una tasca concreta o sobre els processos cognitius en general. Per tant, aquesta heterogeneïtat, típica també de l'ésser humà, és deguda a que el procés d'envelliment afecta de manera més severa a alguns individus que a d'altres (Baxter i Gallagher, 1996).

En segon lloc, cal considerar que l'envelliment és un procés de tot l'organisme, i que per tant pot afectar sobre moltes variables a més de les de tipus cognitiu. Per aquesta raó, a l'hora d'interpretar els resultats, cal considerar amb detall les característiques de la tasca conductual i la possibilitat de que variables no cognitives estiguin afectant sobre l'execució. Així, per exemple, hem de considerar que els animals vells poden tenir menor sensibilitat als xocs elèctrics degut al seu major volum corporal i al fet de tenir la pell més resistent, el que, juntament amb d'altres factors, pot afectar sobre la motivació de l'animal. Igualment, hem de tenir en compte si la tasca en qüestió demanda de coordinació muscular, força, velocitat, conducta exploratòria o, fins i tot, capacitat d'habitució davant de nous estímuls, variables totes elles afectades per l'envelliment (Barnes, 1990).

Per últim, i centrant-nos en les proves d'aprenentatge i memòria, cal considerar que els dèficit mostrats en aquest tipus de tasques poden ser deguts a l'afectació d'altres processos cognitius,

com l'atenció. Aquest punt és especialment rellevant, ja que les neurones colinèrgiques del prosencèfal basal, que com hem comentat són molt sensibles als efectes de l'envelliment (Smith i Booze, 1995), han estat molt relacionades amb els processos atencional (Everitt i Robbins, 1997). Aquestes neurones proporcionen innervació colinèrgica a l'escorça i a l'hipocamp (vegeu la figura 3.3,4). En animals joves, la lesió dels nuclis que innerven l'escorça, com el basal magnocel·lular o la substància innominada, causa dèficit en tasques d'atenció selectiva (Muir, Everitt i Robbins, 1994; Robbins, Everitt, Marston, Wilkinson, Jones i Pagae, 1989), un dèficit que també s'observa en animals vells sense lesió (Jones, Barnes, Kirkby i Higgins, 1995). Tanmateix, la relació d'aquests nuclis colinèrgics amb l'aprenentatge i la memòria ha estat posada en dubte. La lesió selectiva de les neurones de l'àrea septal medial, que proporciona innervació colinèrgica a l'hipocamp, no causa dèficit en tasques de memòria espacial en rates joves (Baxter, Bucci, Gorman, Wiley i Gallagher, 1995a). Aquesta mateixa lesió, en canvi, causa dèficit en una tasca d'inhibició latent (Baxter, Gallagher i Holland, 1995b), un procés cognitiu que ha estat explicat com una modificació de l'atenció als estímuls ambientals (Gallagher i Rapp, 1997).

#### 4.3.1. Tasques de memòria declarativa

En general podem dir que els animals vells mostren un nivell d'execució inferior al dels animals joves en tasques de memòria declarativa dependents de l'hipocamp. Així, per exemple, els animals vells mostren dèficit en l'adquisició dels condicionaments clàssics de traça, però no en l'adquisició dels demorats (Barnes, 1990). Igualment, no se solen observar dèficit en l'adquisició de condicionaments emocionals de supressió condicionada (Barnes, 1990), pel que sembla que la causa del dèficit en el condicionament de traça és la discontinuïtat temporal entre els estímuls a associar.

