



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Efectos de la estimulación  
de la neurogénesis hipocampal sobre el  
desempeño en una tarea de memoria de trabajo  
en ratas Wistar**

**César Andrés Acevedo Triana**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Maestría en Neurociencias  
Bogotá, Colombia

2014



# **Efectos de la estimulación de la neurogénesis hipocampal sobre el desempeño en una tarea de memoria de trabajo en ratas Wistar**

**César Andrés Acevedo Triana**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Neurociencias**

Director:

Ph.D. Fernando Cárdenas P

Codirector:

MSc, DVM Manuel Rojas

Grupo de Investigación:

Grupo de Neurociencia y Comportamiento

Universidad de los Andes

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Maestría en Neurociencias

Bogotá, D.C., Colombia

2014



*A Diana mi esposa, compañera y amiga, a mi hijo Juan Andrés y nuestra bebé en camino, a mis padres, a mis hermanos Diego y Julián y mi abuela Libia, compañeros, soporte y apoyo en múltiples etapas en este largo trayecto y quienes esperaron pacientemente el resultado.*



## **Agradecimientos**

Son múltiples los agradecimientos en muchas de las etapas de este trabajo.

Inicialmente al profesor Fernando Cárdenas (director) quién acogió la propuesta y fue mi asesor durante estos años y el desarrollo de este trabajo, gran parte del entrenamiento en técnicas, análisis, reflexión y trabajo lo debo a su tutoría. Al profesor Manuel Rojas (co-director) su paciencia, ayuda y orientación durante todo el proceso y su entrenamiento en las cirugías, cuidado de los animales, registro electrofisiológico y análisis de los resultados. Les agradezco su apoyo y enseñanzas que me han permitido desarrollar no solo este trabajo sino múltiples tareas en otros ámbitos académicos y personales.

Un grupo de personas que me ayudaron en el desarrollo del trabajo fue el semillero de Neurociencia Comportamental de la Universidad de los Andes, especialmente a Laura León, Melissa Cárdenas, Andrea García, Andrea Zarrate, y de forma muy especial a Christian García y Santiago Roa por la ayuda en la recolección de varios de los datos comportamentales y en el cuidado de los animales. Agradezco a la Universidad de los Andes quién facilitó el espacio del laboratorio de Neurociencia para llevar a cabo los procedimientos.

Otros aportes valiosos durante el estudio fueron dados por algunos estudiantes de la Maestría en Neurociencias de la Universidad Nacional, Diana Cárdenas y Carol Calderón quienes amablemente me ayudaron en la etapa de cirugías y evaluación postquirúrgica.

Agradezco a las directivas de la Facultad de Psicología y especialmente al Dr. Carlos Garavito, director del laboratorio de Psicología de la Universidad Católica de Colombia y a sus asistentes por permitirme alojar los animales y concluir de forma exitosa el registro de los sujetos. Fue muy valioso su apoyo y disposición para la última parte de este trabajo.

En la última etapa del proceso le agradezco al profesor Jhon Sutachán y la profesora Sonia Luz Albarracín del Departamento de Nutrición y Bioquímica de la Pontificia Universidad Javeriana quienes amablemente me facilitaron los insumos y equipos para la realización de los procesos de inmunohistoquímica, a Héctor estudiante de pregrado en biología y miembro del laboratorio quién me colaboró en la realización y análisis del proceso de inmunohistoquímica.

En cuanto al apoyo administrativo y gestión de recursos para financiar parte del proyecto le agradezco a Magda López secretaria de la Maestría en Neurociencias por su colaboración y disposición para los múltiples obstáculos que se presentaron. En general, le agradezco al Dr. Humberto Arboleda (director de la Maestría en Neurociencia), los profesores y el comité de la Maestría permitirme realizar y concluir mi formación bajo su supervisión.

Le agradezco inmensamente a mi familia porque su sacrificio, apoyo y paciencia se convirtieron en el soporte vital e incondicional que fue siempre el refugio durante estos años de trabajo

## Resumen

Se reconoce que el ejercicio puede aumentar la neurogénesis adulta y este fenómeno podría evidenciarse en diferentes niveles (comportamental, celular, electrofisiológico). El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la estimulación de la neurogénesis hipocampal mediante el ejercicio, sobre la memoria de trabajo evaluada mediante una tarea de laberinto en T en ratas macho adultas de la sepa Wistar. Se utilizó un diseño experimental de dos grupos en el cual un grupo experimental GE ( $n = 12$ ) fue sometido a un programa de ejercicio forzado durante 5 días, al mismo tiempo que se administró un marcador de síntesis de ADN (Bromo-deoxi-uridina [BrdU](50 mg/kg IP.), los animales control GC ( $n = 9$ ) no fueron expuestos al ejercicio pero se les administró igual dosis de BrdU. Tres (3) animales (GE = 2; GC = 1) se sometieron a cirugía de implantación de electrodos en la corteza frontal medial (+3,0 mm AP;  $\pm 0.5$  mm ML; -3.0mm DV) e hipocampo (-3.0mm AP;  $\pm 1.8$ mm ML; -3.5mm DV) para registro electroencefalográfico durante la ejecución en el laberinto en T. 6-8 semanas después de la aplicación del ejercicio se evaluó la memoria de trabajo en laberinto en T y se analizaron cuatro (4) días de elección evaluando la alternancia de las opciones como indicador de memoria de trabajo. No se encontró diferencia comportamental entre los grupos experimental y control en variables comportamentales (alternancia, índice de preferencia, tiempo de respuesta, tiempo de ensayo, consumo de comida). El registro electroencefalográfico de los animales no mostró una tendencia a la coherencia entre las áreas registradas, siendo éste un indicador fisiológico del proceso de elección. En cuanto a la cantidad de nuevas neuronas no se encontraron diferencias por grupos.

**Palabras clave:** *memoria de trabajo, hipocampo, ratas.*

## Abstract

It is recognized that exercising can increase adult neurogenesis, and this phenomenon may become evident for aspects as behavior, cellular physiology, and electrophysiological markers. The aim of this study was to evaluate the effect of stimulation of hippocampal neurogenesis by means of exercising on working memory, assessed by a T-maze task in adult male Wistar rats. The animals were exposed to a program of forced exercising for 5 days, while a marker for DNA synthesis was used (Bromo-deoxy-uridine [BrdU] 50 mg/kg IP). The experimental animals were assigned into two groups (experimental group GE N = 12, and control group GC N = 9). The animals of the control group were not forced to exercising but BrdU was administered at the same dose. Three (3) of these animals (GE = 2; GC = 1) underwent surgical implantation of electrodes in the medial frontal cortex (AP +3.0 mm, ML  $\pm$  0.5 mm; DV -3.0mm) and hippocampus (-3.0mm AP; ML  $\pm$  1.8mm; -3.5mm DV) for electroencephalographic recording during their performance in the T maze. The working memory was evaluated and analyzed in the T maze, 6-8 weeks after forced exercising and four (4) recording days were analyzed for the alternating election as an indicator of working memory. No behavioral difference was found between the experimental and control group for behavioral variables (alternation preference index, response time, test time, food intake). The electrophysiological recordings none showed a consistent trend for coherence between the recorded areas which could be a physiological indicator of the making decision process. Regarding amount of new neurons per groups no differences were found.

**Keywords:** *working memory, hippocampus, rats*

# Contenido

Pág.

<b>Resumen.....</b>	<b>IX</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>XIII</b>
<b>Lista de tablas.....</b>	<b>XV</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Estructuras cerebrales.....</b>	<b>5</b>
1.1 Hipocampo .....	5
1.2 Giro dentado.....	10
1.3 Cuerno de Amón (CA3, CA2, CA1).....	11
<b>2. Neurogenesis.....</b>	<b>14</b>
2.1 Historia.....	16
2.2 Técnicas utilizadas.....	17
2.3 Proceso de Neurogénesis.....	19
2.4 Regulación de neurogénesis .....	21
2.5 Funcionalidad de la Neurogénesis .....	24
<b>3. Relación funcional entre hipocampo y corteza prefrontal .....</b>	<b>27</b>
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>31</b>
4.1 Objetivo General.....	31
4.2 Objetivos específicos .....	31
<b>5. Método.....</b>	<b>33</b>
5.1 Animales .....	33
5.2 Instrumentos .....	34
5.3 Procedimiento.....	37
5.4 Consideraciones Éticas .....	41
5.5 Medidas comportamentales.....	41
5.6 Registro fisiológico.....	43
<b>6. Resultados.....</b>	<b>45</b>
<b>7. Discusión y recomendaciones.....</b>	<b>57</b>
7.1 Discusión.....	57
7.2 Recomendaciones .....	60
<b>8. Referencias.....</b>	<b>63</b>



## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1-1.</b> Conexiones de la formación hipocampal.	6
<b>Figura 1-2.</b> Representación de la formación hipocampal en C57BL/6J.	7
<b>Figura 1-3.</b> Representación de la formación hipocampal en humanos.	7
<b>Figura 1-4.</b> Secciones coronales de tres secciones a lo largo del eje rostro-caudal mostrando las estructuras del hipocampo en ratas.	8
<b>Figura 1-5.</b> Detalle de las partes del hipocampo y vista de las conexiones con otras estructuras.	9
<b>Figura 1-6.</b> Arborización de principales células en el giro dentado de ratas (células granulares) y otras estructuras del hipocampo (células piramidales).	10
<b>Figura 1-7.</b> Neuronas en hipocampo.	12
<b>Figura 1-8.</b> Representación de la rutas de migración embrionicas en hipocampo	13
<b>Figura 2-1.</b> Sitios de neurogénesis en el cerebro de la rata.	15
<b>Figura 2-2.</b> Representación del proceso de incorporación de BrdU en la cadena de ADN.	18
<b>Figura 5-1.</b> Rueda de ejercicio manual.	34
<b>Figura 5-2.</b> Laberinto en T.	35
<b>Figura 5-3.</b> Imágenes que representan la implantación bilateral del hipocampo.	36
<b>Figura 5-4.</b> Diagrama de flujo del procedimiento del experimento completo con todos los animales.	37
<b>Figura 5-5.</b> Representación de un animal en el sitio de elección que habría cumplido los 30 segundos para su elección	40
<b>Figura 5-6.</b> Coherencia de los histogramas de frecuencia entre los registros de la corteza frontal medial y el hipocampo	44
<b>Figura 6-1.</b> Promedio del índice de memoria de trabajo por grupos.	46
<b>Figura 6-2.</b> Índice de memoria de trabajo por sesiones (E1-E4) comparando los grupos.	46
<b>Figura 6-3.</b> Índice de preferencia por alguna de las opciones.	47
<b>Figura 6-4.</b> Tiempo de respuesta por sesiones (E1-E4) comparando los grupos.	48

<b>Figura 6-5.</b>	Diagrama de dispersión de los tiempos de respuesta (segundos) y el índice de memoria de trabajo (wm)	49
<b>Figura 6-6.</b>	Tiempo de ensayo por sesiones (E1-E4) comparando los grupos.	50
<b>Figura 6-7.</b>	Electroencefalograma cortical e hipocampal de un sujeto experimental durante el momento de elección de uno de los brazos.	51
<b>Figura 6-8.</b>	Representación de las zonas en el laberinto en T.	52
<b>Figura 6-9.</b>	Comparación de las puntuaciones Z de los registros de corteza frontal medial e hipocampo en las sesiones de elección en cada sujeto.	53
<b>Figura 6-10.</b>	Neuronas reactivas a BrdU en los grupos experimental y control.	54
<b>Figura 6-11.</b>	Neurogénesis en el giro dentado inducida por el ejercicio.	56
<b>Figura 6-12.</b>	Neurogénesis en el giro dentado inducida por el ejercicio.	56

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 6-1.</b> Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable peso ..	45
<b>Tabla 6-2.</b> Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable índice de memoria de trabajo.	47
<b>Tabla 6-3.</b> Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable tiempo de respuesta.	48
<b>Tabla 6-4.</b> Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable tiempo de ensayo.	49
<b>Tabla 6-5.</b> Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable cantidad de comida.	50
<b>Tabla 6-6.</b> Comparación de los puntajes Z de coherencia en las sesiones de elección (E1 a E4).	53



## Introducción

La neurogénesis se define como el proceso de producción de neuronas que es característico de los estados iniciales del neurodesarrollo y que incluye las fases de proliferación, diferenciación, maduración e integración funcional en circuitos neuronales (Ming & Song, 2005). Se consideró por muchos años que esta neurogénesis finalizaba cuando los organismos se habían formado por completo. Sin embargo, en los años sesenta una serie de artículos publicados por Altman (Altman & Das, 1965, 1966) mostraron que en el cerebro de ratas adultas se producían nuevas neuronas en diferentes áreas (Lledo, Alonso, & Grubb, 2006; Ming & Song, 2005). A la fecha se tiene un reporte consistente de la producción de nuevas neuronas posteriores al nacimiento en diferentes especies, entre las que se encuentran peces (P. P. Amaral et al., 2009), aves (Louissaint Jr., Rao, Leventhal, & Goldman, 2002), roedores (Tronel et al., 2010; Uda, Ishido, Kami, & Masuhara, 2006), primates (E Gould, Vail, Wagers, & Gross, 2001) y humanos (Déry et al., 2013; Eriksson et al., 1998). Este proceso de proliferación, diferenciación e integración en circuitos establecidos de nuevas neuronas (denominado neurogénesis adulta –NA–), se mantiene a lo largo de la vida de los mamíferos y las neuronas llegan a ser funcionales (Aimone, Deng, & Gage, 2011; Clelland et al., 2009a; Frankland & Josselyn, 2013; Hötting & Röder, 2013; Ming & Song, 2005; Pereira et al., 2007a).

Entre los años setenta y ochenta se reportaron estudios que mostraron la supervivencia de estas nuevas neuronas, el crecimiento de prolongaciones y la integración de éstas en circuitos pre-establecidos, así como el posible papel funcional dependiendo de las estructuras en las que se producen (Ming & Song, 2005). Finalmente, en los años noventa el aislamiento de las células madre neuronales, en ratones y humanos, junto con el desarrollo de marcadores indirectos de síntesis de ADN potenciaron la investigación en neurogénesis adulta y la propuesta de teorías que intentan explicar el papel de estas nuevas neuronas en circuitos pre-establecidos (Deng, Aimone, & Gage, 2010; Frankland & Bontempi, 2005; Ming & Song, 2005). Así, hoy en día se ha reportado ampliamente que existe un proceso de NA posterior al desarrollo que puede llegar a ser funcional en diferentes contextos (Hernández-Rabaza et al., 2009; K. Jin et al., 2006; Nishijima et al., 2013; Noguès, Corsini, Marighetto, & Abrous, 2012).

Se reporta de forma consistente la incorporación de nuevas neuronas en hipocampo y el bulbo olfatorio. Tanto en el hipocampo como en el bulbo olfatorio estas nuevas neuronas participan en varias funciones cognitivas. Así, se ha reportado en humanos y animales que el bulbo olfatorio es una estructura que está involucrada en la recepción y transporte de información relacionada con el procesamiento de información del olfato (Akers et al., 2010). En cuanto al hipocampo su función se ha vinculado principalmente con la memoria en diferentes fases (adquisición, consolidación, reconsolidación y evocación) y con cambios estructurales (moleculares y sinápticos) que subyacen a este proceso (Frankland et al., 2006). La memoria declarativa, episódica, contextual y espacial se ha reportado que depende de los procesos en hipocampo (Abdallah et al., 2007; Frankland et al., 2013; Koehl & Abrous, 2011). Quizás una de las funciones más sobresalientes está relacionada con la generación de fenómenos de plasticidad cerebral; potenciación y depresión a largo plazo (Dityatev et al., 2004; Ming & Song, 2005; Nai et al., 2010).

Son varias las limitaciones en el estudio de la NA. Tales limitaciones son: los métodos utilizados para la identificación de nuevas neuronas *in vivo*, la naturaleza e identificación de las células madre de las cuales surgen y la integración funcional de estas nuevas neuronas en circuitos pre-establecidos (Farrar, Huang, Clarke, & Houser, 2005; Kriegstein & Alvarez-Buylla, 2009; Lim & Alvarez-Buylla, 1999). También, son varios los abordajes que intentan solventar estos inconvenientes y que han permitido que el fenómeno de NA pueda entenderse como un mecanismo útil y biológicamente relevante (Deng et al., 2010; Frankland, Köhler, & Josselyn, 2013a). Estos mecanismos involucran los conocimientos de disciplinas como la histología, biología, anatomía, fisiología, neurociencia y psicología, permitiendo entender este proceso de NA como un proceso que abarca varios niveles de análisis.

Entendiendo este fenómeno biológico como un proceso de alteración estructural y funcional a nivel cerebral este trabajo tiene como propósito evaluar el efecto de la estimulación de NA en hipocampo mediante el ejercicio sobre la memoria de trabajo en ratas adultas Wistar. Este fenómeno, a pesar de ser descrito en roedores de forma consistente, tiene el inconveniente de que para evaluar la funcionalidad de NA se utilizan pruebas comportamentales que involucran las estructuras en las cuales se produce este proceso (Hernández-Rabaza et al., 2009; Noguès et al., 2012). Sin embargo, no es tan consistente el reporte de alteraciones funcionales (es decir, comportamentales) en tareas que involucren áreas diferentes a las tradicionalmente relacionadas con la producción de estas nuevas neuronas.

Se utilizó un diseño experimental de dos grupos independientes en los cuales la variable independiente fue el ejercicio con el fin de estimular el proceso de NA, como se ha reportado (Cotman & Berchtold, 2002; Ferreira, Real, Rodrigues, Alves, & Britto, 2011; Henriette van Praag, 2008). Por otro lado, el grupo control tuvo ausencia de ejercicio. Adicional a esta variable, la implantación de electrodos en estructuras neurogénicas y no neurogénicas tuvo como propósito encontrar medidas electrofisiológicas que pudieran relacionarse con los procesos de NA como una medida funcional fisiológica. Estas medidas, junto con el desempeño de los animales en la tarea de memoria de trabajo y las medidas inmunohistoquímicas se tomaron en cuenta como un indicador funcional del proceso de NA.

Los resultados presentados no muestran el efecto del ejercicio sobre el comportamiento de memoria de trabajo. Si bien los animales del grupo control y experimental no presentan diferencias en cuanto a las medidas comportamentales no es posible afirmar que no se genere una alteración en elementos dentro del proceso de toma de decisiones. Ésto, debido a que la neurogénesis es un fenómeno celular y que la tasa de proliferación, migración, diferenciación e integración tendrá un impacto que podría no ser tan evidente de forma comportamental, la tarea elegida podría mostrar claramente el proceso celular en función de la conducta evaluada. Por otro lado, al intentar medir un constructo psicológico como la memoria de trabajo podría presentar algunas limitaciones en modelos animales debido a la diversidad de definición e instrumentos para su posterior medición (Dudchenko, Talpos, Young, & Baxter, 2013; Dudchenko, 2004a). La elección del instrumento se realizó teniendo en cuenta la simplicidad del protocolo y el reporte de efectividad en la literatura, estudios como este deberían tener más de un instrumento para la medición de un mismo constructo con el fin de validar o contrastar las medidas. En cuanto al análisis de registro de campo encefalográfico por cada uno de los sujetos, se encuentran algunas señales particulares en los animales que podrían ser un indicador del efecto del proceso de neurogénesis sobre la estructura y función neuronal, pero al haberse realizado un análisis de caso con cada sujeto es difícil de generalizar, sin embargo se considera una de las mediciones que a futuro podría ser un marcador fisiológico claro del papel de nuevas neuronas en algunos procesos funcionales. Finalmente el proceso mismo de dividir los animales y la baja cantidad de los mismos podría constituirse en una dificultad a la hora de tener una alta sensibilidad en el estudio y falta de homogeneidad de las condiciones, lo que habría permitido aumentar la diferencia en las medidas de los grupos. Se discute además la posibilidad de que al tener los animales en condiciones de estrés la producción de neurogénesis podría haber disminuido de forma homogénea en los grupos, como se ha descrito

previamente (Korosi et al., 2012; Mahar, Bambico, Mechawar, & Nobrega, 2013; Nishijima et al., 2013).

Debido a las dificultades en la evidencia del proceso en los diferentes niveles de análisis (histológico, biológico, fisiológico y comportamental) y la limitación en los recursos y materiales disponibles para este proyecto, la limitación principal versa sobre la cantidad de animales utilizados y los métodos utilizados para determinar el efecto específico de la NA sobre el comportamiento. Así como la falta de marcadores que permitieran identificar cambios no neurogénicos pero posiblemente asociados al proceso de NA funcional. Estos constituyen un camino para la generación de nuevos estudios con la solución de los mismos.

# 1. Estructuras cerebrales

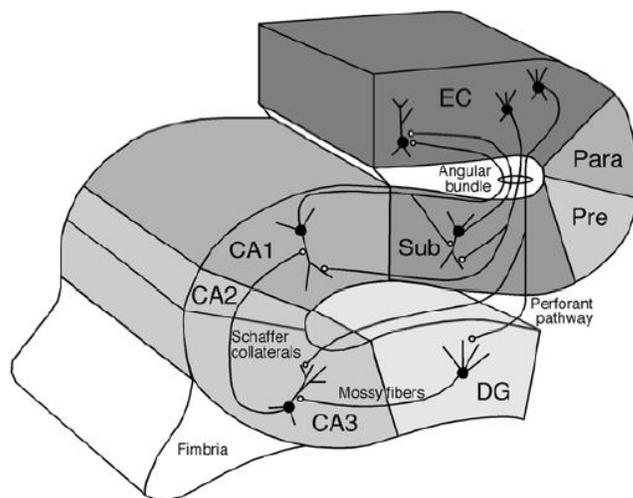
## 1.1 Hipocampo

La formación hipocampal está conformada por el giro dentado, el hipocampo, subículo, presubículo, parasubículo y corteza entorrinal, y el hipocampo está compuesto por tres subdivisiones CA3, CA2, y CA1 (D. Amaral & Lavenex, 2007). Sus conexiones particulares permiten que reciba una gran aferencia de información sensorial cortical de diferentes modalidades sensoriales (D. Amaral & Lavenex, 2007). Esta característica podría conferir la posibilidad de integrar información de patrones y, según lo reportado en algunos estudios sobre neurogénesis, podría verse reflejado en la habilidad para separar estímulos (Clelland et al., 2010; Luu et al., n.d.; Niibori et al., 2012).

Dentro de las conexiones en el hipocampo la corteza entorrinal es el primer paso en el circuito del hipocampo (figura 1-1) y se considera la entrada de información al hipocampo (D. Amaral & Lavenex, 2007). Los axones de las neuronas proyectan al giro dentado (vía conocida como “vía perforante” [*perforant path*]), de allí las neuronas granulares del giro dentado envían información a la región CA3 del hipocampo (fibra musgosa), de allí se proyecta a CA1 (colaterales de Schaffer). Finalmente de la región CA1 se proyecta al subículo y una vez allí se proyecta tanto a la corteza entorrinal como al presubículo y parasubículo, siendo estas conexiones unidireccionales y con un circuito cerrado entre la formación hipocampal (D. Amaral & Lavenex, 2007). Se tienen algunas fibras que conectan la formación hipocampal. Estas son el haz angular que transporta fibras entre la corteza entorrinal y otros campos de la formación hipocampal; la vía fimbria-fornix que conecta a la formación del hipocampo con el prosencéfalo basal, hipotálamo y tallo cerebral; finalmente las comisuras dorsales y ventrales por donde la formación del hipocampo de un hemisferio conecta la formación contralateral (D. Amaral & Lavenex, 2007).

Existe una diferencia en el posicionamiento de la formación hipocampal entre roedores (figura 1-2) y primates (figura 1-3) pero la estructura y comunicación es análoga (D. Amaral & Lavenex, 2007). Se mantienen algunas diferencias en términos de volumen, cantidad de neuronas por región y particularidades propias de especie, pero diversos estudios muestran un papel funcional que

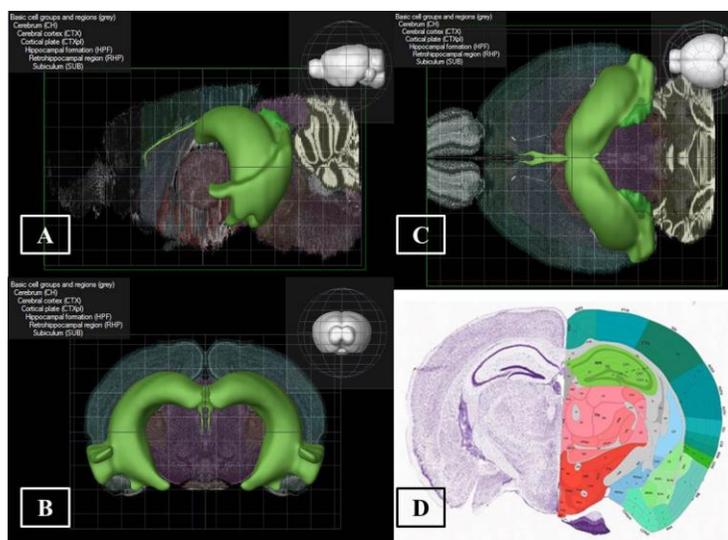
puede mantenerse a lo largo de diferentes especies (Hawrylycz et al., 2012; Sekeres, Neve, Frankland, & Josselyn, 2010; Ziats & Rennert, 2013).



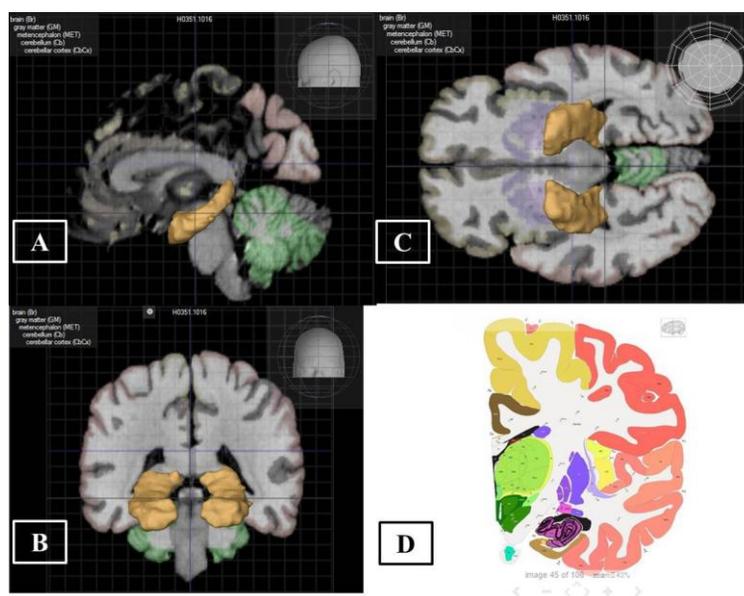
*Figura 1-1.* Conexiones de la formación hipocámpica. EC (Corteza entorrinal); Para (parasubículo); Pre (presubículo); Sub (Subículo); CA3 (Cuerno de Amón 3); CA2 (Cuerno de Amón 2); CA1 (Cuerno de Amón 1); DG (Giro dentado). Tomado de D. Amaral & Lavenex (2007, p 38.)

