

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL**

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

**“Alteraciones conductuales y sinápticas de la región CA1 del
hipocampo asociadas a la administración neonatal de MK-801”**

Presenta:

M. en C. Melissa Guadalupe Hernández Frausto

Para obtener el grado de Doctora en Ciencias en
Neurofarmacología y Terapéutica Experimental

Directores de Tesis

Dra. Carolina López Rubalcava

Dr. Emilio Javier Galván Espinosa

Ciudad de México, México

Julio 2019

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca que me fue otorgada con el número 281099 y con los proyectos CB2010/155255, CB2011/166241, infra-2011 187757.

ÍNDICE

ÍNDICE	II
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	V
ABREVIATURAS	VI
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
INTRODUCCIÓN	1
1. Síntomas de la esquizofrenia	1
- <i>Síntomas Positivos</i>	2
- <i>Síntomas Negativos</i>	2
- <i>Síntomas Cognitivos</i>	2
2. Teorías del origen de la esquizofrenia.....	3
- <i>Teoría Dopaminérgica</i>	3
- <i>Teoría Glutamatérgica</i>	4
- <i>Teoría de alteraciones durante el neurodesarrollo</i>	5
3. Formación hipocampal y Esquizofrenia.....	7
- <i>Anatomía básica de la formación hipocampal</i>	8
- <i>Flujo de información en el hipocampo</i>	10
- <i>Procesamiento de la información en la región CA1 del hipocampo</i>	11
- <i>Depresión a largo plazo (LTD)</i>	13
- <i>Potenciación a largo plazo (LTP)</i>	14
- <i>Dopamina y potenciación a largo plazo (LTP)</i>	17
- <i>Plasticidad sináptica hipocampal y esquizofrenia</i>	18
4. Tratamiento neonatal con MK-801 como modelo de esquizofrenia	19
ANTECEDENTES	22
JUSTIFICACIÓN	23
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS GENERALES	25
OBJETIVOS PARTICULARES	25
MATERIALES Y MÉTODOS	26
<i>Animales</i>	26

Fármacos.....	26
Modelo de Esquizofrenia.....	27
- <i>Administración subcrónica de MK-801</i>	27
- Evaluación conductual	27
- <i>Laberinto de Barnes</i>	27
- Evaluaciones electrofisiológicas.....	28
- <i>Obtención y preparación de rebanadas frescas de hipocampo</i>	28
- Estimulación sináptica	29
Diseño Experimental	31
Análisis Estadístico	33
RESULTADOS	34
- Desempeño de los animales de 30 DPN en el laberinto de Barnes.....	34
- Desempeño de los animales de 90 DPN en el laberinto de Barnes.....	36
- Evaluación de la fuerza sináptica del área CA1 del hipocampo en el tratamiento neonatal con MK-801 a los 30 y 90 DPN.....	39
- El tratamiento neonatal con MK-801 modifica las propiedades sinápticas de la región CA1 del hipocampo	41
- A los 90 DPN, el tratamiento neonatal con MK-801 produce una marcada alteración en las fases tempranas de LTD y LTP en la región CA1 del hipocampo 44	
- El tratamiento neonatal con MK-801 modifica la plasticidad sináptica a corto plazo	46
- El tratamiento neonatal con MK-801 altera la expresión de la fase tardía de la LTP a los 30 DPN	48
- El tratamiento neonatal con MK-801 altera el mantenimiento de la fase tardía de la LTP a los 90 DPN.....	50
- Efecto de la administración intra-hipocampal de SKF-38393 en animales de 90 DPN sobre el desempeño en el laberinto de Barnes	55
- A los 30 DPN, la perfusión del agonista tipo-D1 facilita el mantenimiento de la fase tardía de la LTP en rebanadas de animales tratados neonatalmente con MK-801	59
- A los 90 DPN, la perfusión del agonista tipo-D1 promueve el mantenimiento de la fase tardía de la LTP en rebanadas de animales tratados neonatalmente con MK-801	61
DISCUSIÓN	63
- Fuerza sináptica y plasticidad hipocampal	68