Els dèficit en tasques d'expressió flexible de la memòria són igualment evidents. S'ha pogut observar una pitjor execució dels animals vells en tasques espacials, com el laberint radial (de Toledo-Morrell i Morrell, 1985; Ingram, London i Goodrick, 1981), el laberint d'aigua de Morris (Linder i Schallert, 1988; Pelleymounter, Smith i Gallagher, 1987) o la plataforma

circular de Barnes (Barnes, 1979; Barnes, Nadel i Honig, 1980). En algunes d'aquestes tasques els dèficit poden revertir-se si es dona a l'animal l'oportunitat de resoldre la tasca de manera no declarativa, sense fer servir claus espacials (Rapp, Rosenberg i Gallagher, 1987), el que prova que no es tracta de problemes motors o motivacionals, sinó de dèficit específics en el processament de la informació declarativa. De fet, mentre que els animals joves mostren una clara preferència per l'ús d'estratègies espacials, aquesta preferència no s'observa en els animals vells (Barnes, 1990). De la mateixa manera, s'ha pogut demostrar en primats no humans vells una menor capacitat per a fer inferències transitives a partir d'una sèrie d'associacions estímulo-estímul (Rapp, Kinsky i Eichenbaum, 1996), una habilitat que s'ha mostrat molt sensible a les lesions de l'hipocamp en rates joves (Bunsey i Eichenbaum, 1996).

En tasques de memòria declarativa no dependents de l'hipocamp, com les tasques de reconeixement del tipus (no) aparellament demorat a la mostra, els resultats no són tan clars. Les rates velles, tot i mostrar dèficit en l'adquisició de tasques espacials, tenen una execució molt similar a la dels animals joves en tasques de reconeixement (Zyzak, Otto, Eichenbaum i Gallagher, 1995). En rates joves aquestes proves s'han mostrat sensibles a la lesió de les escorces entorrinal i perirrinal, però no a la lesió de l'hipocamp (Otto i Eichenbaum, 1992), el que fa pensar que els dèficit d'aprenentatge observats en rates velles són deguts a l'afectació de l'hipocamp, però no de les escorces associades del lòbul temporal medial (Gallagher i Rapp, 1997). En qualsevol cas, en primats no humans vells, els dèficit de memòria en tasques de reconeixement demorades són evidents, encara que no necessàriament han de respondre a l'afectació d'estructures del lòbul temporal medial, sinó a l'afectació de l'escorça prefrontal (Gallagher i Rapp, 1997). En humans, l'escorça prefrontal és necessària per a la memòria d'ordre temporal (Petrides, Alivisatos, Evans i Meyer, 1993), un tipus de memòria que pot ser molt important per a resoldre amb èxit les tasques de reconeixement demorades a causa de la possibilitat d'interferència entre els estímuls de diferents assajos (Gallagher i Rapp, 1997). De fet, en aquests tipus de tasques les rates velles mostren el mateix patró de dèficit que les rates joves amb lesions prefrontals, però no hipocampals, consistent en una incapacitat per a diferenciar entre l'última mostra presentada i les presentades en assajos anteriors, és a dir, mostren una major susceptibilitat a la interferència entre assajos (Winocur, 1992). En consonància amb aquestes dades, els primats no humans vells també mostren un increment en

la conducta perseverativa (Anderson, Anthonard, de Monte i Kempf, 1993), un dèficit molt característic de les lesions de l'escorça prefrontal.

Com ja hem comentat, però, una de les característiques principals de la conducta dels animals vells és l'heterogeneïtat de les mostres estudiades. No necessàriament tots els animals vells han de mostrar dèficit en les proves esmentades, i la raó d'aquestes diferències individuals sembla estar en el diferent ritme que segueix l'envelliment cerebral entre individus. Així, en animals que mostren dèficit en tasques espacials, i només en els que mostren dèficit, es poden observar canvis morfològics, bioquímics i fisiològics principalment a l'hipocamp. S'ha pogut constatar, per exemple, una disminució en el número de sinapsis perforades axoespinals (de Toledo-Morrell, Geinisman i Morrel, 1988; Geinisman, de Toledo-Morrell i Morrell, 1986), una correlació positiva entre l'execució en una tasca de laberint radial i l'activitat colinèrgica a l'hipocamp (Ingram, London i Goodrick, 1981) o una disminució més ràpida de la potenciació a llarg termini (de Toledo-Morrell i Morrell, 1985) i dificultat per a mostrar el fenomen de *kindling* hipocampal (de Toledo-Morrell, Morrell i Fleming, 1984a) en els animals vells que mostren dèficit en tasques de memòria espacial. Igualment, en animals vells també s'ha trobat relació entre els nivells de dopamina a l'escorça prefrontal i algunes mesures de memòria de treball (Luine, Bowling i Hearn, 1990; Murphy, Arnsten, Goldman-Rakic i Roth, 1996), el que demostra que a més de la disfunció colinèrgica, l'alteració de les vies monoaminèrgiques subcorticals que projecten a l'escorça prefrontal pot jugar un paper determinant en l'alteració de la memòria declarativa associada a l'envelliment (Gallagher i Rapp, 1997).