El haz angular recoge fibras desde la corteza entorrinal y se proyecta a diferentes partes del hipocampo como el giro dentado y subículo. Se da origen así a la vía perforante que proyecta información al giro dentado y se considera la entrada de información principal desde regiones neocorticales al hipocampo (D. G. Amaral, Scharfman, & Lavenex, 2007a).

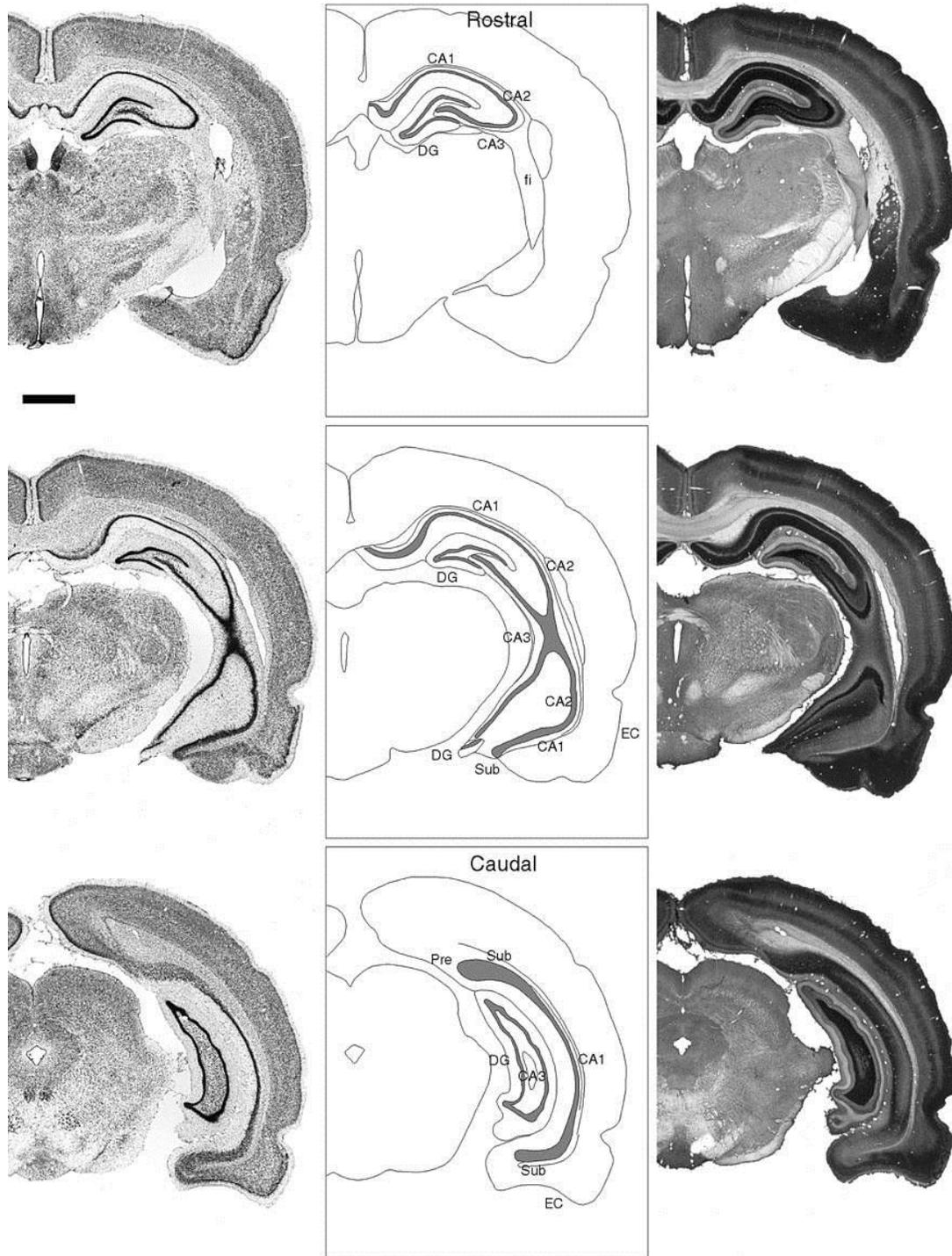
Una de las características importantes del giro dentado es la unidireccionalidad de la información y las conexiones (figura 1-4, figura 1-5) (D. G. Amaral et al., 2007a). Así, la entrada de información al giro dentado no proyecta a la corteza entorrinal, sino que por el contrario, se proyecta a la región CA3 (figura 1-1; figura 1-5) (D. G. Amaral et al., 2007a). Por lo tanto se considera al giro dentado como una estructura inicial del procesamiento de información en el hipocampo.



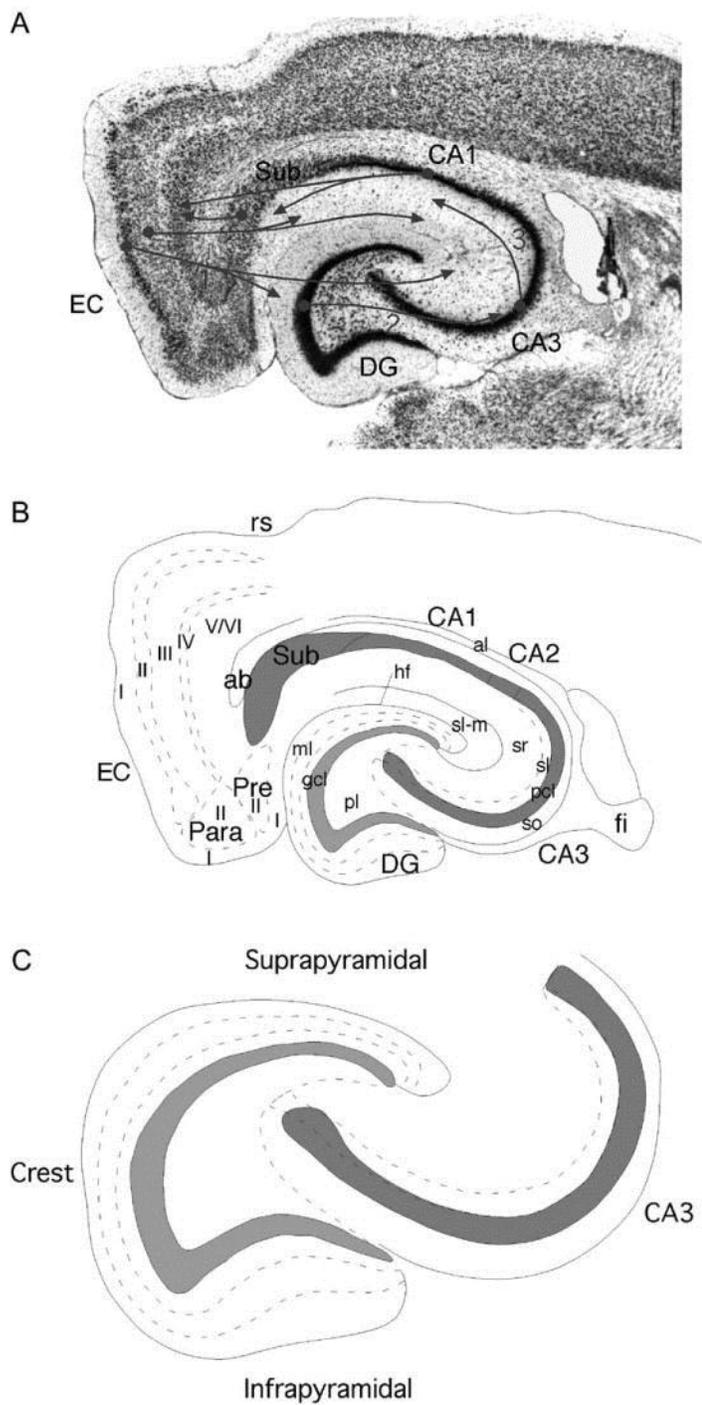
*Figura 1-2.* Representación de la formación hipocampal en C57BL/6J. A, vista sagital; B, vista coronal; C, vista horizontal. Imágenes tomadas del software Brain Explorer 2© (Allen Institute for Brain Science); D, imagen (No P56) de atlas coronal de referencia en C57BL/6J. Tomado de [www.brain-map.org](http://www.brain-map.org) (Allen Institute for Brain Science).



*Figura 1-3.* Representación de la formación hipocampal en humanos. A, vista sagital; B, vista coronal; C, vista horizontal. Imágenes tomadas del software Brain Explorer 2© (Allen Institute for Brain Science); D, imagen (45 de 106) de atlas coronal de referencia [Human Brain Atlas Guide] en humano (34 años). Tomado de [www.brain-map.org](http://www.brain-map.org) (Allen Institute for Brain Science).



*Figura 1-4.* Secciones coronales de tres secciones a lo largo del eje rostro-caudal mostrando las estructuras del hipocampo en ratas. Las tres secciones de la izquierda son cortes con tinción de Nissl, las imágenes de la derecha son cortes con tinción de plata. EC (Corteza entorrinal); Para (parasubículo); Pre (presubículo); Sub (Subículo); CA3 (Cuerno de Amón 3); CA2 (Cuerno de Amón 2); CA1 (Cuerno de Amón 1); DG (Giro dentado). Tomado de D. Amaral & Lavenex (2007, p 52.)



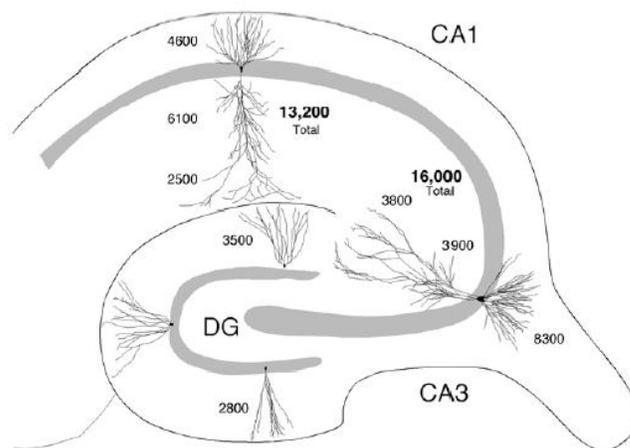
*Figura 1-5.* Detalle de las partes del hipocampo y vista de las conexiones con otras estructuras. a. Sección horizontal con tinción de Nissl; b. diagrama de la organización laminar del giro dentado; c. ilustración esquemática del giro dentado que muestra la posición suprapiramidal, infrapiramidal y cresta. Tomado de Amaral, Scharfman, & Lavenex, 2007, pp. 21.

## 1.2 Giro dentado

El giro dentado es una delgada estructura, en forma de U o de V dependiendo de la altura a la que se vea, que se conforma principalmente por tres capas. Estas capas se diferencian en la cantidad de neuronas y las partes de células que tienen (D. G. Amaral et al., 2007a; D. Amaral & Lavenex, 2007). En la capa molecular se presenta en general una ausencia de células con un grosor de 250  $\mu\text{m}$  y alberga las dendritas de las células granulares, contiene además las fibras de la vía perforante y un grupo pequeño de interneuronas (figura 1-6). La siguiente capa es la granular y, como su nombre lo indica, alberga una gran cantidad de neuronas granulares, junto con éstas, también se encuentran neuronas como células piramidales en cesta del giro dentado. Finalmente la capa polimórfica, albergando diferentes tipos de células siendo las más frecuentes las células musgosas.

En la posición más septal se ve en forma de “V”, mientras que en una posición más temporal se ve en forma de “U”. La porción de la capa granular que se encuentra entre las regiones de CA3 y CA1 se denominada suprapiramidal, en la región opuesta se reconoce la posición infrapiramidal y la región entre las dos y que es la que da la forma de U o de V se conoce como cresta (figura 1-5).

El principal tipo de célula del giro dentado son las neuronas granulares que están conformadas por un soma elíptico (10 $\mu\text{m}$ ) y se encuentran de forma altamente empaquetada que extiende las prolongaciones a través de la capa molecular y su principal sitio de inervación es la región CA3 (D. G. Amaral et al., 2007a; D. Amaral & Lavenex, 2007; Buhl & Whittington, 2007)



*Figura 1-6.* Arborización de principales células en el giro dentado de ratas (células granulares) y otras estructuras del hipocampo (células piramidales). Los valores cuantifican la cantidad de

---

valores aproximados de sinapsis por  $\mu\text{m}$ . DG (giro dentado); CA3 (cuerno de amón 3); CA1 (cuerno de amón 1). Tomado de D. Amaral & Lavenex, 2007, pp. 55.

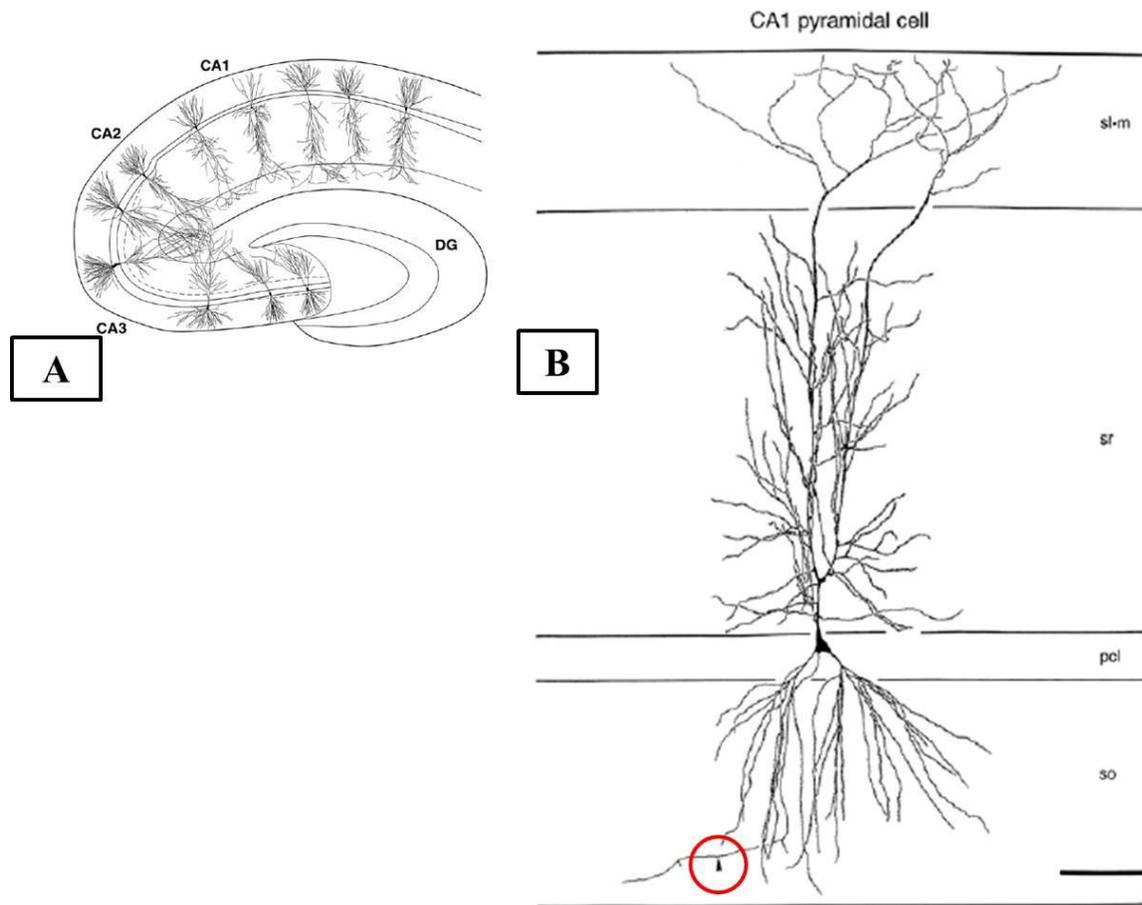
La capa de células granulares que proyecta hasta la región CA3 se denomina fibra musgosa y se considera que son axones desmielinizados que terminan haciendo sinapsis en las células piramidales de la región CA3 del hipocampo (D. G. Amaral et al., 2007a; D. Amaral & Lavenex, 2007). Así mismo, una cantidad importante de axones de la fibra musgosa, termina dando origen a un conjunto de colaterales que terminan en la capa polimórfica del giro dentado innervando probablemente interneuronas GABAérgicas. Se ha sugerido que estas neuronas granulares usan glutamato como su principal sustancia de transmisión y se ha demostrado la respuesta ante otro tipo de sustancias como GABA (D. G. Amaral, Scharfman, & Lavenex, 2007b). También se reporta la presencia de neuronas inhibitorias en el giro dentado (figura 1-6).

Existen algunas estructuras que proyectan al giro dentado como por ejemplo, los núcleos septales llegando hasta la capa polimórfica, igualmente, desde el hipotálamo, recibe información desde los núcleos mamilares mediales mediante glutamato. Por otro lado, se da una innervación de noradrenalina desde el locus coeruleus, de dopamina desde el área tegmental ventral y de serotonina desde los núcleos del raphe (D. G. Amaral et al., 2007a; D. Amaral & Lavenex, 2007; Buhl & Whittington, 2007; Osten, Wisden, & Sprengel, 2007)

### **1.3 Cuerno de Amón (CA3, CA2, CA1)**

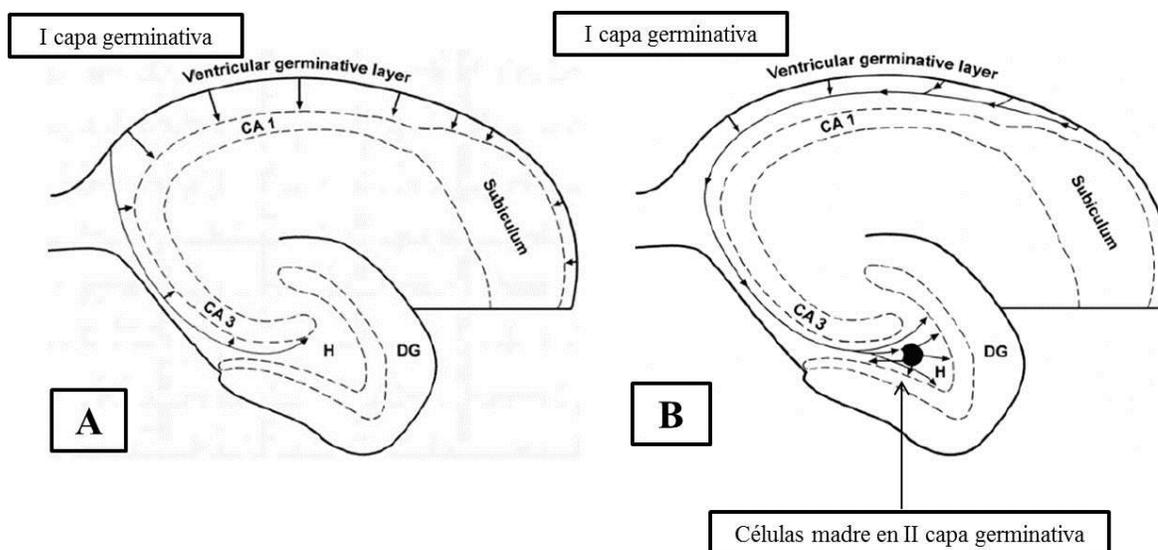
El principal tipo de neurona del hipocampo es el grupo de neuronas piramidales, ubicadas en las capas piramidales de CA3-1. Estas neuronas piramidales han sido descritas morfológicamente y se reconoce que tienen un árbol dendrítico basal que se puede llegar a extender hasta la capa denominada stratum oriens y un árbol dendrítico apical que se ubica en la fisura hipocampal (D. Amaral & Lavenex, 2007). A pesar de que varían en tamaño y conexiones las neuronas piramidales de CA3 y CA1, son morfológicamente similares y su comunicación principal es a través del neurotransmisor de glutamato (D. G. Amaral et al., 2007b).

También se encuentran neuronas inhibitorias, por ejemplo, las neuronas piramidales en cesta, se ubican cerca a la capa de piramidal, células en candelabro, que se reportan inmunoreactivas al GABA; sin embargo, hay reportes que indican que también pueden ser inmunoreactivas a la somatostatina, VIP, neuropéptido Y (NPY) y reconocen marcación de Parvoalbúmina, Calretinina y Calbindina (figura 1-7) (D. G. Amaral et al., 2007b; D. Amaral & Lavenex, 2007).



*Figura 1-7.* Neuronas en hipocampo. A. Representación de distribución de neuronas piramidales en CA3, CA2 y CA1. B. Representación de conexiones una neurona piramidal en la zona CA1 del hipocampo. El círculo indica el axón de la neurona piramidal. so (stratum oriens); pcl (capa de células piramidales); sr (stratum radiatum); sl-m (stratum lacunosum-moleculare). Adaptado y tomado de D. Amaral & Lavenex, 2007, pp. 69.

Se ha relacionado ampliamente el funcionamiento de hipocampo con funcionamiento espacial y de memoria, al igual que separación de patrones espaciales y algunas de estas funciones obedecen a cambios estructurales en el hipocampo que podrían considerarse como fenómenos relacionados con la plasticidad sináptica (D. G. Amaral et al., 2007b; P. P. Amaral et al., 2009; Elizabeth Gould, 2007b). Estas modificaciones se presentan de forma diferencial dependiendo de la edad de los sujetos (Bekstein & Lothman, 1991) y son influenciadas por la integración de los diferentes tipos de neuronas durante el proceso de desarrollo embrionario (figura 1-8).



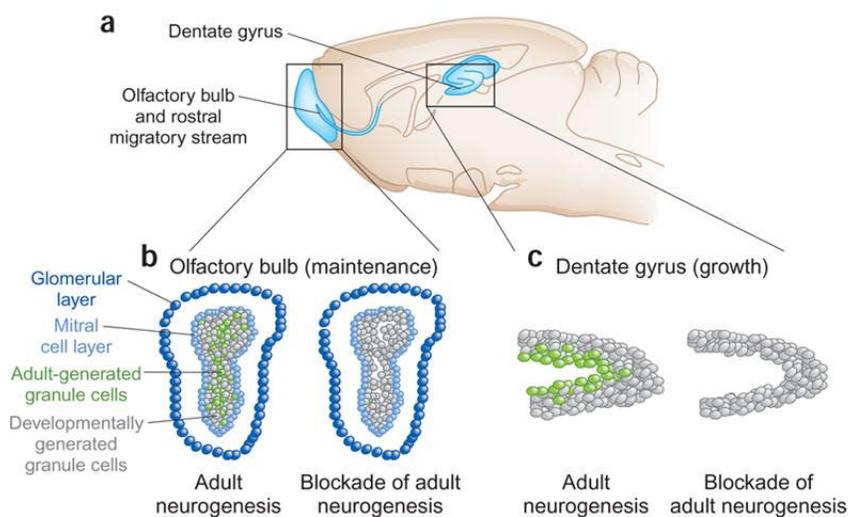
*Figura 1-8.* Representación de las rutas de migración embriónicas en hipocampo. A. Ruta de migración de las neuronas piramidales desde la capa germinativa ventricular al subículo y áreas CA1-CA3. B. Ruta de migración de las neuronas granulares al giro dentado. Proviene de las capas germinativas I y II. Tomado de Amaral & Lavenex, 2007, 116-117.

## 2. Neurogenesis

Hasta finales de los años 80's se consideraba que el proceso de generación de nuevas células nerviosas (neurogénesis) únicamente era posible durante los estados embrionarios y finalizaba algún tiempo después del nacimiento (Colucci-D'Amato, Bonavita, & di Porzio, 2006; Elizabeth Gould, 2007a; Manning, Ransome, Burrows, & Hannan, 2012). Además de la imposibilidad de demostrar indiscutiblemente el nacimiento de nuevas neuronas, existían otras razones para pensar en la dificultad de la neurogénesis. Por ejemplo, la evidencia clínica fácilmente muestra como después de un daño o una patología, los pacientes no experimentan una recuperación funcional completa y las diferentes terapias alivian algunos síntomas pero no curan el daño (Ming & Song, 2005). La especialización en la función del cerebro dejaba serias dudas en cuanto a la posibilidad de que nuevas células pudieran ayudar en procesos de aprendizaje y memoria; por el contrario, nuevas neuronas podrían interferir en los circuitos existentes. Sin embargo, actualmente existen estudios que demuestran la necesidad de neurogénesis en algunos tipos de aprendizaje (Clelland et al., 2009b). Por ejemplo, algunos estudios en roedores han mostrado que la generación de nuevas neuronas son necesarias para las funciones cognitivas dependientes de hipocampo (Clelland et al., 2009b; Goodman et al., 2010).

Actualmente se reconoce que nuevas neuronas son integradas física y funcionalmente al sistema nervioso central (Clelland et al., 2009b; Ming & Song, 2005; Rodríguez-Ramírez, King, & Kempermann, 2007; Suh, Deng, & Gage, 2009). En la mayoría de los mamíferos, la neurogénesis ocurre a lo largo de la vida en la zona subventricular junto a los ventrículos laterales y en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo a partir de grupos de células madre neuronales endógenas (Lledo et al., 2006; Ming & Song, 2005). Estas nuevas neuronas migran y se integran al bulbo olfatorio, por medio del camino migratorio rostral (*Rostral Migratory Stream* - RMS) y al giro dentado del hipocampo respectivamente (figura 2-1) (Lledo et al., 2006). La integración de nuevas neuronas en otras áreas diferentes ha sido bastante controvertida (E Gould et al., 2001;

Elizabeth Gould, 2007a; Stranahan, Khalil, & Gould, 2007), aunque se ha encontrado que luego de alguna estimulación patológica se produce un proceso de neurogénesis restaurativo, tanto en las áreas tradicionales (Suh et al., 2009) como en sitios considerados no neurogénicos (Ming & Song, 2005). A este respecto por ejemplo, se ha reportado que es posible estimular la neurogénesis en el núcleo estriado por medio de la administración de factores de crecimiento (Im et al., 2010). También, se ha encontrado modificación de la neurogénesis neonatal en el tálamo luego de exposición al alcohol (Mooney & Miller, 2010).



*Figura 2-1.* Sitios de neurogénesis en el cerebro de la rata. Tomado de Frankland & Miller, 2008

En general puede asumirse que el proceso de neurogénesis es más un proceso de plasticidad que de regeneración, en tanto, los estudios de estimulación de neurogénesis no involucran daño en el tejido, aunque, también se han establecido procesos restaurativos, por ejemplo en isquemia, modelos de alteraciones cerebrovasculares o en alteraciones de ánimo (Darsalia, Heldmann, Lindvall, & Kokaia, 2005; W. Jiang, Gu, Brannstrom, Rosqvist, & Wester, 2001; Lledo et al., 2006; Suh et al., 2009). Otros factores también disminuyen el proceso de NA por estrés psicosocial crónico (Schloesser, Lehmann, Martinowich, Manji, & Herkenham, 2010). Debido a que son amplios los factores que pueden influenciar el proceso de NA se han identificado algunos métodos experimentales y manipulaciones ambientales que pueden modificar los niveles de NA como el ejercicio, la exposición a rayos X, el consumo de sustancias de abuso o el ambiente enriquecido (Arruda-Carvalho, Sakaguchi, Akers, Josselyn, & Frankland, 2011; Clelland et al., 2009a; Glasper & Gould, 2013; Hötting & Röder, 2013; Leung et al., 2006; Pereira et al., 2007b; Henriette van Praag, 2009; J M Wojtowicz, Askew, & Winocur, 2008).