- Memoria y dopamina.....	71
CONCLUSIONES	74
PERSPECTIVAS	75
REFERENCIAS	76

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1	20
FIGURA 1.....	4
FIGURA 2.....	7
FIGURA 3.....	9
FIGURA 4.....	10
FIGURA 5.....	16
FIGURA 6.....	33
FIGURA 7.....	35
FIGURA 8.....	36
FIGURA 9.....	37
FIGURA 10.....	38
FIGURA 11.....	40
FIGURA 12.....	43
FIGURA 13.....	45
FIGURA 14.....	48
FIGURA 15.....	49
FIGURA 16.....	51
FIGURA 17.....	53
FIGURA 18.....	54
FIGURA 19.....	56
FIGURA 20.....	58
FIGURA 21.....	60
FIGURA 22.....	62

ABREVIATURAS

AMPA	Receptor ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico
ATV	Área tegmental ventral
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CA1	Cuerno de Amón 1
Ca ²⁺	Ion Calcio
CA3	Cuerno de Amón 3
CaCl ₂	Cloruro de calcio
CaMKII	Ca ²⁺ /Calmodulina Proteína cinasa II
c.c.g.	Capa celular granular
c.m.	Capa molecular
cm	centímetros
CREB	Factor de transcripción asociado a la actividad del AMPc
CO ₂	Dióxido de carbono
D1-like	Receptores de dopamina de la familia 1
DISC1	Gen disruptivo en la esquizofrenia 1
DPN	Día postnatal
EEG/MEG	Electromagnetoenceleografía
ERK	Cinasa reguladora de señales extracelulares
fEPSP	Potencial postsináptico excitatorio de campo
fMRI	Resonancia magnética funcional
FSK	Forskolina
GABA	ácido gamma-aminobutírico
GD	Giro dentado
GDNF	factor neurotrófico derivado de la glía
Hz	Hertz
hil.	Hilus
I1	Proteína inhibidora 1
IBMX	3-isobutil-1-metilxantina
IP ₃	Inositol trifosfato

IPP	Inhibición por prepulso
KCl	Cloruro de potasio
LCRA	Líquido cefalorraquídeo artificial
l-m.	<i>lacunosum-moleculare</i>
LTD	Depresión a largo plazo
LTP	Potenciación a largo plazo
L-LTP	Fase tardía de la potenciación a largo plazo
luc.	<i>Stratum lucidum</i>
MAPK	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
MgCl ₂	Cloruro de magnesio
Mg ²⁺	Magnesio
MK-801	5-metilo-10,11-dihidro-5H-dibenzociclohepteno-5,10-imina maleato
mM	milimolar
ms	milisegundos
mV	milivolts
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO ₃	Carbonato de sodio
NaH ₂ PO ₄	Fosfato de sodio
NMDA	N-metil-D-aspartato
NR1-2	Subunidades del receptor NMDA
NRX1	Gen de las neurexinas 1
O ₂	Oxígeno
ori.	<i>Stratum oriens</i>
PCP	Fenciclidina
PKC	Fosfolipasa C
PKA	Fosfolipasa A
PP1	Proteína fosfatasa 1
PPF	Facilitación por pulso pareado
PSD95	Proteína de densidad postsináptica 95
PTP	Potenciación postetánica

pyr.	Capa celular piramidal
rad.	<i>Stratum radiatum</i>
RMF	Resonancia magnética funcional
RNAm	Ácido ribonucleico mensajero
RON	Reconocimiento de objeto nuevo
SEM	Media del error estándar
SNC	Sistema nervioso central
s.c.	subcutáneo
TEP	Tomografía por emisión de positrones

RESUMEN

La hipofunción transitoria de los receptores NMDA durante la maduración cerebral ha sido asociada con alteraciones celulares y conductuales que mimetizan síntomas de la esquizofrenia. Esta condición puede ser mimetizada exitosamente en animales de laboratorio si durante su desarrollo postnatal se administra un bloqueador no competitivo de receptores glutamatérgicos tipo NMDA, como lo es el MK-801. En esta tesis, se combinó la evaluación conductual con registros electrofisiológicos extracelulares en rebanadas de hipocampo, obtenidas de animales tratados con MK-801 (0.2 mg/kg) entre el día postnatal 7 y 11. Las evaluaciones se realizaron a los 30 y 90 días postnatales. Los resultados muestran que en los animales tratados con MK-801 se presenta un deterioro en la ejecución de la prueba conductual de laberinto de Barnes. A nivel electrofisiológico, se observa una reducción en la transmisión sináptica excitadora, acompañada por daño en la inducción, expresión y mantenimiento de la potenciación a largo plazo en la región CA1 del hipocampo de estos animales. De manera complementaria, observamos que los animales tratados en la etapa neonatal con MK-801 muestran una reversión del deterioro cognitivo y una recuperación de sus capacidades plásticas en respuesta a infusión de un agonista selectivo de receptores dopaminérgicos D1-like vía intrahipocampal en la región CA1 dorsal. En conjunto, estos resultados muestran por primera vez, que el tratamiento neonatal con MK-801 genera alteraciones conductuales progresivas, así como en las capacidades plásticas de la región CA1 del hipocampo. El daño causado por la hipofunción de receptores NMDA puede ser contrarrestado con tratamientos farmacológicos que involucren la activación de receptores dopaminérgicos D1-like en el hipocampo.