#### 4.3.2. Memòria no declarativa

L'adquisició de condicionaments clàssics i operants no sol afectar-se per l'edat dels animals, com tampoc sol afectar-se l'adquisició de tasques de discriminació (Barnes, 1990). En aquells treballs en que s'observa una pitjor execució dels animals vells, sovint s'ha interpretat com causada per d'altres factors, de tipus perceptiu, emocional o motriu (Barnes, 1990), o bé perquè la tasca demandava d'alguna manera de la participació dels sistemes prefrontals o hipocampals (per exemple, condicionaments amb seqüències temporals, condicionaments de traça, o

discriminacions espacials), que com hem vist a l'apartat anterior es veuen clarament afectats per l'envel·liment (Gallagher i Rapp, 1997). Així doncs, sembla que els dèficit mostrats pels animals vells són conseqüència del tipus d'informació que cal processar, més que de la complexitat de la tasca (Barnes, 1990).

Una tasca no declarativa sobre la que els resultats no són tant clars, però, és l'aprenentatge d'evitació. Aquestes proves poden ser d'evitació passiva o activa amb diverses variants (d'un sentit, de dos sentits, de respostes operants, de moviment en una roda d'activitat...) o incloure un component de discriminació entre estímuls condicionats predictors de càstig ( $EC^+$ ) i estímuls condicionats que es comporten com a senyals de seguretat ( $EC^-$ ). Comparant l'execució dels animals vells amb la dels animals joves, en pràcticament totes les condicions d'evitació enumerades, els primers han mostrat dèficit en l'adquisició, retenció i extinció en un número de treballs similar als que mostren que no existeix aquest dèficit (vegeu la revisió de Barnes, 1990). Les raons d'aquesta discrepància en els resultats no estan clares, però al igual que en d'altres proves de memòria no declarativa, s'ha pensat en factors no cognitius, com diferències en el tipus d'animals utilitzats, factors emocionals, vulnerabilitat a l'estrès, diferent sensibilitat i reactivitat al xoc... A la taula 4.3,1 es resumeixen alguns treballs que han estudiat l'efecte de l'envel·liment sobre el tipus de tasca d'evitació usada al primer experiment d'aquest treball, l'evitació activa de dos sentits (EV2) en *shuttle-box*. Com es pot veure, tot i que en la majoria de treballs s'observa alguna mena de dèficit en l'adquisició de la conducta d'EV2, tal i com passa amb la resta de tasques d'evitació les dades no són del tot concloents.

#### **4.4. FACILITACIÓ DE LA MEMÒRIA DURANT L'ENVEL·LIMENT**

Els dèficit d'aprenentatge i memòria observats en animals vells de vegades poden ser revertits o pervinguts amb determinats tractaments, que en general podem dividir en dos grans grups: els preventius, administrats a llarg termini quan el subjecte encara no mostra cap dèficit, i els aguts, administrats a animals vells per pal·liar i/o compensar els dèficit que ja s'han manifestat.