Dentro de factores externos a los individuos identificados que aumentan la proliferación y supervivencia neuronal se encuentran; el ejercicio, el enriquecimiento ambiental y el consumo de sustancias como antidepresivos de tipo monoaminérgico o antagonistas de glutamato (Cancino et al., 2013; Jacobs, 2002; Kanai et al., 2009; Lledo et al., 2006; Ming & Song, 2005). En cuanto a moduladores de proliferación endógenos se encuentran las hormonas esteroides, algunos neurotransmisores y los factores de crecimiento (Åberg et al., 2003; Farrar et al., 2005; Im et al., 2010; Ming & Song, 2005; Zajac et al., 2010).

Por otro lado, la disminución de la NA se da por procesos de envejecimiento, neuropatologías como Alzheimer, Parkinson o Huntington, condiciones de estrés crónico, consumo de alcohol, drogas o la exposición a fármacos antimetabólicos que disminuyen los procesos de NA en todas las zonas neurogénicas (Akers et al., 2011; Akers, Sakaguchi, & Arruda-Carvalho, 2010; Anderson, Nokia, Govindaraju, & Shors, 2012; Cancino et al., 2013; Chohan et al., 2011; Martinez-Canabal, Akers, Josselyn, & Frankland, 2013; Ming & Song, 2005; Monje & Dietrich, 2012). Así mismo, la exposición aguda a rayos X disminuye la proliferación y diferenciación de neuronas en giro dentado del hipocampo (N. M. Ben Abdallah, Slomianka, & Lipp, 2007; Clark et al., 2008).

A pesar de tener múltiples factores que influyen la NA no es un proceso distribuido ampliamente a nivel cerebral. Por el contrario, estas nuevas neuronas se integran, por lo menos de forma consistente, en la capa granular del giro dentado del hipocampo y en el bulbo olfatorio (Koehl & Abrous, 2011; Lledo et al., 2006; Ming & Song, 2005; Suh et al., 2009; Henriette van Praag et al., 2002).

## **2.1 Historia**

Hacia 1960 se comenzó a hablar sobre neurogénesis por parte de Joseph Altman y colaboradores (Altman & Das, 1965, 1966), al marcar nuevas neuronas usando timidina radiactiva (3H-timidina). En estos trabajos se pudo marcar células con morfología parecida a las neuronas en el bulbo olfatorio y el hipocampo de ratas y gatos (Colucci-D'Amato et al., 2006; Gould, 2007). Esta 3H-timidina fue inyectada en los animales y posteriormente incorporada al ADN de las células en división, permitiendo la visualización por métodos de autorradiografía. Hasta ese momento no se contaban con métodos que determinaran exactamente que las células marcadas eran neuronas. Posteriormente, Michael Kaplan replicó los estudios de Altman (Kaplan & Hinds, 1977), pero introduciendo técnicas de microscopía electrónica, demostrando, hacia 1984, que las células

---

marcadas eran neuronas (Colucci-D'Amato et al., 2006). Para el año siguiente, Rakic publicó los resultados de unos estudios en monos que no mostraban neurogénesis en ninguna de las estructuras reportadas por Kaplan (Gould, 2007).

En los años 80, Nottebohm y colaboradores mostraron como nuevas neuronas eran producidas en el sistema de canto de pájaros adultos; estas nuevas células se generaron a lo largo de los ventrículos y migraron hacia los sitios de destino, extendiendo los axones, estableciendo sinapsis y con respuestas de activación funcional ante los estímulos auditivos (Alvarez-Buylla & Nottebohm, 1988; Nottebohm, 2002). Algunas conclusiones importantes de estos trabajos fueron: a) mostrar que el proceso de neurogénesis era controlado por factores ambientales como el tipo de estación y factores internos como las hormonas; b) solamente una subpoblación de nuevas neuronas se seleccionaban para sobrevivir e integrarse en los circuitos existentes y; c) las nuevas adiciones a los circuitos se correlacionaban con el aprendizaje de nuevas sílabas en las aves (Suh et al., 2009).

En la década de los años 90 se desarrolló la técnica de marcación con bromodeoxiuridina (BrdU), un análogo de timidina que se incorpora en el ADN nuclear durante la fase S, para estudiar neurogénesis. Esta técnica es muy similar a la 3H-timidina, se inyecta en los animales de forma periférica y es recogido por las células que sintetizan su material genético (Rakic, 2002; Rodríguez-Ramírez et al., 2007). Estas células que expresan BrdU pueden ser detectadas por métodos de inmunohistoquímica y se pueden combinar con otras técnicas para identificar la identidad de las neuronas (Gould, 2007). Antes de finalizar el siglo XX, la neurogénesis adulta se observó por la incorporación de BrdU en el hipocampo y el bulbo olfatorio en todos los mamíferos incluyendo pacientes humanos (Ming & Song, 2005; Suh et al., 2009).

## **2.2 Técnicas utilizadas**

Son múltiples las técnicas utilizadas para la identificación de neurogénesis entre los billones de neuronas del sistema nervioso central (Ming & Song, 2005). Una de las más aplicadas es la técnica de análisis basada en la incorporación de nucleótidos análogos durante la división celular. Durante la fase S del ciclo celular, en donde el ADN se replica, los nucleótidos exógenos, tales como 3H-timidina y BrdU, pueden incorporarse en el ADN sintetizado y pasarlo a las células hijas. La 3H-timidina requiere detección autorradiográfica, por otro lado, el BrdU no puede detectarse por autorradiografía pero sí por inmunohistoquímica y permite análisis fenotípico de las neuronas (S.-H. Kim et al., 2002).

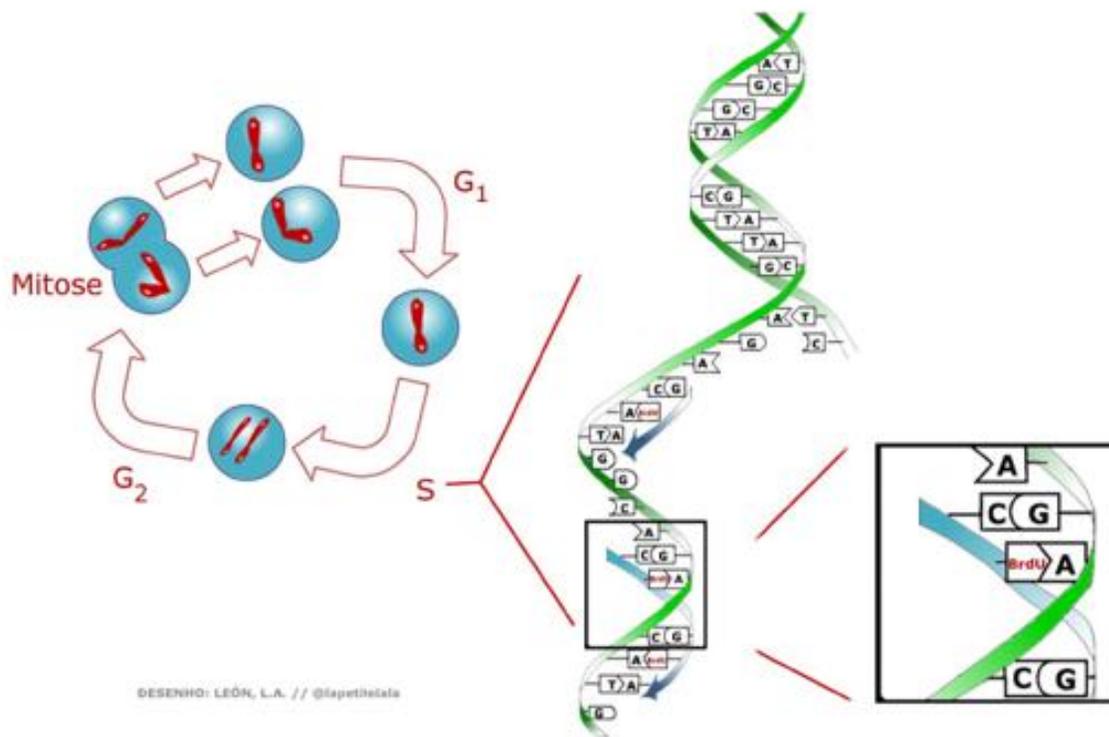


Figura 2-2. Representación del proceso de incorporación de BrdU en la cadena de ADN. Imagen tomada de Tesis de doctorado no publicada León 2014.

Existen algunas consideraciones importantes que deben tenerse en cuenta al utilizar esta técnica. Estos nucleótidos requieren la fijación del tejido y la desnaturalización de ADN, lo que indica que no es posible el análisis en células vivas, además, la etiquetación se realiza en el núcleo y es necesario utilizar técnicas que permitan la identificación de neuronas (Ming & Song, 2005). Y finalmente, es importante señalar que, tanto, la 3H- timina y el BrdU son marcadores de síntesis de ADN y no marcadores de división celular. Se ha reportado que estos nucleótidos pueden incorporarse en ADN que se está reparando (Selden et al., 1993) o en procesos de apoptosis (S.-H. Kim et al., 2002).

Otro método de identificación es el análisis basado en marcación genética por retrovirus; esto requiere la incorporación viral en el genoma huésped. En gran cantidad de estos virus, la integración genética se da cuando la membrana nuclear se rompe durante la mitosis, por lo tanto, se reconoce como un buen marcador de división celular, además, permite la identificación in vivo, sin embargo, requiere inyección esterotáxica invasiva en regiones específicas del cerebro (Ming & Song, 2005).

---

Por último, la técnica de análisis basada en la expresión de marcadores específicos. Durante el desarrollo neuronal éstas células expresan diferentes marcadores que pueden indicar el grado de maduración. Así, los marcadores comunes de neuronas inmaduras son PSA-NCAM (*poly-sialylated-neural cell-adhesion molecule*), Tuj1 ( *$\beta$ -tubulin isoform III*), CRMP (*collapsin response-mediated protein 4*, también conocida como TOAD4) y DCX (*doublecortin*). Para las neuronas maduras se utiliza comúnmente MAP-2ab (*microtubule associated protein-2 isoformas a y b*) y NeuN (*neuronal nuclei*). La técnica consiste en el análisis de la expresión o ausencia de marcadores de neuronas inmaduras (Lledo et al., 2006; Ming & Song, 2005).

Por otro lado, el análisis de la funcionalidad de las nuevas neuronas también ha sido registrado de diferentes maneras. Así, se han analizado principalmente tres niveles; un nivel celular y sináptico, un nivel de circuito y un nivel de animal completo (comportamiento). En el nivel celular y sináptico se han realizado estudios electrofisiológicos en tajadas (Henriette van Praag et al., 2002). A nivel de circuito se han realizado estudios de expresión de c-Fos inducida por la actividad de las nuevas neuronas (Clelland et al., 2009b; Ming & Song, 2005). Así mismo, en el caso de los procesos de plasticidad cerebral debido a procesos de memoria, también se ha reportado la actuación del gen de activación inmediata Arc mediada principalmente por transmisión glutamatergica (Bramham et al., 2010) al igual que la influencia de enzimas mitocondriales como por ejemplo citocromo oxidasa (Cox) (Méndez-López, Méndez, López, & Arias, 2009).

## 2.3 Proceso de Neurogénesis

Se ha planteado que el proceso de neurogénesis, posterior al desarrollo, se conserva a lo largo de las varias escalas filogenéticas. Así, puede encontrarse desde crustáceos hasta vertebrados incluyendo pájaros, roedores, primates y humanos (Lledo et al., 2006). Se ha observado que este proceso disminuye a medida que aumenta la complejidad del cerebro, dando como resultado una menor cantidad de neurogénesis en primates superiores. Esta observación puede corresponder a la facilidad o plasticidad del cerebro de integrar nuevas células nerviosas en circuitos establecidos, generando varios interrogantes con respecto a la funcionalidad de este proceso. Se ha identificado la producción continua de células (interneuronas y neuronas granulares) desde la zona subventricular (SVZ) hasta el bulbo olfatorio por medio del RMS y la producción de neuronas granulares en el giro dentado del hipocampo (figura 2-1) (Goldman & Luskin, 1998; Ming & Song, 2005; Rakic, 2002).

La neurogénesis se da en virtud de las células madre neuronales, que se definen funcionalmente por su habilidad para autorenovarse y diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. La principal evidencia de las llamadas células madre neuronales (*Neuronal Stem Cells - NSC*) se basan en métodos in vitro, en donde, en los cultivos generan neuroesferas flotantes o un cultivo de monocapa (Suh et al., 2009). Algunos estudios muestran que en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo existe un grupo de NSC que continuamente se dividirán en células granulares funcionales (Schloesser et al., 2010).

La identidad de las células madre neuronales que dan origen a nuevas neuronas ha sido fuente de grandes debates; sugiriendo que pueden ser astrocitos, células ependimales multiciliadas, células subependimales (Ming & Song, 2005) o células astrogiales con y sin proyecciones (Suh et al., 2009). Y por el contrario, estas nuevas neuronas no surgen de neuronas pre-existentes (Aimone et al., 2011; Deng et al., 2010). Una de las hipótesis con más apoyo es la de los astrocitos, en donde, en la SVZ de roedores, un grupo de astrocitos, que expresan positivamente para la *Glial Fibrillary Acidic Protein* –GFAP– un marcador de citoesqueleto de astrocitos, da origen a células proliferantes, que no expresan GFAP pero que expresan Dlx2 (marcador de células madre neuronales), y éstas a su vez originan neuroblastos, que no expresan GFAP, pero expresan Dlx2 y expresan *Poly-Sialated Neural Cell Adhesion Molecule* - PSA-NCAM- (un marcador de neuronas granulares en desarrollo) (Lledo et al., 2006; Ming & Song, 2005). Estas nuevas células migran en cadena a lo largo del RMS, se calcula que alrededor de 30.000 nuevas neuronas migran diariamente desde SVZ a bulbo olfatorio. Estas neuronas se han considerado interneuronas (periglomerulares GABAérgicas) (Deng et al., 2010; Lledo et al., 2006)

En la SGZ del giro dentado (GD) también se ha propuesto que los astrocitos pueden dar origen a células granulares; haciendo un estimado de 9.000 neuronas diarias (Lledo et al., 2006; Xu et al., 2011). Estos astrocitos ubican sus cuerpos en la SGZ y extienden sus procesos a las capas granulares y el hilus. Al dividirse, estas células dan origen a neuronas inmaduras que expresan marcadores como doublecortin –DCX–, un marcador de neuronas inmaduras, y PSA-NCAM, marcador para neuronas granulares, posteriormente también expresan CRMP4 (*Collapsin Response Mediator Protein 4*) y calretinina, una proteína ampliamente expresada por neuronas para la señalización de calcio. Queda abierta la posibilidad de que estos astrocitos también den origen a otros tipos de neuronas en el GD (Ming & Song, 2005). Estas células granulares envían proyecciones axonales al área CA3 y los árboles dendríticos en la capa molecular del hipocampo y se constituyen en la principal fuente de proyección del GD (Deng et al., 2010; Lledo et al., 2006).

Se ha propuesto que alrededor de una semana las prolongaciones comienzan a responder a corrientes despolarizantes de tipo GABAérgicas (Xu et al., 2011).

Se plantea entonces que los astrocitos, al igual que las neuronas, tienen una amplia diversidad de funciones, entre las cuales pueden plantearse que lleguen a funcionar como células madre, o dando señales neurogénicas y aportando factores sinaptogénicos (Ming & Song, 2005).

Un análisis funcional de estas nuevas neuronas ha mostrado que existe expresión de sinapsis glutamatérgicas funcionales, pero las transmisiones iniciales y que evocan sinapsis son mediadas por GABA; siendo estas transmisiones despolarizantes, de cinética lenta y diferentes a las corrientes inhibitorias típicamente mediadas por GABA (Lledo et al., 2006). Posteriormente a la maduración de estas células, la expresión de sinapsis funcionales mediadas por glutamato y GABA son evidentes. Morfológicamente, las células nacidas desde la SVZ se complejizan alrededor de unas pocas semanas después del nacimiento; las granulares que se extienden hacia la capa plexiforme externa del bulbo maduran hacia la segunda semana y las perigromelurales tardan 4 semanas para desarrollar sus neuritas. En el caso de hipocampo, las células granulares también toman 4 semanas para la maduración (Lledo et al., 2006) mostrando además hacia la segunda semana propiedades de excitabilidad comparada con neuronas granulares viejas y reaccionan ante estimulación ambiental (Goodman, 2010).

## 2.4 Regulación de neurogénesis

Las zonas neurogénicas que contienen las células madre se denominan nichos neurogénicos (Suh et al., 2009). Estos nichos mantienen y regulan las células madre, además, interactúan constantemente con su ambiente aportando factores nutricionales; están formados por astrocitos y células endoteliales. Se ha descrito que los astrocitos estimulan e instruyen a las células para que se diferencien en neuronas y las células endoteliales funcionan dando señales para que las células madre se renueven (Lledo et al., 2006). Los nichos neuronales interactúan con programas intrínsecos y claves extrínsecas (figura 2-3).

Los programas intrínsecos son factores expresados por células madre y progenitores que controlan diferentes factores de neurogénesis; para la proliferación los factores neurogénicos son PAX6/WNT, proteínas implicadas en la diferenciación neuronal y conexión de sinapsis durante el desarrollo. La señalización Wnt3 es expresada por astrocitos en hipocampo (Suh et al., 2009).

Además, se ha reportado que los factores de transcripción juegan un papel importante en la regulación temporal y espacial de neurogénesis (Suh et al., 2009). Dentro de los más

representativos se encuentran: la proteína Sox2 -Sex determining Region Y-box 2- que al expresarse en células madre neuronales pueden auto-renovarse y dar origen a diferentes progenitores en SGZ y la sobreexpresión previene la diferenciación embrionaria de las células madre neuronales. Otra de las funciones de Sox2 es la regulación de la señalización Notch, el cual está implicado en la función de desarrollo. Se ha encontrado que el receptor Notch1 se expresa en los progenitores neuronales en la zona subgranular y se reporta que cambios en Notch1 en hipocampo se relaciona con daño en neurogénesis (Xu et al., 2011). Otro factor de transcripción importante es el receptor nuclear, *tlx*, que tiene una función importante en la proliferación y diferenciación en neuronas. Cuando se suprime la expresión del receptor, se ha encontrado déficit en aprendizaje y memoria en ratas (Suh et al., 2009).

Además de estos factores de transcripción, otro factor intrínseco importante son los genes proneurales responsables de la diferenciación neuronal y la determinación de destino. Entre estos se encuentra: Neurogenin y NeuroD los cuales producen neuronas de proyección excitatoria. La expresión de *Ascl 1* es detectada en las células madre neuronales que dan origen a las neuronas granulares en giro dentado en hipocampo. Los genes *Pax6* y *Olig2* están implicados también en neurogénesis (Suh et al., 2009). Se ha encontrado que los factores epigenéticos de metilación y acetilación de histonas para la distensión de cromatina, también afecta la proliferación y diferenciación de nuevas neuronas.

Finalmente, los factores generados por eventos ambientales como por ejemplo, el ejercicio físico, la restricción calórica y el enriquecimiento ambiental han mostrado que aumentan la cantidad de BDNF -*Brain-Derived Neurotrophic Factor*-, al igual que, otras neurotrofinas que aumentan la cantidad de neurogénesis en la SGZ del hipocampo (Schloesser et al., 2010). La infusión de BDNF en los ventrículos cerebrales resultan en neurogénesis en zonas diferentes a SGZ y SVZ (Suh et al., 2009).

Los programas extrínsecos son aquellos que son producidos exterior a las células madre y que afectan la producción y proliferación de las nuevas células (Suh et al., 2009). Uno de los hallazgos más impactantes con respecto a los neurotransmisores es que, además de tener la función de comunicación neuronal, tienen la propiedad de iniciar cascadas de señalización que permiten intervenir de forma significativa en la función de control sobre algunos aspectos del desarrollo. Uno de los neurotransmisores más ampliamente distribuidos y funcionales es el ácido gama-aminobutírico (GABA), al cual se han asociado las funciones de inhibición celular en el sistema nervioso central, además, se ha reportado que con respecto a la neurogénesis tiene una señal de disminución de la proliferación en la SVZ y GD (Lledo et al., 2006).

---

Por otro lado, el glutamato se considera el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso y se han identificado cuatro tipos de receptores (*N*-metil-*D*-aspartato –NMDA-, amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico –AMPA-, kainato y metabotrópicos para glutamato–mRGlú). Se ha encontrado que el efecto del glutamato es complejo sobre la proliferación celular. Algunos estudios muestran que cuando se actúa sobre los receptores NMDA y algunos de los metabotrópicos se inhibe la división (Yoshimizu & Chaki, 2004) o pueden facilitar neurogénesis (Baskys et al., 2005). Así, se ha reportado que cuando se bloquea el receptor NMDA se aumenta la proliferación celular (Dazzi, Matzeu, & Biggio, 2011; Suh et al., 2009). Por el contrario, Arvidsson y colaboradores (2011) reportan que el receptor de tipo NMDA media procesos de neurogénesis restaurativo y otros estudios muestran que antagonistas de receptores ionotrópicos de glutamato inhiben la proliferación celular (Wen Jiang et al., 2004). En este mismo sentido, se ha encontrado un aumento en la proliferación cuando se actúa por medio de los receptores tipo AMPA (Lledo et al., 2006), igualmente, cuando se lesiona el cortex entorrinal, principal entrada excitatoria del giro dentado del hipocampo, se da un incremento en la proliferación de neuronas (Suh et al., 2009). Una evidencia adicional sugiere que los daños producidos por medicamentos para anestesia están mediados también por receptores NMDA (Kodama et al., 2011). A nivel molecular se reporta que la interacción entre procesos de memoria y la activación de ADN está relacionada con procesos de metilación (J. J. Day & Sweatt, 2010).

Este proceso de neurogénesis no está únicamente relacionado con los neurotransmisores de Glutamato y GABA. Por ejemplo, en cuanto a la serotonina se ha encontrado que las neuronas serotoninérgicas que proyectan al giro dentado desde los núcleos dorsales del rafe, cuando son inhibidas o destruidas, disminuyen la producción de neurogénesis, tanto en la SVZ como en SGZ (Suh et al., 2009). Una de las principales funciones de la serotonina ha sido la regulación de los estados de ánimo; uno de los efectos de una gran cantidad de agentes antidepresivos es el aumento de la serotonina en el espacio sináptico por inhibición en la recaptación por parte de los transportadores, en el caso de la fluoxetina, o por una estimulación de los receptores 5-HT<sub>1a</sub> (Cooper, Bloom, & Roth, 2003). Se ha encontrado que el tratamiento crónico con antidepresivos (fluoxetina por ejemplo) aumenta la neurogénesis (Encinas, Vahtokari, & Enikolopov, 2006), sugiriendo un efecto directo de la serotonina sobre las células madre del hipocampo (Baskys et al., 2005; Suh et al., 2009). Otro ejemplo interesante es la dopamina que también parece tener un efecto sobre el proceso de neurogénesis. Las neuronas de la sustancia negra proyectan sobre la SVZ innervándola; la inhibición de dopamina disminuye la proliferación celular desde las células madre y se ha encontrado que el efecto puede revertirse por la administración de agonistas de los

receptores tipo D2. La denervación de dopamina disminuye la proliferación en hipocampo (Suh et al., 2009).

## **2.5 Funcionalidad de la Neurogénesis**

Son muchos los factores que producen, transportan, desarrollan y participan en la decisión de supervivencia o muerte de las nuevas neuronas, pero, una vez estas neuronas establecen su objetivo, llegan a madurar y sobrevivir (Tronel et al., 2010) Existen algunas posiciones con respecto a la funcionalidad de estas nuevas neuronas. Las nuevas neuronas del giro dentado muestran una gran propensión para la plasticidad sináptica comparada con células granulares más viejas (Goodman et al., 2010; Lledo et al., 2006). Además, algunos estudios de finales de los años 90 sugieren un papel en el aprendizaje y la memoria (E Gould, Beylin, Tanapat, Reeves, & Shors, 1999; H van Praag, Christie, Sejnowski, & Gage, 1999). Algunos estudios más recientes, muestran que el aprendizaje espacial puede influenciar la neurogénesis adulta, al parecer este efecto es mediado por las corrientes de glutamato (Clelland et al., 2009b; Goodman et al., 2010), ya que cuando es bloqueado el receptor de NMDA no se generan cambios mediados por el aprendizaje (Tronel et al., 2010).

Se ha propuesto también que las células nuevas reemplacen viejas neuronas o reemplacen la funcionalidad de grupos de neuronas. Con respecto a la funcionalidad de los circuitos neuronales, la neurogénesis podría contribuir a propiedades que son producidas por la actividad de grupos de células (Lledo et al., 2006). Pero en años recientes, las tesis de actualización de redes y potenciación de capacidades para el aprendizaje han mostrado ser más consistentes (Frankland, Köhler, & Josselyn, 2013b; Maei, Zaslavsky, Teixeira, & Frankland, 2009).

A nivel del sistema en general, los estudios se han concentrado en una explicación parcial de la funcionalidad, sin embargo, la brecha de entendimiento entre la generación de nuevas células y el procesamiento cognitivo aún es amplia (Aigner, Denli, & Gage, 2007; Lledo et al., 2006; Henriette van Praag et al., 2002; Winocur, Frankland, Sekeres, Fogel, & Moscovitch, 2009). Se ha encontrado que en hipocampo el desempeño individual de las tareas se correlaciona con el nivel de neurogénesis, así, el desempeño en condicionamiento de parpadeo correlaciona con medidas de supervivencia de nuevas células. Además, las tareas con demanda cognitiva han mostrado un aumento en la neurogénesis (Cotel, Jawhar, Christensen, Bayer, & Wirths, 2012; Tronel et al., 2010).

---

Fisiológicamente se ha reportado que en el nacimiento de nuevas neuronas se encuentra que cerca del 50% de las células hijas mueren a los pocos días después del nacimiento. Las células que sobreviven a este proceso inicial de muerte se diferencian principalmente en neuronas granulares (Tronel et al., 2010). Uno de los requerimientos para que las nuevas neuronas puedan procesar información es el desarrollo de árboles dendríticos extensivos capaces de recibir e integrar patrones complejos espaciotemporales de inputs sinápticos. Estudios comportamentales han mostrado que el aprendizaje espacial moldea las neuronas nacientes no solo por regular su cantidad, sino también la formación de los árboles dendríticos. En este mismo sentido se ha encontrado que las nuevas neuronas granulares desarrollan propiedades eléctricas similares a las neuronas granulares maduras (Goodman et al., 2010). El aprendizaje espacial incrementa la complejidad de los árboles dendríticos, un efecto dependiente de la demanda cognitiva de la tarea y de receptores NMDA (Tronel et al., 2010). En este mismo sentido, los receptores GABA-A y NMDA han sido involucrados en modelos de memoria de trabajo (Brunel & Wang, 2001).

En estos estudios se encontró que el crecimiento dendrítico inducido por aprendizaje fue mantenido por al menos tres meses. Estos resultados refuerzan la hipótesis que las nuevas dendritas constituyen un componente esencial para recibir e integrar información entrante. El aprendizaje puede acelerar la maduración de neuronas nacidas adultas por la inducción de genes proneurales y/o por acelerar la llegada de entradas glutamatérgicas y su integración funcional en la red, como ha sido descrito durante las crisis epilépticas (Lledo et al., 2006; Xu et al., 2011). En el hipocampo, la principal entrada de información hacia el giro dentado es la vía perforante y se ha reportado que la alteración estructural del giro dentado puede tener un efecto sobre las vías de salida del hipocampo (Aimone et al., 2011).