ABSTRACT

The transient hypofunction of NMDA receptors during brain maturation has been linked to cellular and behavioral alterations that mirror symptoms of schizophrenia. In line with this notion, neonatal treatment with a noncompetitive NMDA receptor antagonist, MK-801, mirror cognitive symptoms of schizophrenia. By combining behavioral studies and electrophysiological extracellular recordings from hippocampal acute slices, we uncovered a progressive impairment in synaptic transmission in rats neonatally treated with MK-801. A reduction in synaptic strength and impairments in short- and long-term plasticity processes, as well as in the late phase of long-term potentiation (LTP) during the preadolescent stage (PND 30) was observed. This synaptic impairment is accompanied by behavioral deficits in the Barnes maze performance during the consolidation phase. Likewise, at PND 90 a significant deterioration in long-term synaptic plasticity (LTD and LTP) accompanied by L-LTP disturbances and alterations in the rat's performance in the Barnes maze (acquisition and consolidation phase). On the other hand, our results also show that perfusion of a dopaminergic D1-like agonist in the hippocampal slices' media reverses the alterations observed in the late phase of the LTP. and behavioral disturbances in Barnes maze consolidation in both developmental stages of neonatal MK-801 treated animals (30 and 90 PND). Taken together our results shown that hippocampal behavioral and electrophysiological disturbances, in a schizophrenia model are progressive and macromolecular dysregulation associated to the establishment of mnemonic process can be countered with pharmacological treatments that evolved hippocampal dopamine D1-like receptor.

INTRODUCCIÓN

La esquizofrenia es un desorden mental severo que afecta el pensamiento y comportamiento del individuo (Howes & Murray, 2014; Konradi & Heckers, 2003; Weickert et al., 2013), llevándolo a un estado de delirios, alucinaciones, así como afectaciones en el habla, disminución en la sociabilidad y disfunciones cognitivas marcadas. La esquizofrenia tiene un alto costo en la salud pública, lo que lo convierte en un problema social de alto impacto (Agarwal et al., 2016), que tiene una incidencia mundial de alrededor del 1 % (Howes & Murray, 2014). La etiología de la enfermedad es poco conocida e involucra un componente genético elevado, así como la participación de factores ambientales que pueden interactuar con la susceptibilidad genética (Jablensky, 2010).

Los síntomas se comienzan a manifestar durante la adolescencia tardía o a principios de la adultez, observándose una mayor incidencia en hombres que en mujeres; sin embargo, la prevalencia en ambos sexos es similar (Abel et al., 2000).

1. Síntomas de la esquizofrenia

La sintomatología de la esquizofrenia involucra una marcada incapacidad psicosocial y cognitiva que se manifiesta a lo largo de la vida del individuo. Su aparición puede variar de acuerdo con la severidad de la enfermedad. De manera consistente, los síntomas comienzan a manifestarse durante la adolescencia tardía o a principios de la etapa adulta. Estos síntomas se dividen en tres grandes grupos que serán explicados a continuación.

- *Síntomas Positivos*

Los síntomas positivos están caracterizados por la percepción de estímulos inexistentes que causan una alteración de la realidad. Los síntomas más comunes y manifestados con mayor frecuencia son los delirios y las alucinaciones. Entre los primeros, el más común es el delirio persecución, inserción y control del pensamiento. Con respecto a las alucinaciones, éstas se pueden manifestar en cualquier modalidad sensorial, siendo las auditivas las más comunes. De igual forma, se manifiestan distorsiones de la realidad como sentimientos inapropiados y pensamientos desorganizados (Andreasen, 1985; Vinson & Conn, 2012).