| Treball  | Edat dels subjectes               | Resultat  |
|--|-----------------------------------|---|
| Ruthrich, Wetzel i Matthies (1983)   | 2 mesos vs. 24 mesos              | No dèficit en l'adquisició ni en la retenció a les 24 hores |
| Fuchs, Martin, Bender i Harting (1986)   | 6 mesos vs. 19 mesos vs. 33 mesos | No s'observa dèficit en assolir un criteri d'aprenentatge   |
| Drago, Valerio, Scalisi, D'Agata i Scapagnini (1988)                               | 2 mesos vs. 26 mesos              | Dèficit en l'adquisició                                     |
| Nakamura i Ishihara (1989)   | 3-4 mesos vs. 23-24 mesos         | Dèficit en l'adquisició (paradigma distribuït)              |
| Drago, D'Agata, Valerio, Spadaro, Raffaele, Nardo, Grassi, Freni (1990)            | 2 mesos vs. 26 mesos              | Dèficit en l'adquisició                                     |
| Petkov et al., (1990)  | 2 mesos vs. 18 mesos              | Dèficit en l'adquisició (paradigma distribuït)              |
| Drago, Coppi, Antonuzzo, Valerio, Genazzani, Grassi, Raffaele i Scapagnini (1996a) | 2 mesos vs. 24 mesos              | Dèficit en l'adquisició                                     |
| Ambrosini, Bruscellini, Mariucci, Mandile, Giuditta (1997)                         | 27 mesos                          | Majoria de respostes de petrificació                        |

Taula 4.3,1: Comparació de la conducta d'EV2 en *shuttle-box* entre rates joves i rates velles

D'entre els tractaments preventius, potser un dels més coneguts és la restricció calòrica. En animals sotmesos a restriccions de dieta, a més d'observar-se un augment de l'esperança de vida, es pot observar una millora significativa en l'execució de proves d'aprenentatge i memòria (Means, Higgins i Fernandez, 1993; Pitsikas, Carli, Fidecka i Alegri, 1990). Recentment, Lee, Duan, Long, Ingram i Mattson (2000) han mostrat com aquest efecte pot ser degut a l'augment en la supervivència de les noves neurones gràcies a l'increment en l'expressió d'alguns factors tròfics.

Un altre tractament que prevé l'aparició de dèficit cognitius durant l'envelliment és l'entrenament continuat. Així, Beatty, Bierley i Boyd (1985) mostren com si les rates són entrenades al llarg de tota la seva vida en un laberint radial de 8 braços no es deteriora el rendiment en aquesta tasca durant l'envelliment, mentre que Bierley, Rixen, Troster i Beatty



(1986) mostren com l'efecte beneficiós de l'entrenament previ es manté fins i tot 10 mesos després d'haver-lo interromput. Aquest efecte, però, sembla específic per a la tasca entrenada, ja que Pitsikas, Biagini i Algeri (1991) mostren com l'entrenament previ en el laberint d'aigua de Morris prevé l'aparició de dèficit en aquesta tasca, però no en d'altres en les que els animals no havien estat mai entrenats. A més, és possible que l'entrenament previ només previngui el deteriorament d'algunes funcions cognitives. Dellu et al. (1997) troben que aquest efecte beneficiós depèn del tipus d'informació que s'ha de processar per resoldre la tasca, ja que poden prevenir l'aparició de dèficit en tasques no declaratives, però no en tasques declaratives.

Aquest entrenament perllongat es pot entendre també com una forma particular d'estimulació ambiental (Barnes, 1991). L'estimulació ambiental, o ambient enriquit, administrada durant certs períodes crítics del desenvolupament neural, pot modificar de manera perllongada la conducta de l'animal adult (Escorihuela, Tobeña i Fernández-Teruel, 1994). Així, rates criades en ambients enriquits no mostren dèficit d'aprenentatge i memòria en diferents tasques al ser avaluades als 23 mesos (Soffie, Hahn, Terao i Eclancher, 1999; vegeu també Van Waas i Soffie, 1996). La manipulació (*handling*) dels animals durant les primeres etapes de vida també sembla prevenir l'aparició de disfunció cognitiva durant l'envelliment, possiblement mitjançant un mecanisme relacionat amb un augment en la regulació negativa de l'eix hipocamp-hipotàlem-hipòfisi-adrenal, el que prevé la degeneració de les neurones hipocampals causada pels glucocorticoides alliberats en situacions d'estrès (Meaney et al., 1988; Vallee, MacCari, Dellu, Simon, Le Moal i Mayo, 1999).