Clelland, y colaboradores (2009) evaluaron la abolición de neurogénesis en tareas en donde la discriminación espacial (más cerca, más lejos) era importante para acceder a un reforzador; encontrando que este tipo de procesos se afecta en el sentido de patrones de separación espacial cortos pero no en grandes separaciones. Estos animales fueron expuestos a rayos X y se corroboró que la abolición de nuevas neuronas puede alterar procesos de discriminación espacial. En este mismo sentido, Goodman (2010) mostró que el uso de agentes antimetabólicos como el metilazoximetanol (MAM) reducen la neurogénesis en un 50% aproximadamente y se alteran los procesos de memoria dependientes del hipocampo. Estos estudios, se contrastan con reportes previos en donde se había encontrado que la neurogénesis generada por el ejercicio físico no mejoraba el desempeño en tareas de navegación espacial y que probablemente tenían una función más motora que cognitiva (Kim et al., 2002), ya que puede que en tareas espaciales gruesas la

neurogénesis no esté involucrada, pero en discriminación fina espacial si sea muy importante. En este mismo sentido, otra hipótesis que ha recibido apoyo es la que sugiere que el daño en el proceso de neurogénesis afecta la integración de la estimulación novedosa, conduciendo a los animales en una incapacidad para distinguir cambios en información contextual y temporal (Schloesser et al., 2010). Desde el punto de vista restaurativo se ha encontrado que la privación de sueño modifica los niveles de neurogénesis (Grassi Zucconi, Cipriani, Balgkouranidou, & Scattoni, 2006; Hairston et al., 2005; Korosi et al., 2012; Lucassen et al., 2013).

Metodológicamente la inhibición de nuevas neuronas se ha dado por exposición a radiación ionizante (Rola et al., 2004, 2007). Estas exposiciones a rayos X han tenido alteraciones cognitivas probablemente como una respuesta de las células generando estrés oxidativo y radicales libres que reaccionan con macro moléculas inhibiendo los factores en los micro-ambientes que permiten la proliferación y diferenciación celular (Fishman et al., 2009; Huang, Zou, & Corniola, 2012; Manda & Reiter, 2010; Rola et al., 2007). Así, se ha mostrado que la exposición aguda a una radiación de 5 Gy produce una reducción en el proceso de neurogénesis incluso dos meses después de la exposición (Fishman et al., 2009). Este mismo fenómeno se ha demostrado a dosis más bajas y más altas (2 Gy – 10 Gy) en diferentes momentos uno o tres meses (Manda & Reiter, 2010; Rola et al., 2004). Aunque el proceso de exposición a rayos X puede producir interacciones en las mitocondrias de la neuronas progenitoras, también se ha mostrado que neurohormonas como melatonina pueden prevenir o revertir los efectos de la radiación ionizante (Manda & Reiter, 2010) quizás funcionando como inhibidores de procesos apoptóticos (Li, Aubert, & Wong, 2010) Finalmente, se ha demostrado que la exposición a rayos gamma también pueden disminuir la proliferación y diferenciación de nuevas neuronas (Kim, Jang, Jung, & Jo, 2011).

Otra de las hipótesis planteadas al evaluar la funcionalidad de la neurogénesis sugiere que posiblemente el aprendizaje de memorias anteriores serían alteradas si no existiera proliferación de nuevas neuronas, al igual que, formación de nuevos circuitos (Deng et al., 2010). En este sentido, Tronel et al., (2010) plantea que el aprendizaje espacial probablemente promueve la supervivencia y muerte de nuevas neuronas, debido a que está implicado en el proceso de maduración de prolongaciones y la posible integración en redes neuronales preexistentes bajo la modulación de glutamato mediante activación de receptores de tipo NMDA.

### **3. Relación funcional entre hipocampo y corteza prefrontal**

Han sido varios los niveles en los que se ha propuesto una estrecha relación entre el funcionamiento del hipocampo y la corteza prefrontal (CPF) (Jones & Wilson, 2005; Lee & Solivan, 2008). Un ejemplo de esta relación se da en psicopatología, en donde, se han sugerido modelos de esquizofrenia por lesión en corteza prefrontal, por ejemplo, modificando los niveles de glutamato, al igual que, en hipocampo ventral por lesión excitotóxica (Lipska, 2004). Así mismo, se ha reportado que el tratamiento con drogas antipsicóticas pueden, bajo ciertas condiciones, aumentar el proceso de neurogénesis hipocampal (Meyer, Knuesel, Nyffeler, & Feldon, 2010). Se ha encontrado que estos modelos de lesión en hipocampo se asemejan en funcionalmente a la alteración por daño en CPF lo que ha llevado a sugerir una relación funcional estrecha entre hipocampo y CPF, a través del área prelímbica e infralímbica, presentando un déficit en dopamina y glutamato (Lipska, 2004). Así, la lesión de regiones infralímbica y prelímbica muestran déficit en tareas de localización espacial de objetos (Lee & Solivan, 2008) y de memoria de trabajo (Jones & Wilson, 2005) al igual que alteraciones en los procesos de aprendizaje espacial (Siapas, Lubenov, & Wilson, 2005). Adicionalmente, se ha reportado que la CPF inerva ampliamente al hipocampo (Sudai et al., 2011). Así como que el CPF recibe proyecciones monosinápticas desde el hipocampo por vía ventral (Jones & Wilson, 2005).

Otros paradigmas de aprendizaje han planteado que el hipocampo y la CPF pueden funcionar como una red en conjunto cuando se debe asociar un objeto determinado a un lugar específico para dar respuestas comportamentales (Lee & Solivan, 2008). Así, varios estudios señalan el papel de la corteza prefrontal en la ejecución de tareas de memoria de trabajo y selección de respuestas (de Saint Blanquat, Hok, Alvernhe, Save, & Poucet, 2010; Hanson et al., 2012; Walton, Bannerman, & Rushworth, 2002). Por su parte el hipocampo ha sido implicado en la respuesta a claves espaciales

lo que sugiere una comunicación funcional con la corteza prefrontal, a través de células granulares que se constituyen en la salida de información del giro dentado (Deng et al., 2010).

Funcionalmente, se ha evaluado el fenómeno de neurogénesis en tareas de memoria, por ejemplo, Clelland et. al., (1999) trataron de evaluar la habilidad para seleccionar opciones que antes no habrían sido mostrados. Este grupo de tareas se conocen como de igualdad o no igualdad a la muestra, en este caso puntual *Non-Matching to Place* (NMP). En sus resultados muestran como la modificación de los niveles de neurogénesis altera la discriminación espacial sugiriendo una correlación entre neurogénesis y discriminación espacial. Existen otro tipo de paradigmas bajo los cuales se ha evaluado el papel de la neurogénesis adulta, por ejemplo, Rapanelli, Frick, & Zanutto, (2011) evaluaron si el nacimiento de nuevas células tenía efecto sobre un paradigma de aprendizaje basado en refuerzos, encontrando que en la corteza prefrontal la producción de nuevas células gliales mejora el aprendizaje. Otra variedad de tareas incluyen condicionamiento contextual de miedo (Castilla-Ortega, Pedraza, Estiyill-Torres, & Santin, 2011; Jedynak et al., 2012; J Martin Wojtowicz, Askew, & Winocur, 2008), laberinto espacial de Barnes (Sportiche et al., 2010), laberinto acuático de Morris (Drapeau et al., 2003; Fujioka et al., 2011; Hairston et al., 2005), campo abierto (Kimura et al., 2009), actividad motora sin encontrar resultados contundentes entre animales con mayor o menor neurogénesis (Clark et al., 2008), evitación activa (Van der Borght, Meerlo, Luiten, Eggen, & Van der Zee, 2005), entre otros.

Tanto en el hipocampo como en el bulbo olfatorio estas nuevas neuronas participan en varias funciones cognitivas. Así, se ha reportado en humanos y animales que el bulbo olfatorio es una estructura que está involucrada en la recepción y transporte de información relacionada con el procesamiento de información del olfato (Akers et al., 2010). En cuanto al hipocampo su función se ha vinculado principalmente con la memoria en diferentes fases (adquisición, consolidación, reconsolidación y evocación) y con cambios estructurales (moleculares y sinápticos) que subyacen a este proceso (Frankland & Bontempi, 2006; Frankland et al., 2006). Se ha reportado que las memorias declarativa, episódica, contextual y espacial dependen de los procesos en hipocampo (N. M. B. Ben Abdallah, Slomianka, & Lipp, 2007; Frankland et al., 2013b; Koehl & Abrous, 2011). Quizás una de las funciones más sobresalientes está relacionada con la generación de fenómenos de plasticidad cerebral, potenciación y depresión a largo plazo (Dityatev et al., 2004; Ming & Song, 2005; Nai et al., 2010).

Un aspecto importante para este trabajo es el que está constituido por las tareas de “memoria de trabajo”. Este concepto hace referencia a un registro que realizan los individuos temporalmente y en donde es posible almacenar información, de tal forma que esta información puede ser

---

manipulada y guía la selección de algunas respuestas (de Saint Blanquat et al., 2010; Dudchenko et al., 2013; Dudchenko, 2004a). En modelos animales una de las tareas más utilizadas es la del laberinto radial de ocho brazos, laberinto en T o en Y y algunos estudios reportan que el CPF tiene una amplia participación en este tipo de tareas (Walton et al., 2002). En cuanto a la relación entre neurogénesis y memoria de trabajo se ha encontrado que uno de los paradigmas más utilizado es el laberinto acuático de Morris (Nyffeler, Yee, Feldon, & Knuesel, 2010). Bajo este paradigma es posible realizar variaciones en cuanto a la posición de la plataforma que se oculta y bajo esta condición se denomina memoria de referencia, mientras que la evaluación de la memoria de trabajo en este laberinto está evaluada por procedimientos de igualación a la muestra (Xu et al., 2011). En esta relación de memoria y tarea, se ha reportado que la edad puede afectar el desempeño en tareas de memoria de trabajo encontrando que las células granulares generadas en hipocampo pueden ser responsables de esta relación (Meyer et al., 2010; Nyffeler et al., 2010). En este mismo sentido, modelos animales de Alzheimer muestran poca recuperación en memoria de trabajo bajo condiciones en las cuales normalmente se induce un mayor proceso de neurogénesis adulta (Cotel et al., 2012). Otros modelos han mostrado que las tareas de memoria de trabajo pueden afectarse por la influencia hormonal (McCormick et al., 2012; Xu et al., 2011). Por otro lado, otros paradigmas como el laberinto radial, el laberinto en Y y procedimientos de igualación a la muestra son utilizados para evaluar memoria de trabajo (Ennaceur & Meliani, 1992). De la misma forma, los paradigmas de localización de objetos novedosos también evalúan procesos de memoria de trabajo (Umka et al., 2010). En cuanto al laberinto en forma de T se ha encontrado que es posible evaluar memoria de trabajo realizando pares de ensayos en donde la información del primer ensayo sea retenida luego de una breve pausa, denominada, tiempo inter-ensayo (Dudchenko et al., 2013; Dudchenko, 2004a; Koehl & Abrous, 2011; Peng, Zhu, Cheng, Chen, & Yao, 2011). Estudios de lesión en áreas neurogénicas, como el giro dentado, han mostrado alteración en tareas de memoria de trabajo de igualación a la muestra (Koehl & Abrous, 2011). Por otra parte, bajo condiciones de consumo de drogas se ha reportado que el consumo de cocaína disminuye la proliferación de neuronas en hipocampo y altera el desempeño en tareas de memorias de trabajo evaluadas bajo el laberinto en T en versión acuática (Sudai et al., 2011).

Por otro lado, los registros electrofisiológicos apoyan la idea que el hipocampo y la corteza prefrontal se encuentran relacionados durante procesos de elección (de Saint Blanquat et al., 2010). Así, Saint-Blanquat et al. (2010) han mostrado que el registro eléctrico de las neuronas de la CPF medial durante el desempeño del laberinto radial, permite identificar espacialmente elecciones previas y expectativas. Teniendo en cuenta que la CPFm en humanos y primates superiores no es

topográficamente igual en roedores, se ha reportado que las estructuras de la corteza cingulada, prelímbica e infralímbica, constituyen los análogos funcionales en los roedores (Grolewski, Ryabinin, & Cunningham, 2012; Heidbreder & Groenewegen, 2003; Wallis, 2012). En cuanto a registros electrofisiológicos durante el desempeño comportamental, se ha encontrado que los ritmos theta de hipocampo se relacionan con memoria a largo plazo, sugiriendo que la región CA1 está involucrada en la adquisición de nueva información espacial (Masuoka, Fujii, & Kamei, 2006). Así, se ha reportado que existe activación entre el hipocampo y CPFm durante el desempeño de tareas de memoria de trabajo espacial, sugiriendo sincronización funcional de actividad rítmica (Jones & Wilson, 2005). Esta actividad theta (4 a 12 Hz) ha sido asociada con comportamientos de procesamiento de información, sueño REM y se ha reportado en diferentes partes de la corteza cerebral, en el sistema límbico y subcortical, sugiriendo un papel en tareas de memoria de trabajo por activación del hipocampo (Jones & Wilson, 2005; Siapas et al., 2005). Existen autores que incluso proponen una relación temporal entre la activación de neuronas en hipocampo a ritmo theta y la respectiva respuesta 50 milisegundos después en la CPF (Siapas et al., 2005). Finalmente, evidencia funcional muestra que el estrés puede alterar la estructura y función del hipocampo y alterar el comportamiento relacionado con tareas de memoria (Del Arco, Segovia, Garrido, de Blas, & Mora, 2007). Así, se ha propuesto que el enriquecimiento ambiental, además de favorecer procesos de neurogénesis, también reduce los efectos del estrés agudo sobre la actividad de la CPF (Del Arco et al., 2007).

En cuanto a la relación y posible identificación de marcas fisiológicas entre diferentes regiones cerebrales, se ha reportado que son múltiples las marcas que pueden evidenciar procesos durante el comportamiento. Una de estas líneas de investigación está determinada por el análisis de las oscilaciones electroencefalográficas en bandas de frecuencia gamma (30 Hz a 55 Hz) como un indicador de integración temporal de información cerebral (Castro et al., 2014). En cuanto al estudio fisiológico de procesos cognitivos en humanos y animales, se ha reportado que en vigilia y diferentes fases de sueño la identificación de marcas en las bandas de frecuencia son un indicador de diversos procesos comportamentales y cognitivos (Buzsáki & Wang, 2012; Castro et al., 2014; Kanayama, Sato, & Ohira, 2009; Roux & Uhlhaas, 2014; Uhlhaas et al., 2009).

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto de la estimulación de la neurogénesis hipocampal sobre una tarea de memoria de trabajo en el laberinto en T con ratas Wistar adultas macho.

### **4.2 Objetivos específicos**

Determinar el efecto de la estimulación de la neurogénesis, por medio de un programa de ejercicio crónico, sobre el desempeño en una tarea de memoria de trabajo en el laberinto en T en ratas macho adultas.

Correlacionar la expresión o el marcaje de nuevas neuronas en hipocampo con el desempeño comportamental.

Identificar posibles señales electrofisiológicas en hipocampo o corteza prefrontal con estimulación de neurogénesis hipocampal.



## 5. Método

### 5.1 Animales

Los animales utilizados fueron ratas macho Wistar (320-350g;  $n = 31$ , 22 semanas aproximadamente) que provenían del laboratorio de Inmunofarmos. Los animales fueron alojados en grupos de 4 animales, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h cada uno (7 am – 7 pm) a temperatura ambiente. El agua y la comida se administraron de forma *ad libitum* durante todas las fases. Para la fase de comportamiento no se realizó restricción calórica del alimento. Una vez llegados al laboratorio, los animales fueron asignados de forma aleatoria a los siguientes grupos

1. Experimental (GE): diecisiete (17) animales asignados inicialmente y doce (12) terminaron las sesiones y fueron expuestos a un programa de ejercicio para estimular la neurogénesis y cinco (5) de estos animales fueron sometidos a cirugía de implantación de electrodos bilaterales en la corteza prefrontal e hipocampo, de los cuales únicamente dos (2) se tomaron en cuenta para los análisis finales
2. Control (GC): catorce (14) animales asignados inicialmente y nueve (9) que no recibieron exposición al programa de ejercicio. Cinco (5) de estos animales fueron sometidos a cirugía de implantación de electrodos bilaterales en la corteza prefrontal e hipocampo, de los cuales únicamente uno (1) se tomó en cuenta para los análisis finales.

Por manejos logísticos en cuanto a la disponibilidad de instrumentos se dividieron los animales en dos grupos. En un primer grupo se utilizaron 15 animales (GE = 8; GC = 7) (330 g aprox). De este grupo inicial se retiraron dos (2) sujetos del grupo experimental debido a que en los días iniciales luego de la llegada se presentó una lesión en su oreja derecha en uno de los animales; y un segundo sujeto presentó lesiones en la piel y problemas de respiración y se recomendó su salida del estudio. En el grupo control, también se retiró un (1) sujeto por signos de problemas respiratorios. Así el grupo experimental de la primera parte fue de 6 animales y 6 animales control ( $n = 12$ ). Ninguno de estos animales fue sometido a cirugía de implantación de electrodos.

En el segundo grupo se utilizaron 16 animales (GE = 9; GC = 7) (300 g aprox). De este segundo grupo todos los animales completaron las fases ejercicio y se tomaron 10 animales (GE = 5; GC

= 5) que fueron sometidos a cirugía de implantación de electrodos. De estos 10 animales, 5 animales tuvieron complicaciones durante la cirugía (GE = 2; GC = 3) y no sobrevivieron al procedimiento para completar la fase de comportamiento. De los 5 animales restantes que completaron el procedimiento de implantación dos (2) animales (GE = 0; GC = 2) se retiraron abruptamente el dispositivo con los electrodos antes de finalizar la fase de elección, por este motivo, fueron sacrificados inmediatamente y sus cerebros preservados pero no se tomaron en cuenta para el análisis de todo el grupo. Así este segundo grupo estuvo conformado por 9 animales (GE = 6; GC = 3).

## 5.2 Instrumentos

### *Rueda de ejercicio*

Durante el procedimiento de ejercicio, los animales fueron expuestos a un programa de ejercicio moderado, según Uda et al., (2006). Debido a que la operación de la rueda fue manual (figura 5-1), se intentó determinar una velocidad constante para todos los individuos. Así, se estableció una velocidad promedio de 7 metros/minuto por un periodo de 30 minutos/día por 5 días (adaptado de Uda et al., 2006)

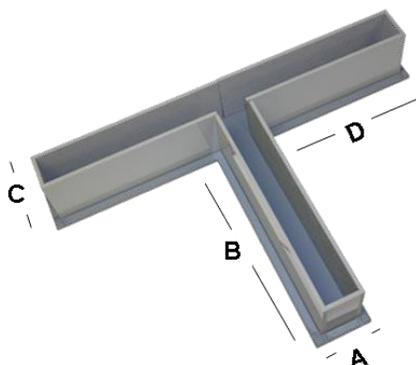


*Figura 5-1.* Rueda de ejercicio manual. Utilizada para la implementación de los programas de ejercicio del grupo experimental.

### *Laberinto en T*

Laberinto en T de madera recubierto con material impermeable en el interior del aparato (Walton et. al., 2002). Un brazo inicial va unido a los dos brazos finales formando la figura en T (Figura 5-2). El laberinto se ubicó a una altura de unos 80 cm del piso. Al final de los brazos C y D se

ubicaron los reforzadores que fueron unidades de pellets de aproximadamente 4 mm de diámetro y compuestos principalmente de sacarosa.



*Figura 5-2.* Laberinto en T. Los lados A y C miden 15 cm. Los lados B y D miden 60 cm. La altura de todas las paredes del laberinto es de 30 cm (Walton et al., 2002).

#### *Cirugía de implantación de electrodos*

Luego del sometimiento de los animales al ejercicio se tomaron al azar 5 animales de cada uno de los grupos (GE =5; GC = 5) y se sometieron a la cirugía para el implante de los electrodos. Estos animales fueron anestesiados durante la cirugía con gas isoflurano previa administración de un pre-anestésico (xilacina - 1 mg/kg al 2% y atropina 0.04 mg/kg, i.p.). La inducción de anestesia se llevó a cabo en una cámara saturada con 5 % de isoflurano; luego se colocaron los animales en un marco estereotáxico y se mantuvieron anestesiados con máscara conectada a un equipo de anestesia de gases que administraba 1-2% isoflurano en oxígeno y un flujo de (0.5-1 l/min). Posterior a esto se realizó una incisión antero-posterior de 2 cm en la línea media de la piel del cráneo, se procedió a ubicar los puntos de bregma para la ubicación y cálculo de los sitios de ubicación de los electrodos. Mediante un taladro dental se trepanó el cráneo de los animales en las siguientes coordenadas con respecto a bregma. Para la implantación bilateral en la Corteza Prefrontal, las coordenadas fueron Antero-Posterior (AV) + 3.0 mm, Medio-Lateral (ML)  $\pm$  0.5 mm y Dorso-Ventral (DV) - 3,0 mm; para la implantación en el hipocampo las coordenadas fueron AP -3.0 mm; ML  $\pm$  1.8 mm y DV -2.5 mm. Los electrodos fueron hechos de filamentos de cobre de 0.3 mm de diámetro recubiertos con aislante y con la punta del electrodo expuesta para el registro de campo. Fueron implantados 4 electrodos de registro y 1 electrodo de tornillo que sirvió de referencia y fue ubicado en el hueso parietal. Adicional a este electrodo de tornillo se implantaron en el cráneo 2 tornillos que sirvieron para anclar la plataforma de los electrodos. Posterior a la implantación de los electrodos se fijaron con cemento dental y se procedió con

tratamiento analgésico (Finadine 1,5 mg/Kg i.p.) y antibiótico (Benzetazil 10.000 UI/Kg, IM.) a los animales por 4 días posteriores a la cirugía.

Luego de la cirugía, aproximadamente con una recuperación de una semana (7 días), los animales pasaron a la sesión experimental.

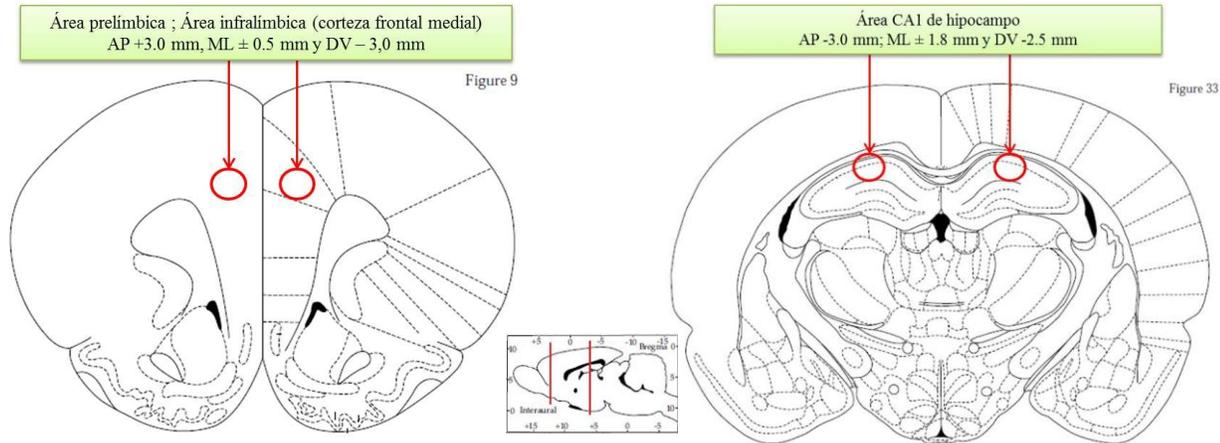


Figura 5-3. Imágenes que representan los sitios de implantación bilateral del hipocampo. Tomado y modificado de Paxinos & Watson, 1998.

### Imunohistoquímica

Para evaluar la proliferación de células se administró a los animales 5-bromo-2'-deoxiuridina (BrdU, Sigma Aldrich) a una dosis de 50 mg/kg, (i.p.) durante 5 días consecutivos durante la fase de ejercicio o reposo. Luego de los procedimientos comportamentales los animales fueron perfundidos intracardiamente con 200 ml de solución salina (0,9%) seguida por 200 ml de paraformaldehído (4°C al 4%). Los cerebros fueron extraídos y permanecieron 2 días en paraformaldehído (4%) antes de ser cortados en vibrátomo a una temperatura de 4°C (García, León, & Cardenas, 2009). Luego de estos días se seccionaron los cerebros en cortes coronales de todos los animales a un grosor de 60  $\mu$ m mediante un vibrátomo (Vibratome 1500). La técnica de marcaje se realizó en dos momentos debido a que los grupos fueron divididos en dos grupos. En el primer grupo se realizó por inmunodetección directa en dos etapas. Antes de realizar la incubación el tejido fue sometido a un proceso de denaturalización de ADN con 2 N HCl a 37°C por 30 minutos y se sometió a lavados por 15 minutos con PBS a temperatura ambiente. Luego, en un primer momento el tejido fue incubado con el anticuerpo primario (Monoclonal Anti-5-bromodeoxiuridina (MoBu-1) producido en ratón (Sigma Aldrich), 1:100 en 0,3% Triton-X PBS)

durante una noche a 4°C para que se una al antígeno (BrdU). Luego se realizó la incubación con el anticuerpo secundario (1:200 en 0,3% Triton-X PBS) a una temperatura ambiente por 2 horas para finalmente administrar la diaminobencidina (DAB) para el revelado. Luego los cortes fueron montados en láminas y se procedió al conteo manual de las nuevas neuronas.

Para la inmunocitoquímica contra BrdU del segundo grupo, después de la exposición al ejercicio los animales fueron perfundidos y los cerebros obtenidos fueron preservados por 3 días en paraformaldehído y luego fue seccionado usando un vibratomo (Vibratome 1500) a 60µM. Las tajadas obtenidas fueron almacenadas en PBS pH 7.2 hasta el día de la inmunocitoquímica. A continuación el tejido fue lavado con PBS en tres oportunidades, luego se dio a cabo un proceso de denaturalización de ADN con 2 N HCl a 37°C por 30 minutos y se sometió a lavados por 15 minutos con PBS a temperatura ambiente. Luego, nuevamente el tejido fue incubado con el anticuerpo primario (Monoclonal Anti-5- bromodeoxiuridina (MoBu-1) producido en ratón (Sigma Aldrich), 1:100 en 0,3% Triton-X PBS) toda la noche a 4°C. Finalmente, se incubaron con un anticuerpo secundario anti-mouse fluorescente (Alexa Fluor 568, Invitrogen) y se montaron con Pro-Long Gold® que contenía Dapi.

### *Microscopia y Análisis de las Imágenes*

Imágenes de 12 bits/pixel se adquirieron utilizando un microscopio de fluorescencia Axiovert Zeiss usando un objetivo de 20X a una resolución de 1388 x 1038. Las imágenes fueron adquiridas en las mismas condiciones y se procesaron usando el programa Image J.