- *Síntomas Negativos*

Los síntomas negativos más conocidos involucran una pérdida de las expresiones afectivas, abulia (pérdida de la motivación), disminución en el habla, anhedonia (incapacidad de experimentar placer), falta de iniciativa y una reducción marcada en la habilidad social (Jablensky, 2010; Tandon et al., 2009).

- *Síntomas Cognitivos*

Los síntomas cognitivos reflejan una reducción en la memoria declarativa, deterioro en la memoria de trabajo y un déficit en la atención selectiva y sostenida. Las deficiencias cognitivas asociadas a la esquizofrenia representan uno de los mayores problemas de este padecimiento, pues se asocian con una incapacidad para realizar actividades cotidianas que involucren la toma de decisiones y la familiarización con los entornos que rodean a los individuos (Rajji et al., 2014).

2. Teorías del origen de la esquizofrenia

Debido a que la esquizofrenia es un padecimiento multifactorial con un origen poco claro, se han postulado diversas teorías que tratan de elucidar y explicar la fisiopatología de la enfermedad. Estas teorías tienen su fundamento en estudios que reportan la presencia de factores de predisposición (Duncan et al., 1999; Fatemi & Folsom, 2009; Harrison, 1997; Owen et al., 2011). Por ejemplo, hay una correlación directa entre la predisposición a desarrollar esquizofrenia con mutaciones genéticas presentes en distintas generaciones de la misma familia (Ej. DISC1, NRX1). Otras teorías engloban agentes etiológicos como lo son: enfermedades virales durante la gestación, complicaciones prenatales, reacciones autoinmunes, modificaciones en distintos sistemas de neurotransmisión como el dopaminérgico y el glutamatérgico.

A pesar de que cada teoría representa un acercamiento importante a la explicación biológica de la esquizofrenia, estas hipótesis están basadas mayormente en evidencia indirecta o circunstancial (Angeles, 1984; Duncan et al., 1999). Aún así, persisten al menos tres grandes teorías que explican el origen de este padecimiento: la teoría dopaminérgica (también denominada teoría mesolímbica), la teoría de la hipofunción glutamatérgica y la teoría del neurodesarrollo, las cuales son explicadas detalladamente a continuación.

- *Teoría Dopaminérgica*

La teoría mesolímbica fue la primera que intentó explicar la fisiopatología de este padecimiento. Esta teoría postula un malfuncionamiento de las proyecciones del mesencéfalo a regiones límbicas como las causantes de los síntomas psicóticos (McCutcheon et al., 2019). En 1967, Van Rossum relacionó la actividad de los antipsicóticos con el sistema dopaminérgico, a través de la activación de los receptores dopaminérgicos D2-like, puesto que

estos receptores son el principal sitio de acción de la mayoría de los antipsicóticos ocupados en clínica para el tratamiento de este padecimiento (McCutcheon et al., 2019; Seeman & Kapur, 2000). Por lo tanto, esta teoría tiene como fundamento que el inicio y transcurso de los síntomas psicóticos son consecuencia de una hiperactividad en la neurotransmisión dopaminérgica del área tegmental ventral (ATV) y los síntomas negativos y cognitivos son consecuencia de una hipoactividad de las terminales de las neuronas dopaminérgicas mesocorticales (Farde, 1997). En la figura 1 se muestran las vías dopaminérgicas involucradas en la esquizofrenia y los síntomas a los cuales se asocian