D'entre els tractaments aguts administrats un cop els dèficit ja són evidents, cal destacar en primer lloc els tractaments farmacològics. S'han provat moltes substàncies amb diferents accions per revertir els dèficit de memòria associats a l'envelliment. En la majoria de casos, però, els treballs s'han centrat en la modulació de la neurotransmissió colinèrgica. A la taula 4.4.,1 es resumeixen alguns d'aquests treballs. Un altre tipus de tractament agut que ha mostrat certa eficàcia són els trasplantaments de teixit nerviós fetal. El trasplantament de cèl·lules colinèrgiques a l'hipocamp o l'escorça sembla poder compensar la pèrdua d'innervació colinèrgica provinent del prosencèfal basal que pateixen aquestes estructures (Dunnett, 1991). Igualment, el trasplantament a regions del prosencèfal basal de cèl·lules que expressen factors

neurotròfics, com el factor de creixement nerviós, sembla revertir l'atròfia de les neurones colinèrgiques i els dèficit d'aprenentatge i memòria associats (Martínez-Serrano, Fischer i Bjorklund, 1995).

| Treball  | Tractament  | Edat        | Tasca de memòria         | Resultat                                 |
|--|---|-------------|--------------------------|--|
| <b>Acció sobre la transmissió colinèrgica</b>            |   |             |                          |  |
| Normile i Altman (1992)                                  | Fisostigmina (inhibidor AChE) (0,1-10 g/Kg i.p.)  | 20-24 mesos | Evitació passiva         | Facilitació retenció                     |
| Fontana, Inouye i Johnson (1994)                         | Linopirdina (DuP 996) (Facilita transmissió colinèrgica) (0,1mg/Kg i.p.)  | 23-24 mesos | MWM                      | Facilitació en rates que mostren dèficit |
| Quirion, Wilson, Rowe et al. (1995)                      | BIBN-99 (Antagonista autoreceptors M <sub>2</sub> ) (0,25-0,50mg/Kg s.c.)   | 24-25 mesos | MWM                      | Facilitació en rates que mostren dèficit |
| Socci, Sanberg i Arendash (1995)                         | Nicotina (0,2mg/Kg i.p.)  | 25-26 mesos | MWM                      | Facilitació                              |
| van Der Staay, Hinz i Schmidt (1996)                     | Metrifonat (inhibidor AChE) (12,5mg/Kg p.o.)  | 25 mesos    | <i>Shuttle-box</i> i MWM | Facilitació                              |
| Ruske i White (1999)                                     | AF150(S) (agonista M <sub>1</sub> ) (4mg/Kg, i.p.)  | 19 mesos    | DNMTP                    | Facilitació a diferents demores          |
| <b>Acció sobre d'altres sistemes de neurotransmissió</b> |   |             |                          |  |
| Normile i Altman (1992)                                  | Fisostigmina (inhibidor AChE) (0,001-0,01 g/Kg i.p.) + Ketanserina (antagonista 5-HT <sub>2</sub> ) (1mg/Kg i.p.) | 20-24 mesos | Evitació passiva         | Facilitació retenció ( <i>Continua</i> ) |