## 5.3 Procedimiento

El procedimiento completo se representa a continuación

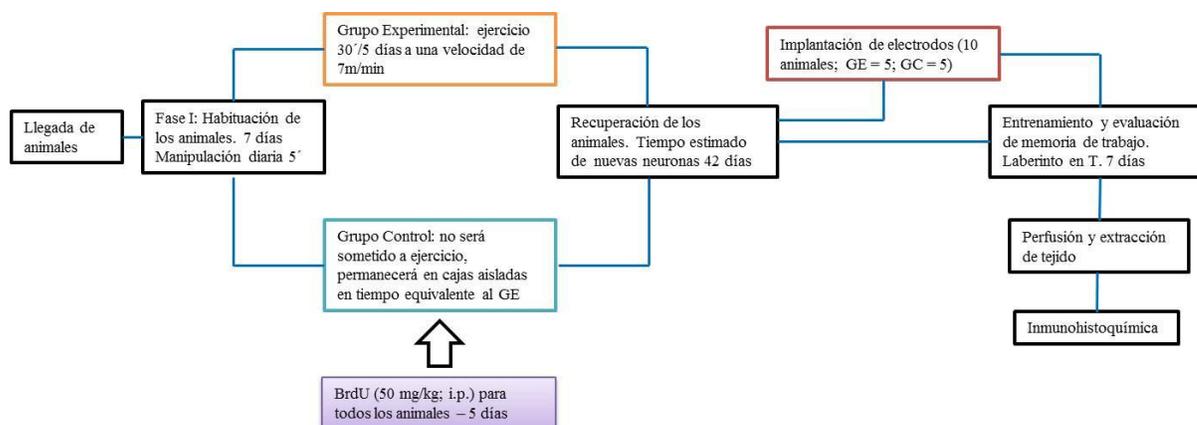


Figura 5-4. Diagrama de flujo del procedimiento del experimento completo con todos los animales.

Las siguientes aplicaron para los animales en los dos grupos de la misma forma a excepción del procedimiento de implantación de electrodos.

Inicialmente se alojaron los animales en grupos de cuatro (4) por cada caja de habitad. Durante una semana (7 días) se sometieron a un proceso de habituación al sitio experimental con una manipulación diaria de 5 minutos para cada animal durante los siete (7) días. En este periodo los animales tuvieron condiciones de agua y alimentación *ad libitum*.

Posteriormente, se asignaron a los animales a los grupos experimentales y control. El grupo experimental de estimulación de neurogénesis fue sometido a un programa de ejercicio diario por 30 minutos (adaptado del protocolo de S.-H. Kim et al., 2002) durante 5 días.

Dos días antes de la iniciación del programa los animales fueron habituados a la rueda de ejercicio por 5 minutos sin ningún tipo de operación de la rueda.

Luego de estos dos días se inició el proceso de ejercicio junto con la administración del BrDU. El programa de entrenamiento fue considerado moderado (Pietrelli, Lopez-Costa, Goñi, Brusco, & Basso, 2012). Debido a la operación manual de la rueda de ejercicios no fue posible generar un programa segmentado en el cual los animales incrementaran paulatinamente el ejercicio, por lo tanto, se trató de mantener una velocidad constante durante los 30 minutos a una velocidad de 7 m/min. La asignación de los animales a la rueda y la implementación al programa se realizó de forma contrabalanceada. Luego de completar este programa de ejercicio los animales permanecieron en un periodo de recuperación sin ejercicio durante 6 semanas (42 días aproximadamente). De la misma forma que el grupo de ejercicio, los animales control recibieron una dosis de 50 mg/kg (i.p.) de BrdU.

Durante el proceso de recuperación de los grupos se tomarán al azar 5 animales de cada grupo (ejercicio y control) y fueron sometidos al procedimiento de implantación de los electrodos de registro. Cabe resaltar que como los animales fueron divididos en dos momentos. Los animales del primer momento (15 animales) no tuvieron el procedimiento de implantación de electrodos. Los animales que fueron sometidos a la cirugía de implantación pertenecían al segundo momento (16 animales).

Luego finalizar el periodo de recuperación para todos los animales, pasaron al entrenamiento en la tarea de memoria de trabajo evaluado por el laberinto en T. En esta tarea se colocó el animal en el

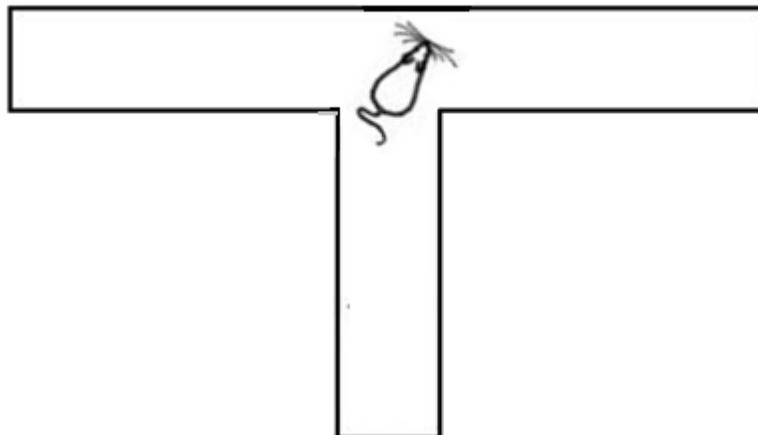
---

brazo inicial de un laberinto en forma de T (figura 5-2) y se permitió la entrada a alguna de las opciones en donde se encontraba una cantidad de reforzador (4 unidades de comida). Una vez el animal entraba a uno de los brazos y obtenía el reforzador era retirado del laberinto y entraba en un periodo de inte-rensayo (30 segundos). Pasado este tiempo, el animal podía volver a escoger uno de los brazos para obtener reforzador. La evaluación de la memoria de trabajo estaba dada por reconocer los brazos antes visitados (Levin, 2001). El análisis del proceso de memoria de trabajo se realizó por 3 días (Fase prueba). El procedimiento específico de entrenamiento en el laberinto en T fue el siguiente (adaptado de Deacon & Rawlins, 2006):

*Habitación (2 días).* Cada uno de los animales fue colocado en el brazo de inicio (Figura 5-2) y se le permitió explorar libremente todo el laberinto por un periodo de 3 minutos. Al final de cada uno de los brazos se encontraba una cantidad abundante de comida (8 unidades).

*Entrenamiento – Ensayos Forzados (1 día).* Una vez el animal había reconocido que el reforzador se encuentra al final de cada uno de los brazos se procede a enseñar la tarea en laberinto, que consistía en ubicar el reforzador (4 unidades) al final de las opciones de respuesta (C o D Figura 5-2). Al iniciar, cada animal se colocaba en el brazo de salida. Posteriormente, tuvo un periodo de 30 segundos para escoger alguna de las opciones (C o D, Figura 5-2). Luego de escoger una de las opciones, cada animal tuvo 60 segundos para consumir el reforzador. Una vez finalizado este tiempo se retiró el animal del laberinto y se colocó en una caja de descanso ubicada al lado del laberinto por 30 segundos (tiempo inter-ensayo- TIE). En un primer ensayo el animal escogía libremente entre las dos opciones, en el segundo ensayo se forzó al animal a escoger la opción contraria a la escogida inicialmente bloqueando el acceso al brazo escogido con anterioridad. Esto, con el fin de forzar al animal a consumir las dos opciones de respuesta. Los animales tenían 20 ensayos discretos diarios.

Si en el tiempo de 30 s no se escogían las opciones el animal se retiraba del laberinto y se colocaba en la caja de descanso con un TIE. De la misma forma que si se ha escogido una de las opciones, dentro de los 30s, pero el animal no consume el reforzador en los 60 s, será retiraba del laberinto y ubicaba en la caja de descanso para un TIE. En algunos casos puntuales, el criterio podía variar debido a que los animales una vez se encontraban en el punto de elección podían cumplir los 30 segundos pero el experimentador consideraba que realizaría una elección (figura 5-3) por lo que aumentaba el tiempo de los 30 segundos iniciales hasta un máximo de 60 segundos



*Figura 5-5.* Representación de un animal en el sitio de elección que habría cumplido los 30 segundos para su elección, pero debido a su posición el experimentador consideraba que realizaría pronto una elección.

*Prueba – Evaluación de memoria de trabajo (4 días).* Los animales tenían la fase de memoria de trabajo (4 días), en la cual, realizaban 20 ensayos nuevamente, pero, a diferencia de la fase anterior, no eran ensayos forzados. Es decir, los animales debían escoger libremente hasta completar los 20 ensayos. Los tiempos para cada uno de los ensayos eran los mismos que los de la fase anterior.

Una vez finalizada la evaluación comportamental los animales fueron perfundidos transcárdiacamente bajo anestesia y se realizó la extracción y preservación del tejido cerebral para el posterior análisis inmunohistoquímico de neurogénesis (identificación de BrdU).

#### *Análisis Estadístico*

Los resultados se analizaron con estadística paramétrica (cuando los datos lo permitan). Se realizaron múltiples comparaciones en las puntuaciones de memoria de trabajo entre los grupos experimentales y control. Se realizó análisis de ANOVA de dos factores con medidas repetidas tomando como factores el grupo (GE-GC) y la sesión (E1, E2, E3 y E4) para las variables de índice de memoria de trabajo, tiempos de respuesta, preferencia, cantidad de comida. Para los datos de cantidad de neuronas etiquetadas con BrdU se realizaron correlaciones con el desempeño en tiempos de respuesta, ejecución y número de aciertos en la evaluación de memoria de trabajo. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SigmaPlot 12.0. Los datos

---

electrofisiológicos se evaluaron para análisis de coherencia software especializado (SpikeII) comparando histogramas del poder de bandas de frecuencia, obtenidas con la aplicación de la transformada de Fourier a la señal electroencefalográfica cortical e hipocampal.

## 5.4 Consideraciones Éticas

Durante la realización de este proyecto se cumplieron las normas éticas y legales exigidas para la investigación con animales de laboratorio en Colombia (Ley 84 de 1989 y Resolución No. 8430 de 1993 del Ministerio de Salud). Los animales utilizados se mantuvieron con agua y comida estándar para roedor (rodantina) *ad-libitum*. Se respetó la declaración universal de los derechos de los animales proclamada por la liga internacional de los derechos del animal, Ginebra, Suiza (1989) y los principios éticos de la experimentación animal enunciados por ICLAS. Los fármacos utilizados fueron manipulados y descartados siguiendo procedimientos de bioseguridad establecidos en el laboratorio. Cabe aclarar que la mayoría de los reactivos a utilizar fueron de categoría no tóxica, por lo tanto, el estudio no provocó ninguna alteración en el medio ambiente.

## 5.5 Medidas comportamentales

### *Memoria de trabajo*

Debido a que la memoria de trabajo ha sido conceptualizada en la literatura como un proceso “complejo” se utilizaron indicadores previamente descritos para su medición (Dix & Aggleton, 1999; Dudchenko, 2004b). Dudchenko (2004) define la memoria de trabajo en ratas como una tarea de memoria a corto plazo que involucra el mantenimiento de información por periodos de tiempo relativamente cortos y que tiene como finalidad encontrar lugares o estímulos. Junto a esta definición se ha reportado que el laberinto en T puede ser un instrumento utilizado para evaluar el constructo de memoria de trabajo en ratas, operacionalizando a ésta como la alternancia de los animales entre cada una de las opciones utilizadas en laberintos con varios brazos (Dix & Aggleton, 1999; Dudchenko et al., 2013; Dudchenko, 2004b).

Así, el reporte al usar el laberinto en T se da en términos de la alternancia entre las opciones como un comportamiento de memoria de trabajo en virtud de tener que recordar mejor la opción visitada en un momento inicial y luego visitar la contraria, mediando esta elección un tiempo inter-ensayo (Dudchenko, 2004b; Richman, Dember, & Kim, 1986; Tolman, 1925). Las tareas de elección en este mismo laberinto también se han relacionado con otros constructos, por ejemplo, elección

basada en esfuerzo o conflicto, para evaluar constructos cognitivos en modelos animales que involucran estructuras como la corteza frontal medial (Gilmour et al., 2013; Walton, Bannerman, Rushworth, 2002).

La memoria de trabajo ( $wm$ ) en este trabajo fue asumida como la cantidad de respuestas de alternancia<sup>1</sup> dadas sobre la cantidad de alternancias posibles (10), indicando si se estaba cerca de lo esperado como memoria de trabajo.

$$(1) \quad wm = \frac{\text{alternancia}}{10}$$

$$(2) \quad \text{Porcentaje } wm = wm * 100$$

### *Índice de preferencia*

Se estableció como un indicador de preferencia por alguno de los brazos del laberinto. Este índice podría considerarse un sesgo hacia alguno de los brazos y podría explicar la baja cantidad de alternancia en cada uno de los brazos.

Está definido así

$$(3) \quad ip = \frac{\text{No respuestas derecha} - \text{No respuestas izquierda}}{\text{No respuestas derecha} + \text{No de respuestas izquierda}}$$

Así, valores cercanos a 0 indicarían que no hay preferencia por ninguno de los brazos del laberinto. Por el contrario valores cercano a 1 indicarían preferencia del brazo derecho y valores cercanos a -1 indicarían preferencia por el brazo izquierdo.

### *Tiempo de respuesta*

Una medida que podría ser un indicador de toma de decisión es el tiempo de respuesta. Así, se calculó desde el momento inicial en que el animal era colocado en el brazo de inicio del laberinto en T y el tiempo en que el animal optaba por alguna de las decisiones (Rushworth, Walton, ennerley, & Bannerman, 2004). El criterio para asumir que había tomado una decisión consistía en colocar las patas traseras dentro de la región de alguno de los brazos. Posteriormente se bloqueaba la salida del brazo, lo que llevaba a que no cambiara la elección.

---

<sup>1</sup> Entendida como la entrada en un primer ensayo en un determinado brazo y en la siguiente elección en el brazo contrario a la elección inicial. En las sesiones de 20 ensayos se podrían realizar un máximo de 10 alternancias.

### *Tiempo total de ensayo*

El tiempo total del ensayo está definido como el tiempo completo desde que el animal entra en el brazo de inicio hasta que termina la comida pasando por la elección y consumo del reforzador, puede ser asumido como un indicador de motivación debido a que la velocidad de consumo de reforzador ha sido conceptualizado relacionado con la motivación (J. E. Day, Kyriazakis, & Rogers, 1998; Halas, Burger, & Sandstead, 1980; Tracy, Jarrard, & Davidson, 2001). Para efectos de este trabajo a menor tiempo de ensayo total podrá asumirse como mayor motivación.

### *Comida*

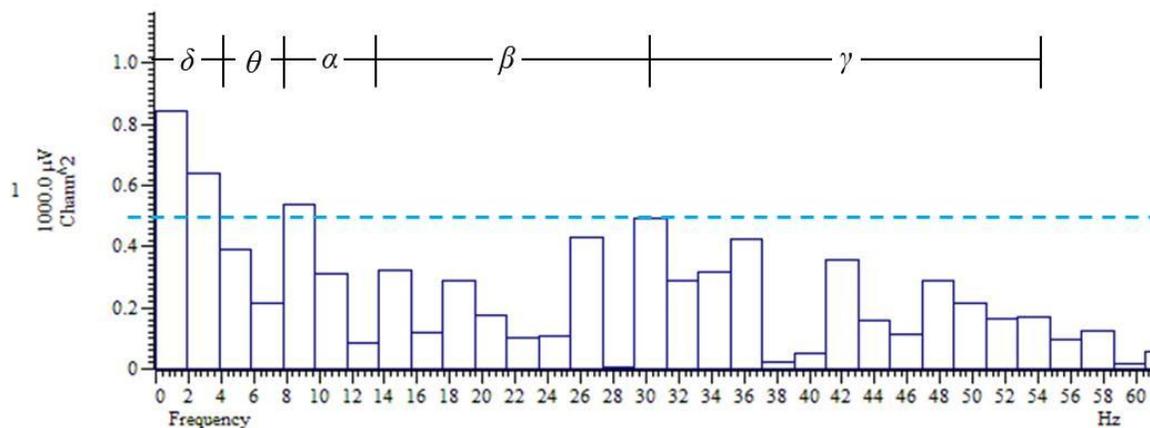
En relación con este estudio y junto con el tiempo total de ensayo podría identificarse como un nivel de motivación de los animales. Hay que tener en cuenta que para este estudio no se realizó una restricción calórica alguna debido a los inconvenientes generados cuando se estudian comportamientos de aprendizaje y memoria mediados con la necesidad de alimentación de los animales (J. E. Day et al., 1998; Halas et al., 1980; Tracy et al., 2001).

## **5.6 Registro fisiológico**

### *Análisis de coherencia*

El grado de coherencia que puede presentarse entre dos estructuras se define conceptualmente como la fortaleza de la interconexión funcional que puede estar sucediendo entre estas áreas (Bressler, Coppola, & Nakamura, 1993; Bullock, McClune, & Enright, 2003; Castro et al., 2014). Se midió en este trabajo como una función entre dos ondas de la frecuencia y el rango desde 0 para dos ondas y que se interpreta como incoherencia total, hasta un nivel máximo de coherencia medido en 1, mediante un algoritmo matemático.

Un análisis que puede realizarse junto con la cuantificación de la fortaleza, es el tipo de ondas que se presentan de forma coherente en un determinado punto. Para esto, una vez se realiza el análisis de coherencia entre las estructuras se puede identificar el tipo de onda que es más coherente en los registros (figura 5-6).



*Figura 5-6.* Coherencia de los histogramas de frecuencia entre los registros de la corteza frontal medial y el hipocampo. En la parte superior se detalla el tipo de ondas al que corresponde cada una de las frecuencias. La línea media indica el nivel de 0,5 tomándose este punto a partir del cual una coherencia está por encima del azar.

Para las comparaciones estadísticas se realizó una normalización de los registros electroencefalográficos para aplicar estadística paramétrica, se siguió el procedimiento sugerido por Castro et al. (2014) y se aplicó la transformación  $Z'$  de Fisher. Una vez se transformaban los promedios de cada una de las sesiones se procedía a la comparación entre la zona de lección y la zona de no elección en cada una de las sesiones (E1 a E4) para cada sujeto. Cabe resaltar que no todos los individuos escogían en los 20 ensayos discretos con los que se contaba en la sesión de elección. Por el contrario, debido a mantener una contingencia en el tiempo de elección de los individuos, se estableció un tiempo de respuesta, en el cual se esperaba que el sujeto escogiera una de las opciones. De no hacerlo se retiraba el sujeto del laberinto en T y se iniciaba un tiempo inter-ensayo. En estos casos no fue posible comparar el registro eléctrico entre la elección y no elección. Debido a que la coherencia debe estar medida de forma simultánea entre las áreas, únicamente se tomaron en cuenta los ensayos en los cuales se había elegido una opción.

## 6. Resultados

Debido a que el experimento se desarrolló en dos momentos, es decir, los animales fueron divididos en dos grupos por factores logísticos, se compararon los pesos en cuanto a los grupos (GE-GC) del primer o segundo grupo. Se realizó una prueba de comparación de medias con el fin de comparar la variable de peso en los grupos. Se encontró que existía una diferencia entre los grupos ( $U = 60.500$ ;  $T = 299.500$ ;  $p = 0.017$ ) siendo el segundo grupo el que presentaba una menor mediana de peso ( $G2 = 305$  gramos) con respecto al grupo uno ( $G1 = 325$  gramos) al momento de llegada de los animales. Con este resultado se presupone que los animales del segundo grupo eran más jóvenes que los del primero, pudiendo ser una variable importante en el momento de analizar la cantidad de proliferación celular.

En cuanto a la diferencia de los grupos experimental y control a lo largo del estudio, se realizó un análisis de comparación de medias para el peso, se encontró que no había diferencia entre los pesos de los sujetos de ambos grupos ( $U = 710.000$ ;  $T = 1376.000$ ;  $p = 0.163$ ).

Cuando se evalúan los pesos a lo largo de las sesiones y se comparan en un análisis de varianzas de dos factores de medidas repetidas, se encuentra que no hay diferencia en los pesos (tabla 6-1).

**Tabla 6-1.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable peso

Source of Variation	DF	SS	MS	F	p
Grupo	1	7475.223	7475.223	0.621	0.440
Sujeto(Grupo)	19	228730.729	12038.459		
Sesión	3	35.193	11.731	0.436	0.728
Grupo x Sesión	3	172.098	57.366	2.132	0.106
Residual	57	1533.854	26.910		
Total	83	237930.952	2866.638		

Nota: Factor A: grupo (GE; GC); Factor B: sesión (E1-E4).  $DF$  = grados de libertad;  $SS$  = sumatoria de cuadrados;  $MS$  = Media de cuadrados;  $p < 0.05$ .

### *Memoria de trabajo*

Inicialmente se calculó el promedio del índice de wm para todos los cuatro días de elección y luego se compararon los dos grupos (figura X1a). Se realizó una prueba t de student para grupos independientes (test de normalidad [*Shapiro-Wilk*]  $p = 0,605$ ) no encontrando una diferencia entre los grupos ( $t = 1,404_{(19)}$ ;  $p = 0,176$ ;  $IC -0.460: 0.233$ ;  $\beta = 0,146$ ). Al analizar este mismo resultado

en términos de porcentaje (Porcentaje wm), tampoco se evidencia una diferencia entre los grupos ( $t = 1,404$  (19);  $p = 0,176$ ;  $IC -4.599: 23.349$ ;  $\beta = 0,146$ ) (figura 6-1b).

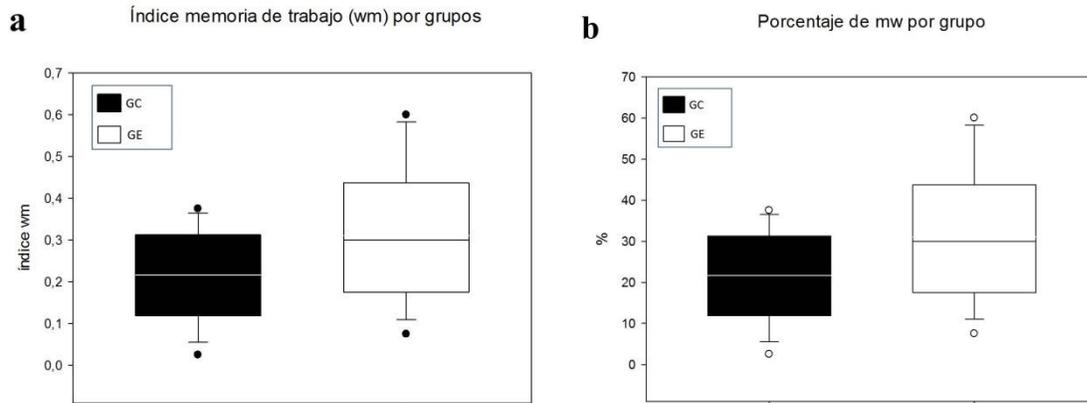


Figura 6-1. Promedio del índice de memoria de trabajo por grupos. a. índice de 0 a 1. b. porcentaje de alternancia

Luego se evaluó el índice de wm (variable dependiente) en cada uno de los ensayos (figura 6-2).

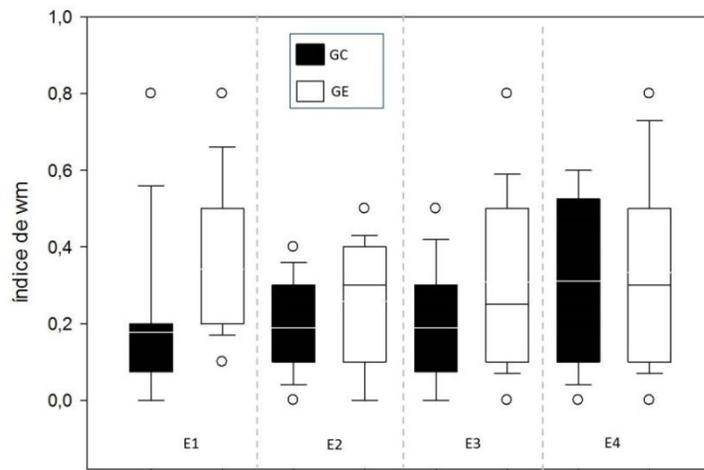


Figura 6-2. Índice de memoria de trabajo por sesiones (E1-E4) comparando los grupos. No se encontraron diferencias entre los grupos ni entre las sesiones.

Para analizar la diferencia se realizó una prueba de análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas, para comparar cada uno de los días de ensayo (figura 6-2a). No se encontró diferencia entre los grupos, ni entre las sesiones (E1-E4) para el índice de wm (tabla 6-2).

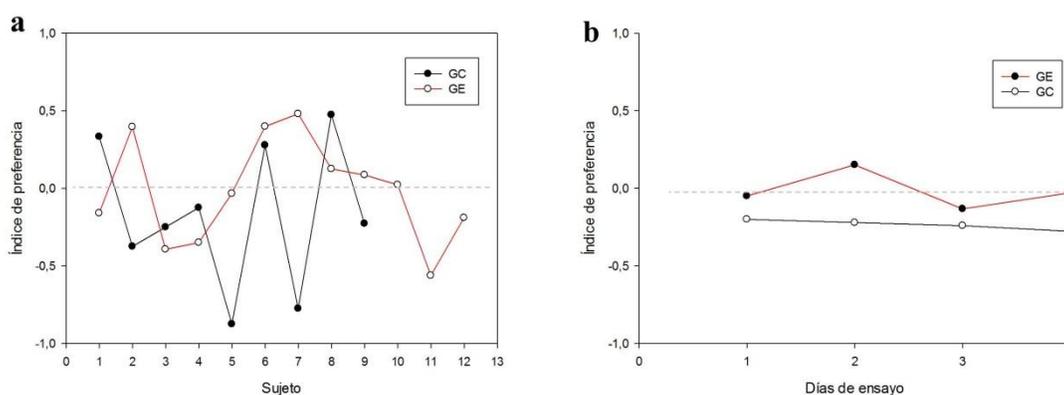
**Tabla 6-2.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable índice de memoria de trabajo.

Fuente de variación	DF	SS	MS	F	p
Grupo	1	0,181	0,181	1,972	0,176
Sujeto(Grupo)	19	1,742	0,0917		
Sesión	3	0,109	0,0362	1,203	0,317
Grupo x Sesión	3	0,0580	0,0193	0,643	0,590
Residual	57	1,714	0,0301		
Total	83	3,796	0,0457		

Nota: Factor A: grupo (GE; GC); Factor B: sesión (E1-E4). *DF* = grados de libertad; *SS* = sumatoria de cuadrados; *MS* = Media de cuadrados;  $p < 0.05$ .

### Índice de preferencia (*ip*)

En cuanto a los grupos, en ninguno se observó preferencia alguna por los brazos (figura 6-3a) encontrando que la falta de *wm* no se explicaría por un sesgo en la preferencia de los brazos, no se evidencia diferencia entre los sujetos (test de normalidad [*Shapiro-Wilk*]  $p = 0,561$ ) ( $t = 0,891$  (19);  $p = 0,384$ ; *IC* -0,211 to 0,524;  $\beta = 0,05$ ) ni entre los grupos a lo largo de los días (figura 6-3b).