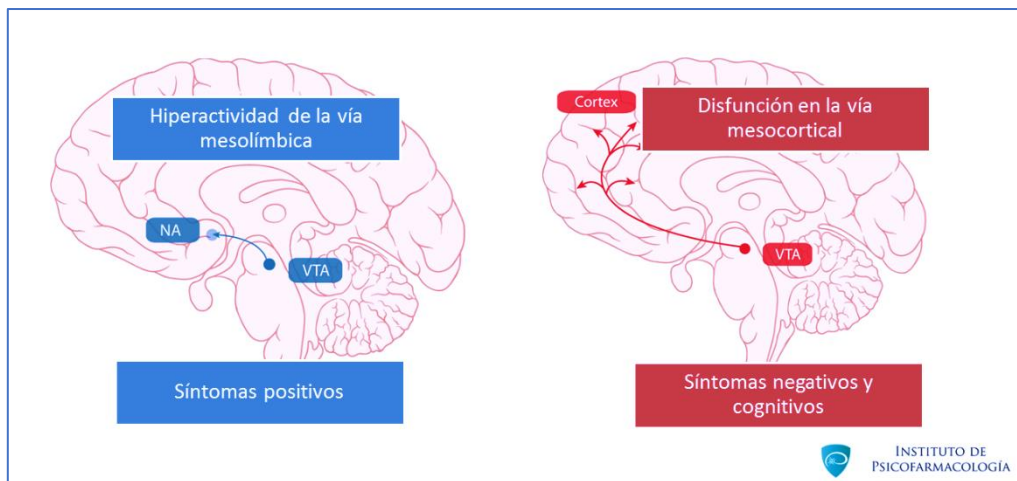


Figura 1. Vías dopaminérgicas asociadas a los síntomas de la esquizofrenia. (Imagen tomada y modificada del instituto de psicofarmacología; <http://psicofarmacologia.com>)

- *Teoría Glutamatérgica*

Actualmente se sabe que los individuos esquizofrénicos presentan alteraciones en la neurotransmisión glutamatérgica, particularmente en la función del receptor tipo NMDA. Estas alteraciones influyen en el desarrollo de las anomalías a nivel molecular, celular y conductual observadas en individuos esquizofrénicos (Snyder & Gao, 2013). Esta teoría se originó por observaciones clínicas que mostraron que la administración de antagonistas

del receptor NMDA como la ketamina, la fenciclidina y la dizocilpina (también conocida como MK-801) inducían comportamientos psicóticos y alteraciones cognitivas tipo esquizofrenia en individuos que no presentaban dicho padecimiento (Duncan et al., 1999; Malhotra et al., 1997; Schröder et al., 1996; Usyn et al., 2013). Más aún, la administración de estos agentes (utilizados como anestésicos) en individuos esquizofrénicos exacerba la sintomatología.

Hoy en día, se han identificado exitosamente alteraciones en las subunidades que componen al receptor NMDA, tanto en tejido humano como en modelos animales de esquizofrenia. Por ejemplo, estudios postmortem han demostrado una disminución en la afinidad del glutamato por el receptor NMDA, así como alteraciones en la transcripción y expresión de la proteína de la subunidad NR1 de este receptor en corteza prefrontal, tálamo e hipocampo (Snyder & Gao, 2013). Por lo tanto, esta teoría tiene sostiene que la esquizofrenia es consecuencia de una hipoactividad glutamatérgica asociada a una alteración en la actividad del receptor NMDA (Duncan et al., 1999).

- *Teoría de alteraciones durante el neurodesarrollo*

La teoría del neurodesarrollo postula que la etiología de la esquizofrenia es consecuencia de procesos patológicos, originados por factores genéticos y ambientales que preceden a la maduración del cerebro, que se presentan durante la adolescencia y que afectan el curso normal del desarrollo neuronal (Duncan et al., 1999; Fatemi & Folsom, 2009). En condiciones fisiológicas, los eventos de maduración neuronal incluyen la activación de distintos precursores neuronales, proliferación y maduración de la glía y su migración a distintas regiones cerebrales. Se presentan fenómenos de incremento en la proliferación axonal y dendrítica, procesos de mielinización de los axones y finalmente, la muerte celular programada y la poda neuronal. Si durante estos eventos se presentan agresiones ambientales como lo son exposición viral prenatal, reacciones autoinmunes durante la gestación (y en etapas tempranas

del desarrollo), deficiencias nutricionales y complicaciones obstétricas, pueden dar como resultado un funcionamiento aberrante de los procesos previamente mencionados, que tienen como resultado final, un incremento significativo en la aparición de la sintomatología de la esquizofrenia durante la adolescencia o la etapa adulta (Falkai et al., 2010).

En conjunto, estos factores son determinantes para la aparición de este padecimiento; sin embargo, es importante recalcar que la esquizofrenia tiene a su vez, un componente neurodegenerativo importante en la progresión de los síntomas durante la enfermedad. Por esta razón, se propone que la esquizofrenia es un desorden con elementos del neurodesarrollo, así como con un componente neurodegenerativo elevado (Ashe et al., 2001).