|   |  |                |  |   |
|---|--|----------------|--|---|
| Hersi, Rowe,<br>Gaudreau, Quirion<br>(1995)                   | SKF 38393 i SKF 81297<br>(Agonistes D <sub>1</sub> ) (3.0mg/Kg i.p.)   | 24-25<br>mesos | MWM  | Facilitació en<br>rates que<br>mostren<br>dèficit |
| Granger,<br>Deadwyler, Davis<br>et al. (1996)                 | BDP (Agonista AMPA)<br>(30mg/Kg i.p.)  | 14<br>mesos    | Laberint radial i<br>DNMTP                   | Facilitació<br>adquisició i<br>retenció           |
| <b>Acció sobre sistemes endocrins</b>                         |  |                |  |   |
| Drago et al.<br>(1996a)                                       | RGH 2202 (anàleg de la TRH)<br>(5-10mg/Kg i.p. per 20 dies)  | 24<br>mesos    | <i>Shuttle-box</i> i<br>evitació passiva     | Facilitació                                       |
| Drago, Di Leo,<br>Ikononou et al.<br>(1996b)                  | GH (0,1mg/kg s.c. per 8<br>setmanes)   | 18<br>mesos    | <i>Shuttle-box</i> i<br>evitació passiva     | Facilitació<br>adquisició                         |
| <b>Precursors de la síntesi de proteïnes</b>                  |  |                |  |   |
| Ruthrich, Wetzel,<br>Matthies (1983)                          | Àcid oròtic (precursor ARN)<br>(225mg/Kg i.p. per 5 dies)  | 24<br>mesos    | Discriminació simple i<br><i>shuttle-box</i> | Facilitació<br>retenció                           |
| Drago, D'Agata,<br>Valerio et al.<br>(1990)                   | URI i CYT (Nucleosids del<br>grup de les pirimidines)<br>(5mg/Kg per 10 dies)  | 26<br>mesos    | <i>Shuttle-box</i> i<br>evitació passiva     | Facilitació                                       |
| <b>Altres tractaments</b>                                     |  |                |  |   |
| de Toledo-<br>Morrell, Morrell,<br>Fleming i Cohen<br>(1984b) | Pentoxifilina (inhibidor<br>fosfodiesterasa, incrementa la<br>formació d'ATP i metabolisme<br>oxidatiu) Tractament crònic. | 26<br>mesos    | Memòria espacial                             | Facilitació                                       |
| Blokland i Jolles<br>(1994)                                   | Streptozotocina (inhibidor<br>metabolisme glucosa)<br>(1.5mg/Kg i.c.v.)  | 24<br>mesos    | <i>Shuttle-box</i>                           | Facilitació                                       |

Taula 4.4.,1: Efectes de diferents tractaments farmacològics sobre tasques de memòria en rates velles.

MWM: Laberint d'aigua de Morris. DNMTP: No-aparellament demorat a la posició.

Per últim, altres tractaments usats per facilitar la memòria d'animals vells han estat la lesió i l'estimulació elèctrica d'estructures cerebrals. Klapdor, Hasenöhl i Huston (1994) mostren com la lesió del nucli tuberomamilar de l'hipotàlem, principal font d'histamina del sistema

nerviós central (vegeu figura 3.3,6), facilita la retenció d'una tasca d'evitació passiva en rates joves (3 mesos) i velles (31 mesos). Igualment, Frisch, Hasenörhl, Haas, Weiler, Steinbusch i Huston (1998) observen també un efecte facilitador de la lesió del tuberomamil·lar en rates joves (3 mesos) i velles (28-31 mesos) en diverses tasques de memòria, com la discriminació simple en laberint en T, el laberint d'aigua de Morris o un aprenentatge d'habitució.

Pel que fa a l'estimulació elèctrica, no hi ha molts treballs en que s'avaluï la seva efectivitat. Soumireu-Mourat, Martinez Jr., Jensen i McGaugh (1980) mostren com l'estimulació post-entrenament bilateral de l'hipocamp facilita la retenció d'un aprenentatge d'evitació passiva i d'un aprenentatge d'evitació activa d'un sentit en rates joves (4 mesos). En rates velles (26 mesos), però, aquesta facilitació interacciona amb el sexe dels animals, ja que la retenció de l'evitació passiva només es veu facilitada en els mascles, mentre que la retenció de l'evitació activa només es veu facilitada en les femelles.