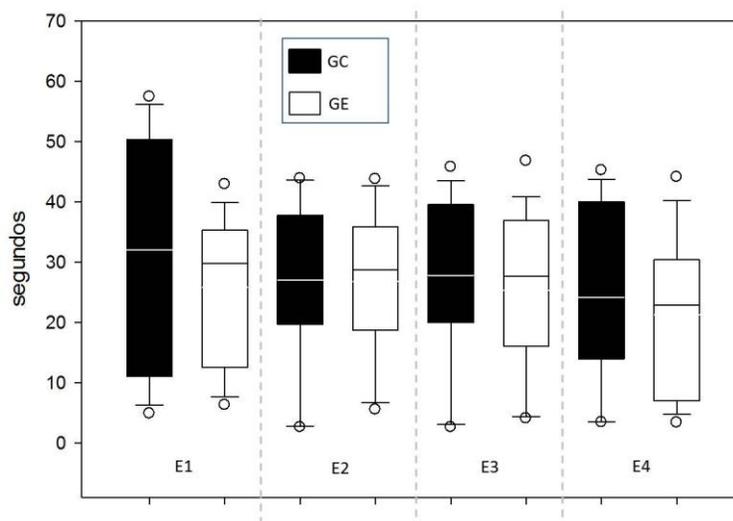


**Figura 6-3.** Índice de preferencia por alguna de las opciones. Valores cercanos a 1 indican preferencia por el lado derecho; valores cercanos a -1 indican preferencia por el lado izquierdo. a. Sujetos en cada uno de los grupos; b. sesiones comparado con grupos.

Se observa una tendencia extraña en los animales número 5 y 7 del grupo control ya que presentan una diferencia amplia en cuanto a la preferencia del brazo derecho. Cuando se revisan los registros propios de los animales, se encuentra una baja cantidad de respuestas y en uno solo de los brazos, lo que lleva a sesgar el índice en ese animal a lo largo de las sesiones.

*Tiempo de respuesta*

Con respecto al tiempo de respuesta se evaluó entre los grupos a lo largo de las 4 sesiones con el ánimo de complementar el indicador de velocidad en la toma de decisión y una posible relación con la memoria de trabajo (figura 6-4).



*Figura 6-4.* Tiempo de respuesta por sesiones (E1-E4) comparando los grupos. No se encontraron diferencias entre los grupos ni entre las sesiones.

Para analizar la diferencia se realizó una prueba de análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas, para comparar cada uno de los días de ensayo. Al compararse los grupos no se encontraron diferencias (tabla 6-3)

**Tabla 6-3.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable tiempo de respuesta.

Fuente de variación	DF	SS	MS	F	p
Grupo	1	177,551	177,551	0,252	0,621
Sujeto(Grupo)	19	3365,312	703,437		
Sesión	3	412,659	137,553	2,506	0,068
Grupo x Sesión	3	90,982	30,327	0,552	0,649
Residual	57	3128,824	54,892		
Total	83	17164,694	206,804		

Nota: Factor A: grupo (GE; GC); Factor B: sesión (E1-E4). *DF* = grados de libertad; *SS* = sumatoria de cuadrados; *MS* = Média de cuadrados;  $p < 0.05$ .

Para establecer la posible relación con la memoria de trabajo, se realizó una correlación entre los tiempos de respuesta y el índice de wm, se encontró que si existe una relación ( $r = -0.620$ ;  $p < 0.001$ ; Coeficiente de determinación = 38.44%) (figura 6-5).

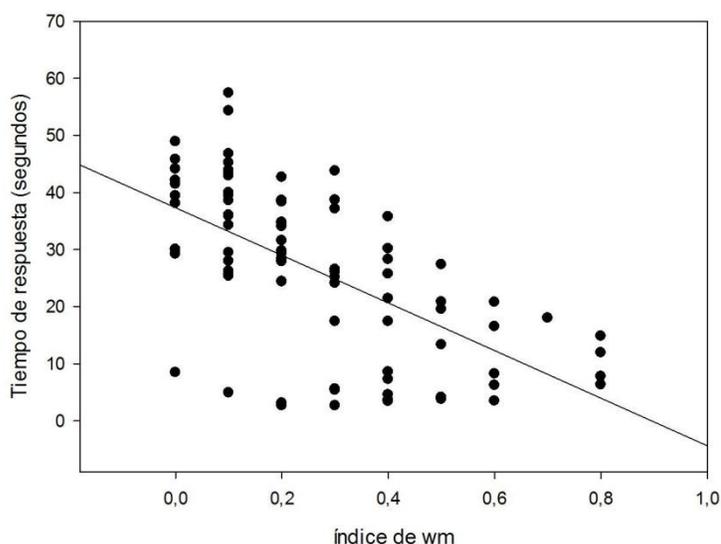


Figura 6-5. Diagrama de dispersión de los tiempos de respuesta (segundos) y el índice de wm.

#### Tiempo total de ensayo

Se realizó un análisis de los tiempos de ensayos, comparando los grupos y el tiempo a lo largo de los diferentes ensayos y como variable dependiente el tiempo total de ensayo. Se realizó un análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas (tabla 6-4).

**Tabla 6-4.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable tiempo de ensayo.

Fuente de variación	DF	SS	MS	F	p
Grupo	1	29.077	29.077	0.195	0.663
Sujeto(Grupo)	19	2826.122	148.743		
Sesión	3	316.732	105.577	1.241	0.303
Grupo x Sesión	3	33.634	11.211	0.132	0.941
Residual	57	4849.027	85.071		
Total	83	8090.192	97.472		

Nota: Factor A: grupo (GE; GC); Factor B: sesión (E1-E4).  $DF$  = grados de libertad;  $SS$  = sumatoria de cuadrados;  $MS$  = Media de cuadrados;  $p < 0.05$ .

Se puede observar que los tiempos de ensayo se distribuyen los grupos de forma homogénea a lo largo de los ensayos (figura 6-6).

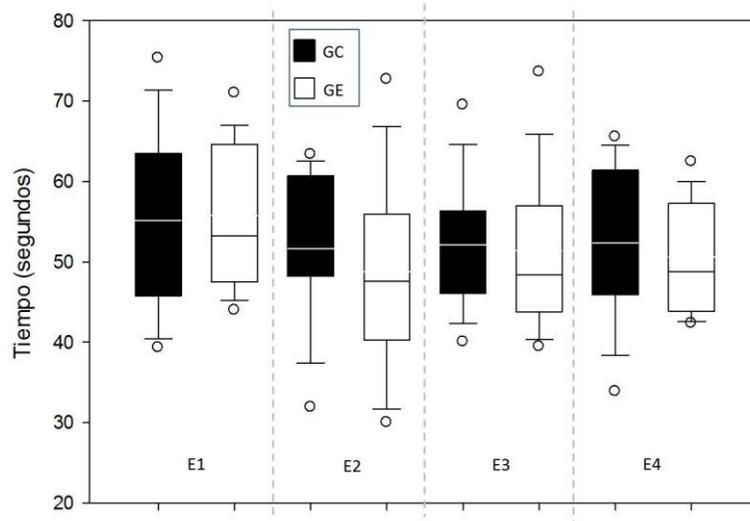


Figura 6-6. Tiempo de ensayo por sesiones (E1-E4) comparando los grupos. No se encontraron diferencias entre los grupos ni entre las sesiones.

### Comida

Al analizar la cantidad de alimento como una forma de motivación, tampoco se encuentran diferencias entre los grupos. Se puede observar en el análisis de varianza de dos factores.

**Tabla 6-5.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas para la variable cantidad de comida.

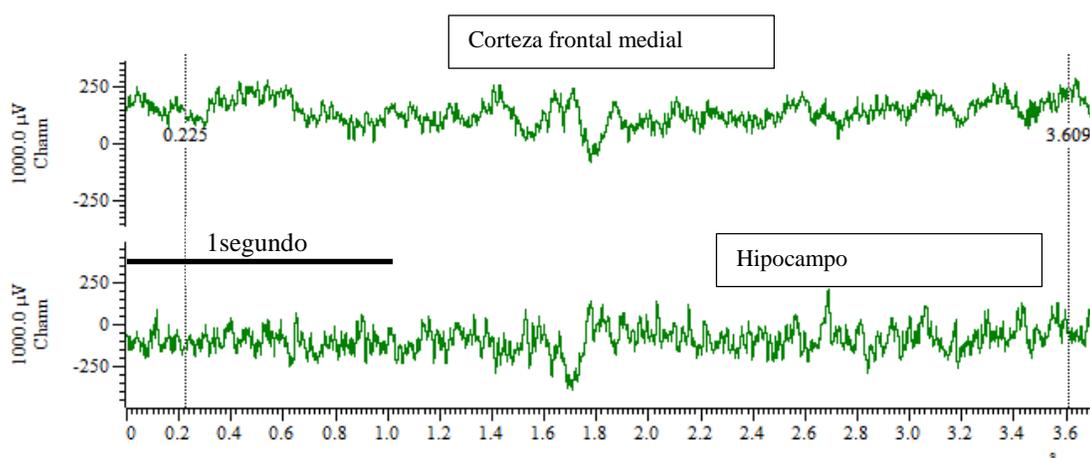
Source of Variation	DF	SS	MS	F	p
Grupo	1	397.509	397.509	0.122	0.731
Sujeto(Grupo)	19	62087.229	3267.749		
Sesión	3	799.130	266.377	1.475	0.231
Grupo x Sesión	3	202.130	67.377	0.373	0.773
Residual	57	10297.132	180.651		
Total	83	73745.238	888.497		

Nota: Factor A: grupo (GE; GC); Factor B: sesión (E1-E4). *DF* = grados de libertad; *SS* = sumatoria de cuadrados; *MS* = Media de cuadrados;  $p < 0.05$ .

### Registro electroencefalográfico

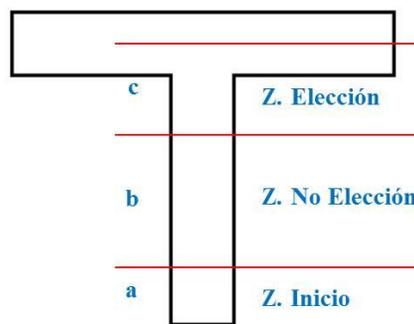
De los 10 (diez) animales que fueron seleccionados para la implantación de electrodos de forma bilateral, se obtuvieron 3 sujetos para este análisis. Esto, debido a que 5 de los 10 sujetos tuvieron complicaciones durante el procedimiento de implantación de electrodos y dos (2) sujetos adicionales se quitaron abruptamente el dispositivo implantado durante las sesiones de elección, lo que impidió llevar a cabo el análisis completo de las sesiones de elección y su inmediato retiro y sacrificio. A continuación y debido a la baja cantidad de individuos, se realizó un análisis para cada sujeto en cuanto a sus registros de campo.

Para este análisis se tomaron los días de elección (E1 a E4) y en cada uno se analizaron de los veinte (20) ensayos, cada uno de los ensayos en donde hubo elección de elección, se tomaron los dos (2) segundos antes de la toma de decisión en el laberinto y se realizó un análisis de coherencia para cada uno de los registros. A continuación se observa un análisis de uno de los individuos que muestra el histograma de frecuencias para los dos canales.



*Figura 6-7.* Electroencefalograma cortical e hipocampal de un sujeto experimental durante el momento de elección de uno de los brazos.

Una vez establecido el histograma de cada uno de los ensayos de elección se compararon con los mismos ensayos pero en dos (2) segundos donde no se dio el proceso de elección (figura 6-8). Finalmente se realizó un análisis de coherencia entre los canales de cada uno de los animales. A continuación una muestra de este análisis.



*Figura 6-8.* Representación de las zonas en el laberinto en T. Durante el análisis del registro eléctrico se comparó el registro del tiempo en la zona de elección versus la zona de No elección, de cada sujeto, en cada sesión (E1 a E4).

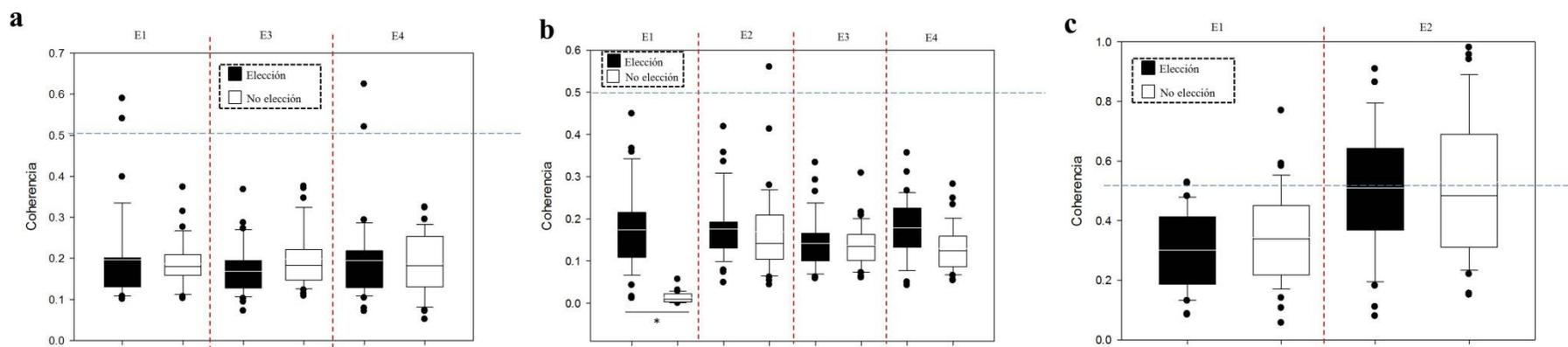
Para llevar a cabo esta comparación se realizó con la transformación Z de Fisher aplicada a los promedios de cada una de las zonas. Se realizó un ANOVA por rangos (Kruskal-Wallis) de un factor (E1 a E4) para comparar el promedio de coherencia intrasujeto en cada uno de los ensayos (tabla 6-6). Se muestra que no existe una diferencia en la comparación entre los registros de elección versus los registros de no elección del sujeto 1. En cuanto a la diferencia en el sujeto 2 (Exp 2) y Control (Cont) se reporta una diferencia en el análisis de varianza, pero cuando se realizaron las comparaciones, únicamente se tienen en cuenta aquellas en las que se compara la sesión de elección versus las de no elección del mismo ensayo (figura 6-9). No se tienen en cuenta otras comparaciones debido a que al ser un análisis que busca determinar fortaleza de coherencia al comparar dos momentos del registro no se consideró relevante el análisis de otros tipos de diferencia.

A pesar de ser una medida que podría ser un indicador de funcionamiento de las estructuras, debido a la baja cantidad de animales y, en tanto, no todos los animales realizaron elecciones en todos los ensayos posibles, no se evidencia un patrón claro que permita identificar una diferencia durante el proceso de elección versus el de no elección. La decisión de los periodos de elección y no elección se tomó con base en el sitio en laberinto donde se encontraba el animal. A pesar de que es un buen indicador, en tanto, la tarea es sencilla, esta medida podría no diferenciar claramente el proceso debido a que el animal podría decidir incluso en un lugar anterior a la zona de elección, pero no es posible determinarlo en este estudio.

**Tabla 6-6.** Comparación de los puntajes Z de coherencia en las sesiones de elección (E1 a E4). Se compararon en cada una los momentos de elección comparados con los registros de no elección.

Sujeto	Elección 1		No elección 1		Elección 2		No elección 2		Elección 3		No elección 3		Elección 4		No elección 4		ANOVA de rangos un factor	
	Z'Coher	SEM	Z'Coher	SEM		gl												
Exp 1	0.196	0.033	0.186	0.034	–	–	–	–	0.168	0.030	0.198	0.035	0.194	0.005	0.186	0.033	5	H = 4.559; p = 0.472
Exp 2	0.174	0.031	0.013	0.002	0.175	0.031	0.168	0.030	0.141	0.025	0.137	0.024	0.130	0.023	0.178	0.032	7	H = 89.643; p < 0.001
Cont 1	0.301	0.054	0.343	0.061	–	–	–	–	–	–	–	–	0.509	0.091	0.530	0.095	3	H = 23.557; p < 0.001

*Nota:* los valores representados en la columna Z Coher corresponden a la media junto con el error estándar (SEM). Análisis de varianza de Kruskal Wallis. Grados de libertad (gl). Grupo experimental (Exp); Grupo control (Cont).

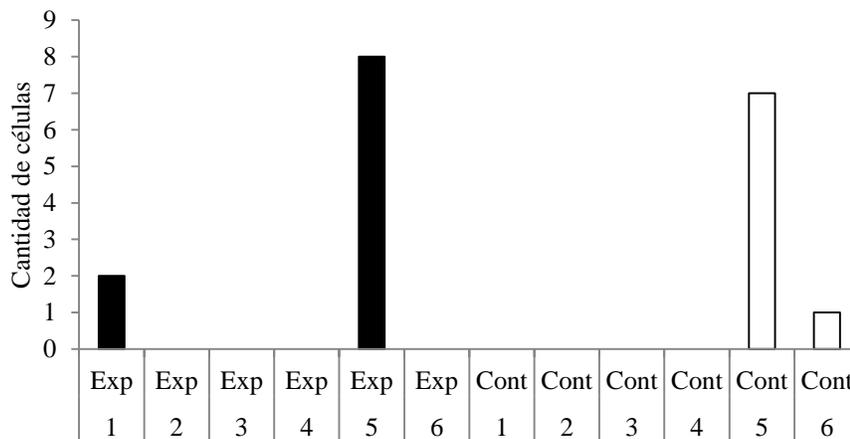


**Figura 6-9.** Comparación de las puntuaciones Z de los registros de corteza frontal medial e hipocampo en las sesiones de elección en cada sujeto. a. Sujeto 1 sin diferencia en los registros eléctricos de las zonas de elección y no elección. b. Sujeto 2 con diferencia ( $p < 0.01$ ) en la primera sesión de elección (E1) en los registros eléctricos de las zonas de elección y no elección. c. Sujeto 3 sin diferencia en los registros eléctricos de las zonas de elección y no elección. La línea azul en cada figura muestra el punto a partir del cual la coherencia se considera superior al azar.

No se realizó un análisis de los tipos de ondas ( $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$  y  $\gamma$ ) que más prevalecieron en cada uno de las sesiones de elección debido a la baja cantidad de animales de cada uno de los grupos. Sin embargo, se ha reportado que este análisis de coherencia puede ser un indicador de fortaleza en el funcionamiento de dos estructuras lo que podría considerarse relevante para futuras investigaciones.

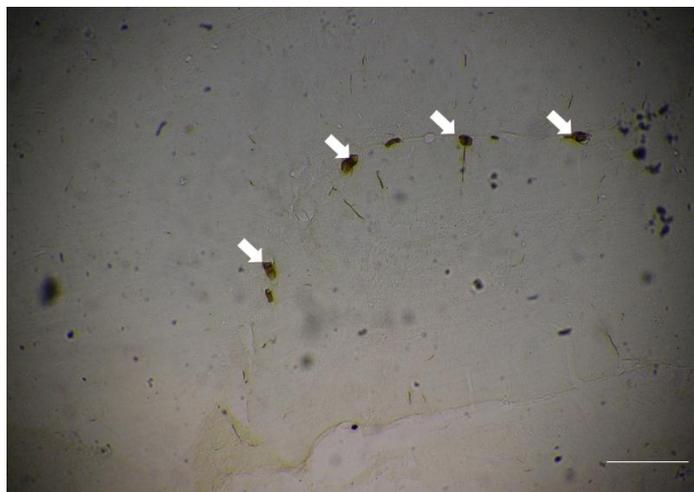
### *Análisis de neurogénesis*

Se realizó un proceso de inmunodetección en dos momentos, que se correspondieron con los dos grupos de animales. En un primer grupo y de acuerdo con lo reportado en el procedimiento de Inmunohistoquímica, no se encontró una expresión de las neuronas como se esperaba. La cantidad de individuos que presentaron nuevas neuronas fue muy escasa. A continuación los resultados obtenidos en cuanto a los sujetos.



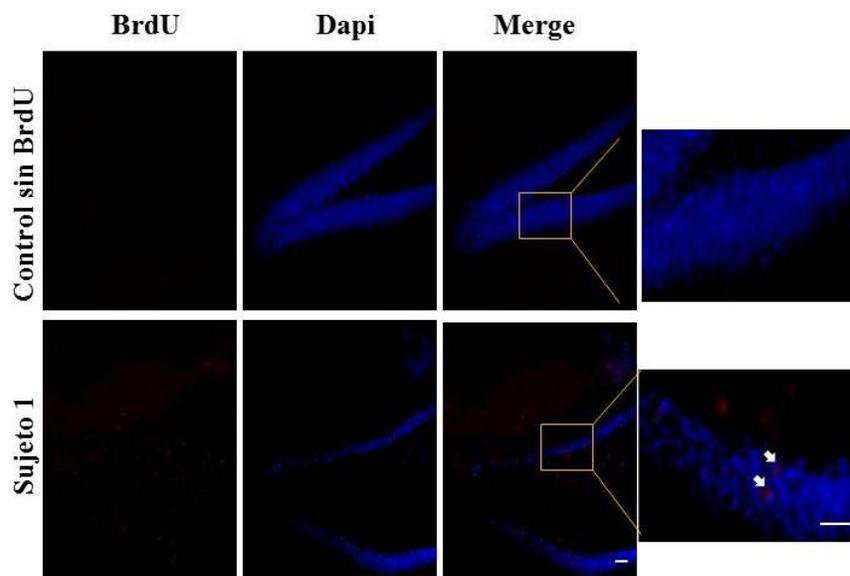
*Figura 6-10.* Cantidad de neuronas reactivas a BrdU en los grupos experimental y control. En el eje horizontal se encuentran los sujetos por grupo.

En la primera parte no se obtuvieron medidas por grupos debido a que la cantidad de marcaje por grupo no permitió comparar los resultados entre los animales como se observa en la figura 6-10. Únicamente se presentaron apariciones esporádicas de neuronas sin tener un número homogéneo de expresiones ni de cortes entre los sujetos. Esta diferencia en la cantidad de expresión y baja cantidad de neuronas pudo variar por dos grupos de factores. Por un lado, los procedimientos necesarios para la obtención de neuronas reactivas a BrdU pudieron ser un factor relevante. Por otro lado, las condiciones ambientales de los animales pudieron desencadenar una baja expresión de neuronas de forma similar entre los grupos.



*Figura 6-11.* Neurogénesis en el giro dentado inducida por el ejercicio. Diaminobencidina. Imagen representativa de animal del grupo control para inmunocitoquímica contra BrdU de animales. Flechas blancas células BrdU positivas. Barra 100 $\mu$ m.

En cuanto al segundo grupo de animales se realizó una inmunohistoquímica con un anticuerpo secundario fluorescente (figura 6-12). De la misma forma que en el primer grupo de animales, el protocolo de detección no permitió la identificación de neuronas por grupo.



*Figura 6-12.* Neurogénesis en el giro dentado inducida por el ejercicio. Inmunocitoquímicas representativas contra BrdU de animales no inyectados y animales del grupo experimental. Flechas blancas células BrdU positivas. Barras 10 y 20 $\mu$ m.

Si bien, la cantidad de neuronas en los grupos fue baja no es posible establecer que se deba a la variable del ejercicio o no la diferencia. De hecho la condición de ejercicio debería ser acompañada de otro tipo de marcadores celulares que permitan identificar la influencia o no del mismo en la expresión de nuevas neuronas. Así mismo, el mantenimiento de las condiciones controladas y la disminución en las condiciones ambientales que puedan desencadenar estrés, podría considerarse un aspecto clave para que pueda diferenciarse la cantidad de neuronas reportadas.

---

## 7. Discusión y recomendaciones

### 7.1 Discusión

Los resultados encontrados no permiten concluir que el ejercicio sea el fenómeno responsable de un comportamiento similar o no entre los grupos. Se han reportado efectos a favor y en contra del proceso de neurogénesis como mediador de fenómenos comportamentales (Chohan et al., 2011; Cotel et al., 2012; Johnson, Boonstra, & Wojtowicz, 2010; Niibori et al., 2012). Este fenómeno de neurogénesis al tener diferentes etapas lleva a que el análisis de la favorabilidad o no se dé teniendo en cuenta factores adicionales al proceso mismo de proliferación celular, como por ejemplo, migración, integración en circuitos nuevos y pre-establecidos y funcionalidad de las células (Aimone, Wiles, & Gage, 2009; Kee, Teixeira, Wang, & Frankland, 2007) o el control de estrés y enriquecimiento ambiental (Cotel et al., 2012; Korosi et al., 2012; Mahar et al., 2013; Mohammed et al., 2002; Nishijima et al., 2013). Si se toman en cuenta este tipo de variables, se sugiere que los eventos ambientales, las condiciones adversas y el que el ejercicio se haya realizado de forma forzada podrían ser variables que aumenten la carga de estrés en los animales, lo que se ha reportado como una variable que disminuye la cantidad de proliferación celular (Déry et al., 2013; Korosi et al., 2012).

En cuanto al ejercicio como variable que favorece el proceso de neurogénesis adulta ha sido ampliamente reportado en modelos animales (Ferreira et al., 2011; Hötting & Röder, 2013; Mustroph et al., 2012; Henriette van Praag, 2008). Sin embargo, el protocolo para la inducción de la misma puede variar en función de la definición de cada uno de los estudios (Mustroph et al., 2012; Uda et al., 2006), en este estudio, se tomó la definición de programa crónico con el ánimo de encontrarse en un rango promedio dentro de los programas usados e intentar asegurar no generar los efectos deletéreos del estrés debido al ejercicio forzado. Varios estudios han mostrado que al comparar los niveles de neurogénesis de ejercicio bajo la variable de ejercicio voluntario y ejercicio forzado se muestra que es menor en el caso del ejercicio forzado, probablemente debido al factor de estrés que genera esta condición (J. Jin et al., 2008; Ma, 2008; Nishijima et al., 2013).

Este factor de estrés podría explicar parte de la disminución en cuanto a la neurogénesis en el grupo que realizó ejercicio forzado, por otro lado, y con respecto al grupo control algunas características que se presentaron en el estudio fueron las condiciones particulares de los animales. Por un lado, algunas de las variables no se mantuvieron constantes por motivos ajenos al trabajo mismo, como luz y sonido. En cuanto a la luz se presentaron algunas intermitencias en la

exposición a la luz debido a que el sitio donde se alojaban los animales presentaba un alto flujo de personas y la luz dependía de este factor, así, el que existieran periodos irregulares de ciclo luz/oscuridad podría haber generado periodos de estrés que afectan como se ha reportado los niveles de proliferación y diferenciación en neurogénesis (Korosi et al., 2012; Leslie et al., 2011; McCormick et al., 2012). De la misma forma, las condiciones de ruido en la que estuvieron expuestos los animales podrían haber contribuido a la disminución del proceso de neurogénesis (Burn, 2008; Castelhana-Carlos & Baumans, 2009).