Las teorías previamente mencionadas nos permiten un mejor entendimiento de la fisiopatología de este padecimiento, sin embargo, siguen existiendo mecanismos que deben ser esclarecidos.

Por ejemplo, los síntomas cognitivos asociados a la esquizofrenia han sido los menos estudiados y, por consiguiente, los más difíciles de tratar hoy en día. En este sentido, el hipocampo, una estructura mesolímbica involucrada en procesos cognitivos de memoria y aprendizaje, presenta múltiples alteraciones en individuos esquizofrénicos (Farde, 1997). Debido a su importancia a nivel fisiológico y patológico, en la siguiente sección se describe la anatomía y fisiología del hipocampo y su relación con la esquizofrenia.

3. Formación hipocampal y Esquizofrenia

La formación hipocampal es una estructura cerebral que forma parte del sistema límbico. Se encuentra localizada en la zona medial del lóbulo temporal (figura 2) y, en conjunto con estructuras circundantes, modula la entrada de información sensorial externa y participa activamente en el aprendizaje y el establecimiento de la memoria declarativa, que se define como la asimilación de hechos y eventos previamente experimentados por el individuo (Eichenbaum et al., 1996; Neyman & Manahan-Vaughan, 2008).

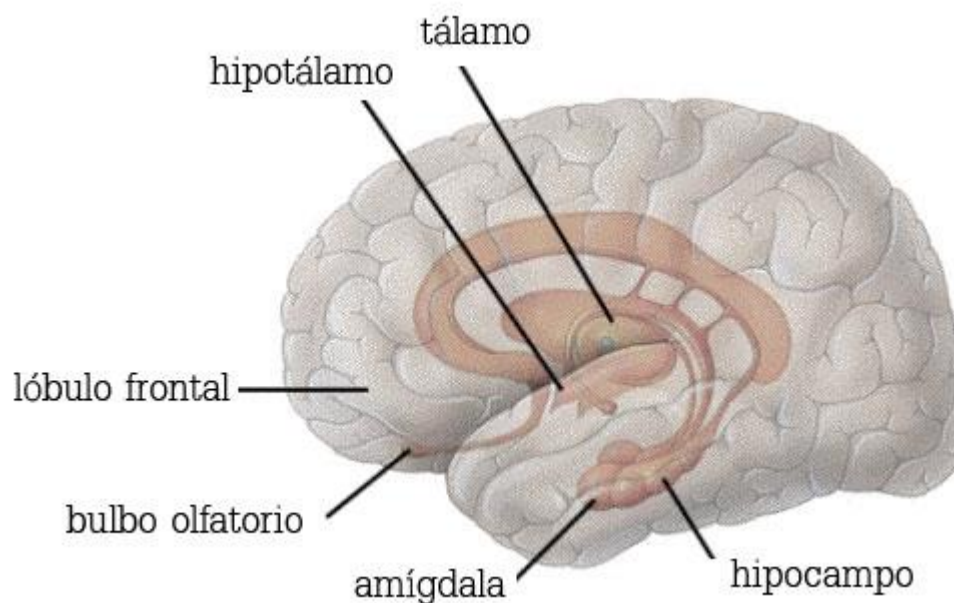


Figura 2. Localización anatómica del hipocampo en relación con las estructuras cerebrales que conforman el sistema límbico (Imagen tomada y modificada de <http://reaprende.es/sistema-limbico-y-corteza-cerebral/>)

Los individuos esquizofrénicos presentan cambios estructurales y morfológicos en el hipocampo. Estudios de resonancia magnética funcional (RMF) han confirmado una reducción de aproximadamente 4% en el volumen total de la formación hipocampal en esquizofrénicos (Nugent et al., 2007). Esta reducción volumétrica está acompañada regularmente por una desorganización neuronal. De igual forma, estudios de tomografía por emisión

de positrones (TEP) muestran una relación directa entre los síntomas de la esquizofrenia y cambios en la actividad metabólica hipocampal, demostrando que esta estructura participa de manera directa en el padecimiento.