En este mismo sentido, pero cuando se da un favorecimiento de condiciones ambientales como el enriquecimiento se reporta que aumenta la cantidad de neurogénesis (Birch, McGarry, & Kelly, 2013; Rampon et al., 2000; Solinas, Thiriet, Chauvet, & Jaber, 2010). Si bien aumenta la cantidad de neuronas, también se reporta que no necesariamente podría verse reflejado este cambio a nivel comportamental. En un estudio realizado por Cotel et al., (2012) en el cual intentaban determinar si el enriquecimiento ambiental podría favorecer los procesos de recuperación neuronal en un modelo animal de Alzheimer, encuentran un cambio en algunas medidas celulares pero no muestran efectos benéficos a nivel de memoria de trabajo. En otro estudio en ratones Xu et al. (2011) intentaron determinar si el entrenamiento en tareas de memoria (de referencia o memoria de trabajo) podría tener un efecto sobre la cantidad de nuevas neuronas. Encontraron que los entrenamientos en estas tareas no tenían un efecto sobre la cantidad de neuronas reactivas a BrdU. Esto sugiere que si bien se presenta un fenómeno de aprendizaje y memoria no se presenta de forma equivalente un cambio en la cantidad de nuevas neuronas (Xu et al., 2011). De hecho, se ha reportado que algunos tipos de tareas que se utilizan en los estudios de memoria, pueden aumentar por sí mismo los niveles de estrés y esta característica, medida por nivel de hormonas a nivel periférico se constituye un factor para la disminución de la neurogénesis (Mohapel, Mundt-Petersen, Brundin, & Frielingsdorf, 2006). Esto indica que al asumir que los niveles de estrés son altos en el presente estudio, era de esperarse que no se presentara un aumento en la cantidad de nuevas neuronas y este resultado es congruente con los estudios que evalúan el papel del estrés sobre la neurogénesis.

Por otro lado, al intentar medir un constructo psicológico como la memoria de trabajo podría presentar algunas limitaciones en modelos animales debido a la diversidad de definición e instrumentos para su posterior medición (Dudchenko et al., 2013; Dudchenko, 2004a). La elección del instrumento se realizó teniendo en cuenta la simplicidad del protocolo y el reporte de efectividad en la literatura, estudios como éste deberían tener más de un instrumento para la medición de un mismo constructo con el fin de validar o contrastar las medidas.

---

La memoria de trabajo es un concepto que se ha relacionado con algunos procesos necesarios para llevar a cabo con éxito una determinada tarea (Ennaceur & Meliani, 1992; Romanides, Duffy, & Kalivas, 1999). Este concepto ha sido estudiado en modelos animales, llegando a establecer similitudes con procesos en humanos. De la misma forma, existe un funcionamiento análogo en modelos animales que ha permitido extrapolar parte de los hallazgos en estudios experimentales a los humanos (Narayanan, Cavanagh, Frank, & Laubach, 2013). Dudchenko (Dudchenko et al., 2013; Dudchenko, 2004b) señala que parte de las estructuras cerebrales fundamentales en la memoria de trabajo en roedores son el hipocampo y parte de la información del lóbulo temporal.

Así mismo, existen investigadores que relacionan el tema de memoria de trabajo y procesos análogos a estructuras frontales en ratas, por ejemplo, son ampliamente difundidos los estudios de elección y toma de decisiones en roedores bajo el control de las estructuras frontales mediales en roedores (Rushworth et al., 2004; Walton et al., 2002). En este estudio se asume que las capacidades de memoria de trabajo y el desempeño en laberinto en T están relacionadas con el funcionamiento de estructuras frontales mediales y el objetivo del trabajo estaba relacionado con intentar identificar parte de la relación estructural y funcional mediante el registro eléctrico y su posible relación con el comportamiento, pero, debido a que la cantidad de animales utilizados para relacionar el registro y los comportamientos fue mínima, no se logró identificar claramente este componente.

Las medidas de tiempo de respuesta, tiempo de ensayo y comida son variables que pueden ser indicadores de varios fenómenos que subyacen a los procesos de toma de decisión, memoria de trabajo, aprendizaje o motivación. No se presentaron resultados claros en torno a estos factores y requieren un aumento de la muestra y la cantidad de mediciones e instrumentos para evaluar el constructo objetivo.

En cuanto al registro electroencefalográfico y su relación con procesos cognitivos y comportamentales, se encontró que si bien se presentan algunos episodios en los cuales se sugiere una participación coherente de las estructuras, no es posible identificar tipos de ondas como un indicador del proceso de elección, como se ha reportado en otros estudios (Başar & Güntekin, 2008; Buzsáki & Wang, 2012; Chen et al., 2014; Roux & Uhlhaas, 2014). Debido a que no se contó con un número de sujetos importante en cada grupo es difícil poder extrapolar los resultados, esta falta de varios individuos a pesar de que es deseable, no siempre se encuentra en los estudios en los cuales se realizan procedimientos de registro fisiológico. Dentro de las razones para un bajo número de animales se encuentran aspectos éticos y de minimización de las condiciones de

incomodidad para los sujetos, ya que, debido a que los dispositivos con los que se cuenta requieren conectar en el animal una cantidad importante de cables que van en detrimento del bienestar de los sujetos.

En cuanto al registro de estructuras como el hipocampo y su papel en los procesos cognitivos, se encuentra que es posible identificar aspectos fisiológicos que indican la presencia de marcas que subyacen la elección (Buzsáki & Wang, 2012; Kanayama et al., 2009; Roux & Uhlhaas, 2014; Silvetti, Nuñez Castellar, Roger, & Verguts, 2014). Y al ser el registro de campo una medida más fácil de relacionar con cambios a nivel estructuras y cambios comportamentales, se constituye en una medida importante para poder identificar la participación en procesos como el aprendizaje y la memoria (Kitamura & Inokuchi, 2014; Kitamura et al., 2009). Es posible, mediante el análisis de coherencia entre las estructuras determinar que influencia cumplen las estructuras aun cuando no sea una medida de la necesidad o no de la estructura (Tort et al., 2008). A pesar de la baja cantidad de individuos se considera que si existe una consistencia en los registros y la tarea, es posible identificar dicho proceso como un indicador de la influencia mutua de las estructuras (Castro et al., 2014).

## **7.2 Recomendaciones**

Se recomienda para futuras investigaciones contar con más de un instrumento para la evaluación de los constructos o instrumentos que evalúen componentes relacionados con el tema de memoria de trabajo. En tema de variable y mediciones del constructo sería recomendable utilizar instrumentos que permitan aumentar las medidas comportamentales, así como mejorar el tamaño de la muestra.

Hay varios estudios que mencionan variables que también tienen que ver con un aumento de la neurogénesis, como el enriquecimiento ambiental o el uso de fármacos inhibidores de recaptación de serotonina (Encinas et al., 2006; Schloesser et al., 2010; Surget et al., 2011). Sumado a esto, programas de ejercicio voluntario podrían indicar que es necesario comparar varios programas para estimular o inhibir el proceso de neurogénesis y así determinar de forma más sencilla el efecto de la neurogénesis sobre la memoria de trabajo.

En cuanto al análisis histológico se requiere un mayor número de marcadores con el fin de identificar si el tipo de células y la edad de las mismas pueden correlacionarse con el programa establecido para tal fin.

En el registro electrofisiológico se encuentra que si bien son amplios los estudios que intentan relacionar marcas fisiológicas con eventos cognitivos o comportamentales, no se reportan estudios que muestren el papel de la coherencia entre activación de estructuras, siendo mediado por un proceso como la neurogénesis. Este aspecto mostraría que un abordaje más fisiológico ayudaría a ver la influencia de dos estructuras que se alteran por la incorporación de nuevas neuronas y que no necesariamente se sigue con comportamientos completos. Un posible análisis en este sentido, está dado por los análisis interhemisféricos en un mismo individuo y que podrían evidenciar un acoplamiento de áreas cerebrales que pueden ser un indicador del proceso cognitivo.

Esta anotación sugiere que, desde el punto de vista metodológico, la evaluación fisiológica a nivel funcional puede ser un indicador intermedio entre el fenómeno celular y el fenómeno comportamental y que no siempre presentan una correspondencia, por el contrario, es difícil tener un evento que se corresponda en los diferentes niveles de organización.



## 8. Referencias

- Abdallah, N. M. Ben, Slomianka, L., & Lipp, H.-P. (2007). Reversible Effect of X-Irradiation on Proliferation , Neurogenesis , and Cell Death in the Dentate Gyrus of Adult Mice. *Hippocampus*, *17*, 1230–1240. doi:10.1002/hipo
- Åberg, M. A. I., Åberg, N. D., Palmer, T. D., Alborn, A., Carlsson-skwirut, C., Bang, P., ... Eriksson, P. S. (2003). IGF-I has a direct proliferative effect in adult hippocampal progenitor cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *24*, 23– 40. doi:10.1016/S1044-7431(03)00082-4
- Aigner, S., Denli, A. M., & Gage, F. H. (2007). A Novel Model for an Older Remodeler : The BAF Swap in Neurogenesis. *Neuron*, *55*, 171–173. doi:10.1016/j.neuron.2007.07.004
- Aimone, J. B., Deng, W., & Gage, F. H. (2011). Resolving New Memories: A Critical Look at the Dentate Gyrus , Adult Neurogenesis , and Pattern Separation. *Neuron*, *70*(4), 589–596. doi:10.1016/j.neuron.2011.05.010
- Aimone, J. B., Wiles, J., & Gage, F. H. (2009). Viewpoint Computational Influence of Adult Neurogenesis on Memory Encoding. *Neuron*, *61*(2), 187–202. doi:10.1016/j.neuron.2008.11.026
- Akers, K. G., Kushner, S. A., Leslie, A. T., Clarke, L., Kooy, D. Van Der, Lerch, J. P., & Frankland, P. W. (2011). Fetal alcohol exposure leads to abnormal olfactory bulb development and impaired odor discrimination in adult mice. *Molecular Brain*, *4*(1), 29. doi:10.1186/1756-6606-4-29
- Akers, K. G., Sakaguchi, M., & Arruda-Carvalho, M. (2010). Functional contribution of adult-generated olfactory bulb interneurons: odor discrimination versus odor memory. *The Journal of Neuroscience*, *30*(13), 4523–4525. doi:10.1523/JNEUROSCI.0443-10.2010
- Altman, J., & Das, G. D. (1965). Autoradiographic and Histoloaical Evidence of Postnatal Hippocampal Neurogenesis in Rats. *The Journal of Comparative Neurology*, *124*(3), 319–335. doi:10.1002/cne.901240303
- Altman, J., & Das, G. D. (1966). Autoradiographic and Histological Studies o Postnatal Neurogenesis MIGRATION AND TRANSFORMATION OF CELLS NEONATE RATS , WITH SPECIAL REFERENCE. *The Journal of Comparative Neurology*, *126*(3), 337–389. doi:10.1002/cne.901260302
- Alvarez-Buylla, A., & Nottebohm, F. (1988). Migration of young neurons in adult avian brain. *Nature*, *335*(6188), 353–354. doi:10.1038/335353a0

- Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007a). *The Dentate Gyrus: A Comprehensive Guide to Structure, Function, and Clinical Implications. Progress in brain research* (Vol. 163, pp. 3–22). Elsevier. doi:10.1016/S0079-6123(07)63001-5
- Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007b). *The Dentate Gyrus: A Comprehensive Guide to Structure, Function, and Clinical Implications. Progress in brain research* (Vol. 163, pp. 3–22). Elsevier. doi:10.1016/S0079-6123(07)63001-5
- Amaral, D., & Lavenex, P. (2007). Hippocampal Neuroanatomy. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The Hippocampal Book* (pp. 37–114). New York: Oxford University Press.
- Amaral, P. P., Neyt, C., Wilkins, S. J., Askarian-Amiri, M. E., Sunkin, S. M., Perkins, A. C., & Mattick, J. S. (2009). Complex architecture and regulated expression of the Sox2 locus during vertebrate development. *RNA (New York, N.Y.)*, *15*(11), 2013–27. doi:10.1261/rna.1705309
- Anderson, M. L., Nokia, M. S., Govindaraju, K. P., & Shors, T. J. (2012). Moderate drinking? Alcohol consumption significantly decreases neurogenesis in the adult hippocampus. *Neuroscience*, *224*, 202–209. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.08.018
- Arruda-Carvalho, M., Sakaguchi, M., Akers, K. G., Josselyn, S. A., & Frankland, P. W. (2011). Posttraining Ablation of Adult-Generated Neurons Degrades Previously Acquired Memories. *The Journal of Neuroscience*, *31*(42), 15113–15127. doi:10.1523/JNEUROSCI.3432-11.2011
- Arvidsson, A., Kokaia, Z., & Lindvall, O. (2001). N-methyl-d-aspartate receptor-mediated increase of neurogenesis in adult rat dentate gyrus following stroke. *European Journal of Neuroscience*, *14*(1), 10–18. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01611.x
- Başar, E., & Güntekin, B. (2008). A review of brain oscillations in cognitive disorders and the role of neurotransmitters. *Brain Research*, *1235*, 172–93. doi:10.1016/j.brainres.2008.06.103
- Baskys, A., Bayazitov, I., Fang, L., Blaabjerg, M., Poulsen, F. R., & Zimmer, J. (2005). Group I metabotropic glutamate receptors reduce excitotoxic injury and may facilitate neurogenesis. *Neuropharmacology*, *49 Suppl 1*, 146–56. doi:10.1016/j.neuropharm.2005.04.029
- Bekenstein, J. W., & Lothman, E. W. (1991). A comparison of the ontogeny of excitatory and inhibitory neurotransmission in the CA1 region and dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Developmental Brain Research*, *63*, 237–243.
- Ben Abdallah, N. M. B., Slomianka, L., & Lipp, H. P. (2007). Reversible effect of X-irradiation on proliferation, neurogenesis, and cell death in the dentate gyrus of adult mice. *Hippocampus*, *17*, 1230–1240. doi:10.1002/hipo.20358
- Birch, A. M., McGarry, N. B., & Kelly, A. M. (2013). Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner. *Hippocampus*, *23*(6), 437–50. doi:10.1002/hipo.22103

- Bramham, C. R., Alme, M. N., Bittins, M., Kuipers, S. D., Nair, R. R., Pai, B., ... Wibrand, K. (2010). The Arc of synaptic memory. *Experimental Brain Research*, *200*, 125–140. doi:10.1007/s00221-009-1959-2
- Bressler, S. L., Coppola, R., & Nakamura, R. (1993). Episodic multiregional cortical coherence at multiple frequencies during visual task performance. *Nature*, *366*(6451), 153–6. doi:10.1038/366153a0
- Brunel, N., & Wang, X. J. (2001). Effects of neuromodulation in a cortical network model of object working memory dominated by recurrent inhibition. *Journal of Computational Neuroscience*, *11*(1), 63–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11524578>
- Buhl, E., & Whittington, M. (2007). Local circuits. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The Hippocampal Book* (pp. 297 – 320). New York: Oxford University Press.
- Bullock, T. H., Mcclune, M. C., & Enright, J. T. (2003). Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. *Neuroscience*, *121*(1), 233–52. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12946714>
- Burn, C. C. (2008). What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, *112*(1-2), 1–32. doi:10.1016/j.applanim.2008.02.007
- Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, *35*, 203–25. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150444
- Cancino, G. I., Yiu, A. P., Fatt, M. P., Dugani, C. B., Flores, E. R., Frankland, P. W., ... Kaplan, D. R. (2013). p63 Regulates adult neural precursor and newly born neuron survival to control hippocampal-dependent Behavior. *The Journal of Neuroscience*, *33*(31), 12569–12585. doi:10.1523/JNEUROSCI.1251-13.2013
- Castelhano-Carlos, M. J., & Baumans, V. (2009). The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Laboratory Animals*, *43*(4), 311–27. doi:10.1258/la.2009.0080098
- Castilla-Ortega, E., Pedraza, C., Estiyill-Torres, G., & Santin, L. J. (2011). When is adult hippocampal neurogenesis necessary for learning? Evidence from animal research. *Reviews in the Neurosciences*, *22*, 267–283. doi:10.1515/rns.2011.027
- Castro, S., Cavelli, M., Vollono, P., Chase, M. H., Falconi, A., & Torterolo, P. (2014). Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. *Neuroscience Letters*, *578*, 197–202. doi:10.1016/j.neulet.2014.06.044
- Chen, C.-M. A., Stanford, A. D., Mao, X., Abi-Dargham, A., Shungu, D. C., Lisanby, S. H., ... Kegeles, L. S. (2014). GABA level, gamma oscillation, and working memory performance in schizophrenia. *NeuroImage. Clinical*, *4*, 531–9. doi:10.1016/j.nicl.2014.03.007

- Chohan, M. O., Li, B., Blanchard, J., Tung, Y.-C., Heaney, A. T., Rabe, A., ... Grundke-Iqbal, I. (2011). Enhancement of dentate gyrus neurogenesis, dendritic and synaptic plasticity and memory by a neurotrophic peptide. *Neurobiology of Aging*, *32*(8), 1420–34. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.08.008
- Clark, P. J., Brzezinska, W. J., Thomas, M. W., Ryzhenko, N. A., Toshkov, S. A., & Rhodes, J. S. (2008). Intact neurogenesis is required for benefits of exercise on spatial memory but not motor performance or contextual fear conditioning in C57BL/6J mice. *Neuroscience*, *155*, 1048–1058. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.06.051
- Clelland, C. D., Choi, M., Clemenson Jr, G. D., Fragniere, A., Tyers, P., Jessberger, S., ... Bussey, T. (2010). Neurogenesis in Spatial Pattern Separation A Functional Role for Adult Hippocampal. *Science*, *325*, 210–213. doi:10.1126/science.1173215
- Clelland, C. D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G. D., Fragniere, a, Tyers, P., ... Bussey, T. J. (2009a). A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science (New York, N.Y.)*, *325*(5937), 210–3. doi:10.1126/science.1173215
- Clelland, C. D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G. D., Fragniere, a, Tyers, P., ... Bussey, T. J. (2009b). A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science (New York, N.Y.)*, *325*(5937), 210–3. doi:10.1126/science.1173215
- Colucci-D'Amato, L., Bonavita, V., & di Porzio, U. (2006). The end of the central dogma of neurobiology: stem cells and neurogenesis in adult CNS. *Neurological Sciences*, *27*(4), 266–270. doi:10.1007/s10072-006-0682-z
- Cooper, J., Bloom, F., & Roth, R. H. (2003). Serotonin (5-Hydroxytryptamine), Histamine, and Adenosine. In *The Biochemical Basis of Neuropharmacology* (Eighth., pp. 271–320). New York: Oxford University Press.
- Cotel, M. C., Jawhar, S., Christensen, D. Z., Bayer, T. A., & Wirths, O. (2012). Environmental enrichment fails to rescue working memory deficits, neuron loss, and neurogenesis in APP/PS1KI mice. *Neurobiology of Aging*, *33*, 96–107. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.012
- Cotman, C. W., & Berchtold, N. C. (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neurosciences*, *25*(6), 295–301. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223602021434>
- Darsalia, V., Heldmann, U., Lindvall, O., & Kokaia, Z. (2005). Stroke-Induced Neurogenesis in Aged Brain. *Stroke*, *36*, 1790–1795. doi:10.1161/01.STR.0000173151.36031.be
- Day, J. E., Kyriazakis, I., & Rogers, P. J. (1998). Food choice and intake: towards a unifying framework of learning and feeding motivation. *Nutrition Research Reviews*, *11*(1), 25–43. doi:10.1079/NRR19980004
- Day, J. J., & Sweatt, J. D. (2010). DNA methylation and memory formation. *Nature Neuroscience*, *13*, 1319–1323. doi:10.1038/nn.2666

- Dazzi, L., Matzeu, A., & Biggio, G. (2011). Role of ionotropic glutamate receptors in the regulation of hippocampal norepinephrine output in vivo. *Brain Research, 1386*, 41–9. doi:10.1016/j.brainres.2011.02.065
- De Saint Blanquat, P., Hok, V., Alvernhe, A., Save, E., & Poucet, B. (2010). Tagging items in spatial working memory: a unit-recording study in the rat medial prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research, 209*(2), 267–73. doi:10.1016/j.bbr.2010.02.004
- Deacon, R. M. J., & Rawlins, J. N. P. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols, 1*(1), 7–12. doi:10.1038/nprot.2006.2
- Del Arco, A., Segovia, G., Garrido, P., de Blas, M., & Mora, F. (2007). Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research, 176*(2), 267–273. doi:10.1016/j.bbr.2006.10.006
- Deng, W., Aimone, J. B., & Gage, F. H. (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature Reviews. Neuroscience, 11*(5), 339–50. doi:10.1038/nrn2822
- Déry, N., Pilgrim, M., Gibala, M., Gillen, J., Wojtowicz, J. M., Macqueen, G., & Becker, S. (2013). Adult hippocampal neurogenesis reduces memory interference in humans: opposing effects of aerobic exercise and depression. *Frontiers in Neuroscience, 7*, 66. doi:10.3389/fnins.2013.00066
- Dityatev, A., Dityateva, G., Sytnyk, V., Delling, M., Toni, N., Nikonenko, I., ... Schachner, M. (2004). Polysialylated neural cell adhesion molecule promotes remodeling and formation of hippocampal synapses. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience, 24*(42), 9372–82. doi:10.1523/JNEUROSCI.1702-04.2004
- Dix, S. L., & Aggleton, J. P. (1999). Extending the spontaneous preference test of recognition: evidence of object-location and object-context recognition. *Behavioural Brain Research, 99*(2), 191–200. doi:10.1016/S0166-4328(98)00079-5
- Drapeau, E., Mayo, W., Aourousseau, C., Le Moal, M., Piazza, P.-V., & Abrous, D. N. (2003). Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 100*(24), 14385–14390. doi:10.1073/pnas.2334169100
- Dudchenko, P. A. (2004a). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience, 28*, 699–709. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.09.002
- Dudchenko, P. A. (2004b). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 28*(7), 699–709. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.09.002

- Dudchenko, P. A., Talpos, J., Young, J., & Baxter, M. G. (2013). Animal models of working memory: a review of tasks that might be used in screening drug treatments for the memory impairments found in schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *37*(9 Pt B), 2111–24. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.03.003
- Encinas, J. M., Vaahtokari, A., & Enikolopov, G. (2006). Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(21), 8233–8. doi:10.1073/pnas.0601992103
- Ennaceur, A., & Meliani, K. (1992). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. *Behavioural Brain Research*, *51*(1), 83–92. doi:10.1016/S0166-4328(05)80315-8
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, a M., Nordborg, C., Peterson, D. a, & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*, *4*(11), 1313–7. doi:10.1038/3305
- Farrar, C. E., Huang, C. S., Clarke, S. G., & Houser, C. R. (2005). Increased cell proliferation and granule cell number in the dentate gyrus of protein repair-deficient mice. *The Journal of Comparative Neurology*, *493*(4), 524–37. doi:10.1002/cne.20780
- Ferreira, A. F. B., Real, C. C., Rodrigues, A. C., Alves, A. S., & Britto, L. R. G. (2011). Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, bdnf-independent hippocampal plasticity. *Brain Research*, *1425*, 111–122. doi:10.1016/j.brainres.2011.10.004
- Fishman, K., Baure, J., Zou, Y., Huang, T.-T., Andres-Mach, M., Rola, R., ... Fike, J. R. (2009). Radiation-induced reductions in neurogenesis are ameliorated in mice deficient in CuZnSOD or MnSOD. *Free Radical Biology & Medicine*, *47*(10), 1459–67. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.08.016
- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*(2), 119–130. doi:10.1038/nrn1607
- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2006). Fast track to the medial prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(3), 509–510. doi:10.1073/pnas.0510133103
- Frankland, P. W., Ding, H.-K., Takahashi, E., Suzuki, A., Kida, S., & Silva, A. J. (2006). Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learning & Memory*, *13*(4), 451–457. doi:10.1101/lm.183406
- Frankland, P. W., & Josselyn, S. A. (2013). Memory and the single molecule. *Nature*, *493*, 312–313.
- Frankland, P. W., Köhler, S., & Josselyn, S. a. (2013a). Hippocampal neurogenesis and forgetting. *Trends in Neurosciences*, *36*(9), 497–503. doi:10.1016/j.tins.2013.05.002

- Frankland, P. W., Köhler, S., & Josselyn, S. A. (2013b). Hippocampal neurogenesis and forgetting. *Trends in Neurosciences*, *36*(9), 497–503. doi:10.1016/j.tins.2013.05.002
- Frankland, P. W., & Miller, F. D. (2008). Regenerating your senses: multiple roles for neurogenesis in the adult brain. *Nature Neuroscience*, *11*(10), 1124–1126. doi:10.1038/nn1008-1124
- Fujioka, A., Fujioka, T., Tsuruta, R., Izumi, T., Kasaoka, S., & Maekawa, T. (2011). Effects of a constant light environment on hippocampal neurogenesis and memory in mice. *Neuroscience Letters*, *488*, 41–44. doi:10.1016/j.neulet.2010.11.001
- García, M., León, L., & Cardenas, F. P. (2009). Redundancia de la información visual en el condicionamiento aversivo: papel del Colículo Superior. *Suma Psicológica*, *16*(1), 9–17.
- Gilmour, G., Arguello, A., Bari, A., Brown, V. J., Carter, C., Floresco, S. B., ... Robbins, T. W. (2013). Measuring the construct of executive control in schizophrenia: defining and validating translational animal paradigms for discovery research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *37*(9 Pt B), 2125–40. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.04.006
- Glasper, E. R., & Gould, E. (2013). Sexual experience restores age-related decline in adult neurogenesis and hippocampal function. *Hippocampus*, *312*, n/a–n/a. doi:10.1002/hipo.22090
- Goldman, S. A., & Luskin, M. B. (1998). Strategies utilized by migrating neurons of the postnatal vertebrate forebrain. *Trends in Neurosciences*, *21*(3), 107–113. doi:10.1016/S0166-2236(97)01191-0
- Goodman, T., Trouche, S., Massou, I., Verret, L., Zerwas, M., Rouillet, P., & Rampon, C. (2010). Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience*, *171*(3), 769–78. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.09.047
- Gould, E. (2007a). How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nature Reviews Neuroscience*, *8*(6), 481–488. doi:10.1038/nrn2147
- Gould, E. (2007b). Structural plasticity. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The Hippocampal Book*. New York: Oxford University Press.
- Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. J. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience*, *2*(3), 260–5. doi:10.1038/6365
- Gould, E., Vail, N., Wagers, M., & Gross, C. G. (2001). Adult-generated hippocampal and neocortical neurons in macaques have a transient existence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*, 10910–10917. doi:10.1073/pnas.181354698

- Grassi Zucconi, G., Cipriani, S., Balgkouranidou, I., & Scattoni, R. (2006). "One night" sleep deprivation stimulates hippocampal neurogenesis. *Brain Research Bulletin*, *69*(4), 375–81. doi:10.1016/j.brainresbull.2006.01.009
- Groblewski, P. a, Ryabinin, A. E., & Cunningham, C. L. (2012). Activation and role of the medial prefrontal cortex (mPFC) in extinction of ethanol-induced associative learning in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, *97*(1), 37–46. doi:10.1016/j.nlm.2011.09.001
- Hairston, I. S., Little, M. T. M., Scanlon, M. D., Barakat, M. T., Palmer, T. D., Sapolsky, R. M., & Heller, H. C. (2005). Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. *Journal of Neurophysiology*, *94*, 4224–4233. doi:10.1152/jn.00218.2005
- Halas, E. S., Burger, P. A., & Sandstead, H. H. (1980). Food motivation of rehabilitated malnourished rats: Implications for learning studies. *Animal Learning & Behavior*, *8*(1), 152–158. doi:10.3758/BF03209743
- Hanson, J. L., Chung, M. K., Avants, B. B., Rudolph, K. D., Shirtcliff, E. A., Gee, J. C., ... Pollak, S. D. (2012). Structural Variations in Prefrontal Cortex Mediate the Relationship between Early Childhood Stress and Spatial Working Memory. *Journal of Neuroscience*, *32*, 7917–7925. doi:10.1523/jneurosci.0307-12.2012
- Hawrylycz, M. J., Lein, E. S., Guillozet-Bongaarts, A. L., Shen, E. H., Ng, L., Miller, J. a, ... Jones, A. R. (2012). An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature*, *489*(7416), 391–9. doi:10.1038/nature11405
- Heidbreder, C. a, & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *27*(6), 555–579. doi:10.1016/j.neubiorev.2003.09.003
- Hernández-Rabaza, V., Llorens-Martín, M., Velázquez-Sánchez, C., Ferragud, a, Arcusa, a, Gumus, H. G., ... Canales, J. J. (2009). Inhibition of adult hippocampal neurogenesis disrupts contextual learning but spares spatial working memory, long-term conditional rule retention and spatial reversal. *Neuroscience*, *159*(1), 59–68. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.11.054
- Hötting, K., & Röder, B. (2013). Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.04.005
- Huang, T.-T., Zou, Y., & Corniola, R. (2012). Oxidative stress and adult neurogenesis--effects of radiation and superoxide dismutase deficiency. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *23*(7), 738–44. doi:10.1016/j.semcdb.2012.04.003
- Im, S. H., Yu, J. H., Park, E. S., Lee, J. E., Kim, H. O., Park, K. I., ... Cho, S.-R. (2010). Induction of striatal neurogenesis enhances functional recovery in an adult animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Neuroscience*, *169*(1), 259–68. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.04.038

- Jacobs, B. L. (2002). Adult brain neurogenesis and depression. *Brain Behavior and Immunity*, *16*, 602–609. doi:10.1016/s0889-1591(02)00015-6
- Jedynak, P., Jaholkowski, P., Wozniak, G., Sandi, C., Kaczmarek, L., & Filipkowski, R. K. (2012). Lack of cyclin D2 impairing adult brain neurogenesis alters hippocampal-dependent behavioral tasks without reducing learning ability. *Behavioural Brain Research*, *227*, 159–166. doi:10.1016/j.bbr.2011.11.007
- Jiang, W., Gu, W., Brannstrom, T., Rosqvist, R., & Wester, P. (2001). Cortical Neurogenesis in Adult Rats After Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. *Stroke*, *32*(5), 1201–1207. doi:10.1161/01.STR.32.5.1201
- Jiang, W., Wolfe, K., Xiao, L., Zhang, Z.-J., Huang, Y.-G., & Zhang, X. (2004). Iontropic glutamate receptor antagonists inhibit the proliferation of granule cell precursors in the adult brain after seizures induced by pentylentetrazol. *Brain Research*, *1020*(1-2), 154–60. doi:10.1016/j.brainres.2004.06.028
- Jin, J., Jing, H., Choi, G., Oh, M. S., Ryu, J. H., Jeong, J.-W., ... Park, C. (2008). Voluntary exercise increases the new cell formation in the hippocampus of ovariectomized mice. *Neuroscience Letters*, *439*(3), 260–263. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.04.103
- Jin, K., Wang, X., Xie, L., Mao, X. O., Zhu, W., Wang, Y., ... Greenberg, D. a. (2006). Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(35), 13198–202. doi:10.1073/pnas.0603512103
- Johnson, K. M., Boonstra, R., & Wojtowicz, J. M. (2010). Hippocampal neurogenesis in food-storing red squirrels: the impact of age and spatial behavior. *Genes, Brain, and Behavior*, *9*(6), 583–91. doi:10.1111/j.1601-183X.2010.00589.x
- Jones, M. W., & Wilson, M. a. (2005). Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biology*, *3*(12), e402. doi:10.1371/journal.pbio.0030402
- Kanai, M., Funakoshi, H., Takahashi, H., Hayakawa, T., Mizuno, S., Matsumoto, K., & Nakamura, T. (2009). Tryptophan 2,3-dioxygenase is a key modulator of physiological neurogenesis and anxiety-related behavior in mice. *Molecular Brain*, *2*, 8. doi:10.1186/1756-6606-2-8
- Kanayama, N., Sato, A., & Ohira, H. (2009). The role of gamma band oscillations and synchrony on rubber hand illusion and crossmodal integration. *Brain and Cognition*, *69*(1), 19–29. doi:10.1016/j.bandc.2008.05.001
- Kaplan, M., & Hinds, J. (1977). Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science*, *197*(4308), 1092–1094. doi:10.1126/science.887941
- Kee, N., Teixeira, C. M., Wang, A. H., & Frankland, P. W. (2007). Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nature Neuroscience*, *10*(3), 355–62. doi:10.1038/nn1847

- Kim, S., Jang, B.-S., Jung, U., & Jo, S.-K. (2011). Gamma-irradiation is more efficient at depleting hippocampal neurogenesis than D-galactose/NaNO<sub>2</sub>. *Neuroscience Letters*, *498*(1), 47–51. doi:10.1016/j.neulet.2011.04.059
- Kim, S.-H., Kim, H.-B., Jang, M.-H., Lim, B.-V., Kim, Y.-J., Kim, Y.-P., ... Kim, C.-J. (2002). Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. *Life Sciences*, *71*(11), 1331–1340. doi:10.1016/S0024-3205(02)01849-0
- Kimura, T., Nguyen, P. T. H., Ho, S. A., Tran, A. H., Ono, T., & Nishijo, H. (2009). T-817MA, a neurotrophic agent, ameliorates the deficits in adult neurogenesis and spatial memory in rats infused i.c.v. with amyloid-beta peptide. *British Journal of Pharmacology*, *157*, 451–463. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00141.x
- Kitamura, T., & Inokuchi, K. (2014). Role of adult neurogenesis in hippocampal-cortical memory consolidation. *Molecular Brain*, *7*(1), 13. doi:10.1186/1756-6606-7-13
- Kitamura, T., Saitoh, Y., Takashima, N., Murayama, A., Niibori, Y., Ageta, H., ... Inokuchi, K. (2009). Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell*, *139*(4), 814–27. doi:10.1016/j.cell.2009.10.020
- Kodama, M., Satoh, Y., Otsubo, Y., Araki, Y., Yonamine, R., Masui, K., & Kazama, T. (2011). Neonatal Desflurane Exposure Induces More Robust Neuroapoptosis than Do Isoflurane and Sevoflurane and Impairs Working Memory. *Anesthesiology*, *115*, 979–991. doi:10.1097/ALN.0b013e318234228b
- Koehl, M., & Abrous, D. N. (2011). A new chapter in the field of memory: adult hippocampal neurogenesis. *European Journal of Neuroscience*, *33*, 1101–1114. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07609.x
- Korosi, a, Naninck, E. F. G., Oomen, C. a, Schouten, M., Krugers, H., Fitzsimons, C., & Lucassen, P. J. (2012). Early-life stress mediated modulation of adult neurogenesis and behavior. *Behavioural Brain Research*, *227*(2), 400–9. doi:10.1016/j.bbr.2011.07.037
- Kriegstein, A., & Alvarez-Buylla, A. (2009). The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annual Review of Neuroscience*, *32*, 149–84. doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135600
- Lee, I., & Solivan, F. (2008). The roles of the medial prefrontal cortex and hippocampus in a spatial paired-association task. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *15*(5), 357–67. doi:10.1101/lm.902708
- Leslie, A. T., Akers, K. G., Krakowski, A. D., Stone, S. S. D., Sakaguchi, M., Arruda-Carvalho, M., & Frankland, P. W. (2011). Impact of early adverse experience on complexity of adult-generated neurons. *Translational Psychiatry*, *1*(8), e35. doi:10.1038/tp.2011.38
- Leung, L.-Y., Tong, K.-Y., Zhang, S.-M., Zeng, X.-H., Zhang, K.-P., & Zheng, X.-X. (2006). Neurochemical effects of exercise and neuromuscular electrical stimulation on brain after

- stroke: a microdialysis study using rat model. *Neuroscience Letters*, 397(1-2), 135–9. doi:10.1016/j.neulet.2005.12.006
- Levin, E. D. (2001). Use of the Radial-Arm Maze to Assess Learning and Memory in Rodents. In Jerry Buccafusco (Ed.), *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience* (pp. 182–192). Florida: CRC Press LLC.
- Li, Y.-Q., Aubert, I., & Wong, C. S. (2010). Abrogation of early apoptosis does not alter late inhibition of hippocampal neurogenesis after irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 77(4), 1213–22. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.01.015
- Lim, D. A., & Alvarez-Buylla, A. (1999). Interaction between astrocytes and adult subventricular zone precursors stimulates neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(13), 7526–31.
- Lipska, B. K. (2004). Using animal models to test a neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. In *CRSN Symposium : Focus on Schizophrenia Symposium du CRSN : le point sur la schizophrénie* (Vol. 29, pp. 282–286).
- Lledo, P.-M., Alonso, M., & Grubb, M. S. (2006). Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(3), 179–93. doi:10.1038/nrn1867
- Louissaint Jr., A., Rao, S., Leventhal, C., & Goldman, S. A. (2002). Coordinated Interaction of Neurogenesis and Angiogenesis in the Adult Songbird Brain. *Neuron*, 34(6), 945–960. doi:10.1016/S0896-6273(02)00722-5
- Lucassen, P. J., Naninck, E. F. G., van Goudoever, J. B., Fitzsimons, C., Joels, M., & Korosi, A. (2013). Perinatal programming of adult hippocampal structure and function; emerging roles of stress, nutrition and epigenetics. *Trends in Neurosciences*, 36(11), 621–31. doi:10.1016/j.tins.2013.08.002
- Luu, P., Sill, O. C., Gao, L., Becker, S., Wojtowicz, J. M., & Smith, D. M. (n.d.). The role of adult hippocampal neurogenesis in reducing interference. Retrieved from <http://psycnet.apa.orgjournals/bne/126/3/381>
- Ma, Q. (2008). Beneficial effects of moderate voluntary physical exercise and its biological mechanisms on brain health. *Neuroscience Bulletin*, 24(4), 265–70. doi:10.1007/s12264-008-0402-1
- Maei, H. R., Zaslavsky, K., Teixeira, C. M., & Frankland, P. W. (2009). What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 3, 1–9. doi:10.3389/neuro.07
- Mahar, I., Bambico, F. R., Mechawar, N., & Nobrega, J. N. (2013). Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 38, 173–192. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.11.009

- Manda, K., & Reiter, R. J. (2010). Melatonin maintains adult hippocampal neurogenesis and cognitive functions after irradiation. *Progress in Neurobiology*, *90*(1), 60–8. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.10.019
- Manning, E. E., Ransome, M. I., Burrows, E. L., & Hannan, A. J. (2012). Increased adult hippocampal neurogenesis and abnormal migration of adult-born granule neurons is associated with hippocampal-specific cognitive deficits in phospholipase C- $\alpha$ 1 knockout mice. *Hippocampus*, *22*, 309–319. doi:10.1002/hipo.20900
- Martinez-Canabal, A., Akers, K. G., Josselyn, S. A., & Frankland, P. W. (2013). Age-Dependent Effects of Hippocampal Neurogenesis Suppression on Spatial Learning. *Hippocampus*, *23*, 66–74. doi:10.1002/hipo.22054
- Masuoka, T., Fujii, Y., & Kamei, C. (2006). Participation of the hippocampal theta rhythm in memory formation for an eight-arm radial maze task in rats. *Brain Research*, *1103*(1), 159–63. doi:10.1016/j.brainres.2006.04.003
- McCormick, C. M., Thomas, C. M., Sheridan, C. S., Nixon, F., Flynn, J. A., & Mathews, I. Z. (2012). Social instability stress in adolescent male rats alters hippocampal neurogenesis and produces deficits in spatial location memory in adulthood. *Hippocampus*, *22*, 1300–1312. doi:10.1002/hipo.20966
- Méndez-López, M., Méndez, M., López, L., & Arias, J. L. (2009). Spatial working memory in Wistar rats: brain sex differences in metabolic activity. *Brain Research Bulletin*, *79*(3-4), 187–92. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.02.007
- Meyer, U., Knuesel, I., Nyffeler, M., & Feldon, J. (2010). Chronic clozapine treatment improves prenatal infection-induced working memory deficits without influencing adult hippocampal neurogenesis. *Psychopharmacology*, *208*(4), 531–43. doi:10.1007/s00213-009-1754-6
- Ming, G., & Song, H. (2005). Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annual Review of Neuroscience*, *28*, 223–250. doi:10.1146/annurev.neuro.28.051804.101459
- Mohammed, A. H., Zhu, S. W., Darmopil, S., Hjerling-Leffler, J., Ernfors, P., Winblad, B., ... Bogdanovic, N. (2002). Environmental enrichment and the brain. *Progress in Brain Research*, *138*, 109–33. doi:10.1016/S0079-6123(02)38074-9
- Mohapel, P., Mundt-Petersen, K., Brundin, P., & Frielingsdorf, H. (2006). Working memory training decreases hippocampal neurogenesis. *Neuroscience*, *142*(3), 609–13. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.07.033
- Monje, M., & Dietrich, J. (2012). Cognitive side effects of cancer therapy demonstrate a functional role for adult neurogenesis. *Behavioural Brain Research*, *227*(2), 376–379. doi:10.1016/j.bbr.2011.05.012
- Mooney, S. M., & Miller, M. W. (2010). Prenatal exposure to ethanol affects postnatal neurogenesis in thalamus. *Experimental Neurology*, *223*(2), 566–573. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014488610000452>

- Mustroph, M. L., Chen, S., Desai, S. C., Cay, E. B., DeYoung, E. K., & Rhodes, J. S. (2012). Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice. *Neuroscience*, *219*, 62–71. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.06.007
- Nai, Q., Li, S., Wang, S.-H., Liu, J., Lee, F. J. S., Frankland, P. W., & Liu, F. (2010). Uncoupling the D1-N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex promotes NMDA-dependent long-term potentiation and working memory. *Biological Psychiatry*, *67*(3), 246–54. doi:10.1016/j.biopsych.2009.08.011
- Narayanan, N. S., Cavanagh, J. F., Frank, M. J., & Laubach, M. (2013). Common medial frontal mechanisms of adaptive control in humans and rodents. *Nature Neuroscience*, *16*(12), 1888–95. doi:10.1038/nn.3549
- Niibori, Y., Yu, T.-S., Epp, J. R., Akers, K. G., Josselyn, S. a., & Frankland, P. W. (2012). Suppression of adult neurogenesis impairs population coding of similar contexts in hippocampal CA3 region. *Nature Communications*, *3*, 1253. doi:10.1038/ncomms2261
- Nishijima, T., Llorens-Martín, M., Tejada, G. S., Inoue, K., Yamamura, Y., Soya, H., ... Torres-Alemán, I. (2013). Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice. *Behavioural Brain Research*, *245*, 34–41. doi:10.1016/j.bbr.2013.02.009
- Noguès, X., Corsini, M. M., Marighetto, A., & Abrous, D. N. (2012). Functions for adult neurogenesis in memory: An introduction to the neurocomputational approach and to its contribution. *Behavioural Brain Research*, *227*(2), 418–425. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84855951288&partnerID=40&md5=625e760ff167769e6b40040c51d6234f>
- Nottebohm, F. (2002). Why Are Some Neurons Replaced in Adult Brain? *Journal of Neuroscience*, *22*(3), 624–628.
- Nyffeler, M., Yee, B. K., Feldon, J., & Knuesel, I. (2010). Abnormal differentiation of newborn granule cells in age-related working memory impairments. *Neurobiology of Aging*, *31*, 1956–1974. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.10.014
- Osten, P., Wisden, W., & Sprengel, R. (2007). Molecular Mechanisms of synaptic function in the hippocampus: neurotransmitter exocytosis and glutamatergic, GABAergic, and cholinergic transmission. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Eds.), *The Hippocampal Book* (pp. 243 – 298). New York: Oxford University Press.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The rat brain: in stereotaxic coordinates* (IV., p. 474). San Diego, CA: Academic Press.
- Peng, M., Zhu, X. Z., Cheng, M., Chen, X. Y., & Yao, S. Q. (2011). Role of hippocampal dentate gyrus neurons in the protective effects of heat shock factor 1 on working memory. *Neural Regeneration Research*, *6*, 686–691. doi:10.3969/j.issn.1673-5374.2011.09.009

- Pereira, A. C., Huddleston, D. E., Brickman, A. M., Sosunov, A. a, Hen, R., McKhann, G. M., ... Small, S. a. (2007a). An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(13), 5638–43. doi:10.1073/pnas.0611721104
- Pereira, A. C., Huddleston, D. E., Brickman, A. M., Sosunov, A. a, Hen, R., McKhann, G. M., ... Small, S. a. (2007b). An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(13), 5638–43. doi:10.1073/pnas.0611721104
- Pietrelli, A., Lopez-Costa, J., Goñi, R., Brusco, A., & Basso, N. (2012). Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience*, *202*, 252–266. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.054
- Rakic, P. (2002). Adult Neurogenesis in Mammals: An Identity Crisis. *Journal of Neuroscience*, *22*(3), 614–618. Retrieved from <http://www.jneurosci.org/content/22/3/614.short>
- Rampon, C., Jiang, C. H., Dong, H., Tang, Y. P., Lockhart, D. J., Schultz, P. G., ... Hu, Y. (2000). Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(23), 12880–4. doi:10.1073/pnas.97.23.12880
- Rapanelli, M., Frick, L. R., & Zanutto, B. S. (2011). Learning an Operant Conditioning Task Differentially Induces Gliogenesis in the Medial Prefrontal Cortex and Neurogenesis in the Hippocampus. *Plos One*, *6*. doi:10.1371/journal.pone.0014713
- Richman, C. L., Dember, W. N., & Kim, P. (1986). Spontaneous alternation behavior in animals: A review. *Current Psychology*, *5*(4), 358–391. doi:10.1007/BF02686603
- Rodriguez-Ramírez, G., King, G. B., & Kempermann, G. (2007). Formación de neuronas nuevas en el hipocampo adulto: neurogénesis. *Salud Mental*, *30*(3), 12–19.
- Rola, R., Raber, J., Rizk, A., Otsuka, S., VandenBerg, S. R., Morhardt, D. R., & Fike, J. R. (2004). Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. *Experimental Neurology*, *188*(2), 316–30. doi:10.1016/j.expneurol.2004.05.005
- Rola, R., Zou, Y., Huang, T.-T., Fishman, K., Baure, J., Rosi, S., ... Fike, J. R. (2007). Lack of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in the microenvironment impacts radiation-induced changes in neurogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*, *42*(8), 1133–45; discussion 1131–2. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.020
- Romanides, A. J., Duffy, P., & Kalivas, P. W. (1999). Glutamatergic and dopaminergic afferents to the prefrontal cortex regulate spatial working memory in rats. *Neuroscience*, *92*(1), 97–106. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10392833>

- Roux, F., & Uhlhaas, P. J. (2014). Working memory and neural oscillations: alpha-gamma versus theta-gamma codes for distinct WM information? *Trends in Cognitive Sciences*, *18*(1), 16–25. doi:10.1016/j.tics.2013.10.010
- Rushworth, M. F. S., Walton, M. E., Kennerley, S. W., & Bannerman, D. M. (2004). Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends in Cognitive Sciences*, *8*(9), 410–7. doi:10.1016/j.tics.2004.07.009
- Schloesser, R. J., Lehmann, M., Martinowich, K., Manji, H. K., & Herkenham, M. (2010). Environmental enrichment requires adult neurogenesis to facilitate the recovery from psychosocial stress. *Molecular Psychiatry*, *15*(12), 1152–63. doi:10.1038/mp.2010.34
- Sekeres, M. J., Neve, R. L., Frankland, P. W., & Josselyn, S. a. (2010). Dorsal hippocampal CREB is both necessary and sufficient for spatial memory. *Learning & Memory*, *17*(6), 280–3. doi:10.1101/lm.1785510
- Selden, J. R., Dolbeare, F., Clair, J. H., Nichols, W. W., Miller, J. E., Kleemeyer, K. M., ... DeLuca, J. G. (1993). Statistical confirmation that immunofluorescent detection of DNA repair in human fibroblasts by measurement of bromodeoxyuridine incorporation is stoichiometric and sensitive. *Cytometry*, *14*(2), 154–67. doi:10.1002/cyto.990140207
- Siapas, A. G., Lubenov, E. V, & Wilson, M. a. (2005). Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. *Neuron*, *46*(1), 141–51. doi:10.1016/j.neuron.2005.02.028
- Silvetti, M., Nuñez Castellar, E., Roger, C., & Verguts, T. (2014). Reward expectation and prediction error in human medial frontal cortex: an EEG study. *NeuroImage*, *84*, 376–82. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.08.058
- Solinas, M., Thiriet, N., Chauvet, C., & Jaber, M. (2010). Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Progress in Neurobiology*, *92*(4), 572–92. doi:10.1016/j.pneurobio.2010.08.002
- Sportiche, N., Suntsova, N., Methippara, M., Bashir, T., Mitrani, B., Szymusiak, R., & McGinty, D. (2010). Sustained sleep fragmentation results in delayed changes in hippocampal-dependent cognitive function associated with reduced dentate gyrus neurogenesis. *Neuroscience*, *170*, 247–258. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.06.038
- Stranahan, A. M., Khalil, D., & Gould, E. (2007). Running induces widespread structural alterations in the hippocampus and Entorhinal cortex. *Hippocampus*, *17*, 1017–1022. doi:10.1002/hipo.20348
- Sudai, E., Croitoru, O., Shaldubina, A., Abraham, L., Gispan, I., Flaumenhaft, Y., ... Yadid, G. (2011). High cocaine dosage decreases neurogenesis in the hippocampus and impairs working memory. *Addiction Biology*, *16*, 251–260. doi:10.1111/j.1369-1600.2010.00241.x
- Suh, H., Deng, W., & Gage, F. H. (2009). Signaling in adult neurogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *25*, 253–75. doi:10.1146/annurev.cellbio.042308.113256

- Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E. D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., ... Belzung, C. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Molecular Psychiatry*, *16*(12), 1177–88. doi:10.1038/mp.2011.48
- Tolman, E. C. (1925). Purpose and cognition: the determiners of animal learning. *Psychological Review*, *32*(4), 285–297. doi:10.1037/h0072784
- Tort, A. B. L., Kramer, M. A., Thorn, C., Gibson, D. J., Kubota, Y., Graybiel, A. M., & Kopell, N. J. (2008). Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(51), 20517–22. doi:10.1073/pnas.0810524105
- Tracy, A. L., Jarrard, L. E., & Davidson, T. . (2001). The hippocampus and motivation revisited: appetite and activity. *Behavioural Brain Research*, *127*(1-2), 13–23. doi:10.1016/S0166-4328(01)00364-3
- Tronel, S., Fabre, A., Charrier, V., Oliet, S. H. R., Gage, F. H., & Abrous, D. N. (2010). Spatial learning sculpts the dendritic arbor of adult-born hippocampal neurons. *PNAS Neuroscience*, 1–6. doi:10.1073/pnas.0914613107
- Uda, M., Ishido, M., Kami, K., & Masuhara, M. (2006). Effects of chronic treadmill running on neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus of adult rat. *Brain Research*, *1104*(1), 64–72. doi:10.1016/j.brainres.2006.05.066
- Uhlhaas, P. J., Pipa, G., Lima, B., Melloni, L., Neuenschwander, S., Nikolić, D., & Singer, W. (2009). Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, *3*, 17. doi:10.3389/neuro.07.017.2009
- Umka, J., Mustafa, S., Elbeltagy, M., Thorpe, A., Latif, L., Bennett, G., & Wigmore, P. M. (2010). Valproic acid reduces spatial working memory and cell proliferation in the hippocampus. *Neuroscience*, *166*, 15–22. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.11.073
- Van der Borght, K., Meerlo, P., Luiten, P. G. M., Eggen, B. J. L., & Van der Zee, E. A. (2005). Effects of active shock avoidance learning on hippocampal neurogenesis and plasma levels of corticosterone. *Behavioural Brain Research*, *157*, 23–30. doi:10.1016/j.bbr.2004.06.004
- Van Praag, H. (2008). Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Medicine*, *10*(2), 128–40. doi:10.1007/s12017-008-8028-z
- Van Praag, H. (2009). Exercise and the brain: something to chew on. *Trends in Neurosciences*, *32*(5), 283–90. doi:10.1016/j.tins.2008.12.007
- Van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J., & Gage, F. H. (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(23), 13427–13431.

- Van Praag, H., Schinder, A. F., Christie, B. R., Toni, N., Palmer, T. D., & Gage, F. H. (2002). Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, *415*(6875), 1030–4. doi:10.1038/4151030a
- Wallis, J. D. (2012). Cross-species studies of orbitofrontal cortex and value-based decision-making. *Nature Neuroscience*, *15*(1), 13–9. doi:10.1038/nn.2956
- Walton, M. E., Bannerman, D. M., & Rushworth, M. F. S. (2002). The Role of Rat Medial Frontal Cortex in Effort-Based Decision Making. *J. Neurosci.*, *22*(24), 10996–11003. Retrieved from <http://www.jneurosci.org/content/22/24/10996.long>
- Winocur, G., Frankland, P. W., Sekeres, M., Fogel, S., & Moscovitch, M. (2009). Changes in context-specificity during memory reconsolidation : Selective effects of hippocampal lesions. *Learning & Memory*, *16*, 722–729. doi:10.1101/lm.1447209.and
- Wojtowicz, J. M., Askew, M. L., & Winocur, G. (2008). The effects of running and of inhibiting adult neurogenesis on learning and memory in rats. *European Journal of Neuroscience*, *27*, 1494–1502. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06128.x
- Wojtowicz, J. M., Askew, M. L., & Winocur, G. (2008). The effects of running and of inhibiting adult neurogenesis on learning and memory in rats. *The European Journal of Neuroscience*, *27*(6), 1494–502. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06128.x
- Xu, Z. W., Li, J. A., Zhang, F. L., Wu, Y. H., Gao, Y., Liang, J., & Zhang, C. G. (2011). Working memory task decreases the survival of newly born neurons in hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, *95*, 239–247. doi:10.1016/j.nlm.2010.11.013
- Yoshimizu, T., & Chaki, S. (2004). Increased cell proliferation in the adult mouse hippocampus following chronic administration of group II metabotropic glutamate receptor antagonist, MGS0039. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *315*(2), 493–6. doi:10.1016/j.bbrc.2004.01.073
- Zajac, M. S., Pang, T. Y. C., Wong, N., Weinrich, B., Leang, L. S. K., Craig, J. M., ... Hannan, a J. (2010). Wheel running and environmental enrichment differentially modify exon-specific BDNF expression in the hippocampus of wild-type and pre-motor symptomatic male and female Huntington's disease mice. *Hippocampus*, *20*(5), 621–36. doi:10.1002/hipo.20658
- Ziats, M. N., & Rennert, O. M. (2013). Identification of differentially expressed microRNAs across the developing human brain. *Molecular Psychiatry*, (May), 1–5. doi:10.1038/mp.2013.93