A nivel conductual, los procesos de memoria de pacientes con esquizofrenia se encuentran altamente mermados en cuanto al aprendizaje y evocación de recuerdos familiares que se relacionan con alteraciones en la memoria episódica. De igual manera, la memoria espacial y los procesos mnemónicos que involucran la localización espacial y que dependen del hipocampo, están dañados (Bussey et al., 2013; Falkai et al., 2010). Finalmente, estudios bioquímicos postmortem indican alteraciones en la conformación de los receptores ionotrópicos de glutamato y de GABA, alteración en sus vías de señalización, así como en los procesos de recaptura de ambos neurotransmisores (Arnold et al., 2005; Clinton & Meador-Woodruff, 2004; Kristiansen et al., 2006).

- *Anatomía básica de la formación hipocampal*

Anatómicamente, la formación hipocampal se compone por el hipocampo propiamente (Cornus Ammonis, CA), el giro dentado, el subiculum, presubiculum y parasubiculum y la corteza entorrinal. Tradicionalmente, el hipocampo se ha dividido en 4 regiones: giro dentado (GD) y regiones CA3, y CA1, cada una de las cuales está dispuesta de forma laminar a lo largo de su eje (Figura 3). El giro dentado, hipocampo y subiculum están conformados por una capa celular principal y capas adyacentes, que se posicionan por arriba y por abajo de ésta; contienen menor densidad celular o son acelulares, mientras que el resto de las estructuras (CA3 y CA1) poseen varias capas laminares (Shepherd 2004; Andersen et al 2007; Amaral and Witter 1989; Lorente de Nó, 1934).

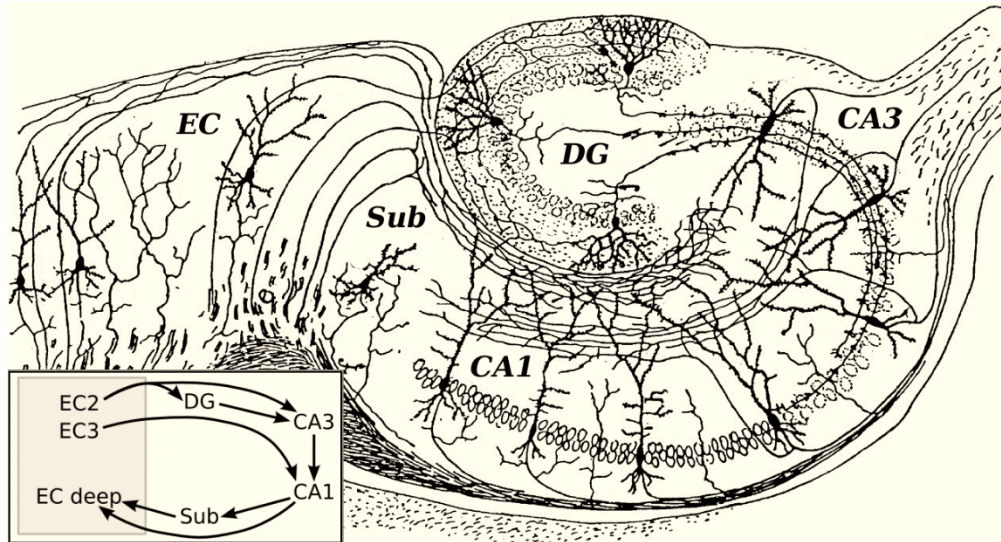


Figura 3. Representación de las estructuras que conforman la formación hipocámpica, así como el flujo de información que entra y sale del hipocampo (Tomada y modificada de dibujo realizado por Santiago Ramón y Cajal).

El giro dentado (GD), está constituido por tres capas; la principal o *capa celular granular*, una capa acelular denominada *capa molecular*, localizada sobre la capa celular granular y una capa que se observa de forma difusa por debajo de la capa granular llamada *hilus*. El hipocampo propiamente (regiones CA3 y CA1) está conformado por una capa principal denominada *capa celular piramidal*, donde se localizan los somas de las neuronas principales del hipocampo; un estrato localizado justo por debajo de la capa piramidal denominado *stratum oriens* por donde se extienden las dendritas basales de las células piramidales provenientes de CA3 y CA1 y finalmente, tres estratos o capas por los cuales atraviesan las dendritas apicales: *stratum lucidum* (exclusivo de la región CA3), *stratum radiatum* y *stratum lacunosum-moleculare* (Andersen, 2003; Witter et al., 1989). La figura 4 muestra la organización de la formación hipocámpica y los distintos estratos o capas que la conforman.

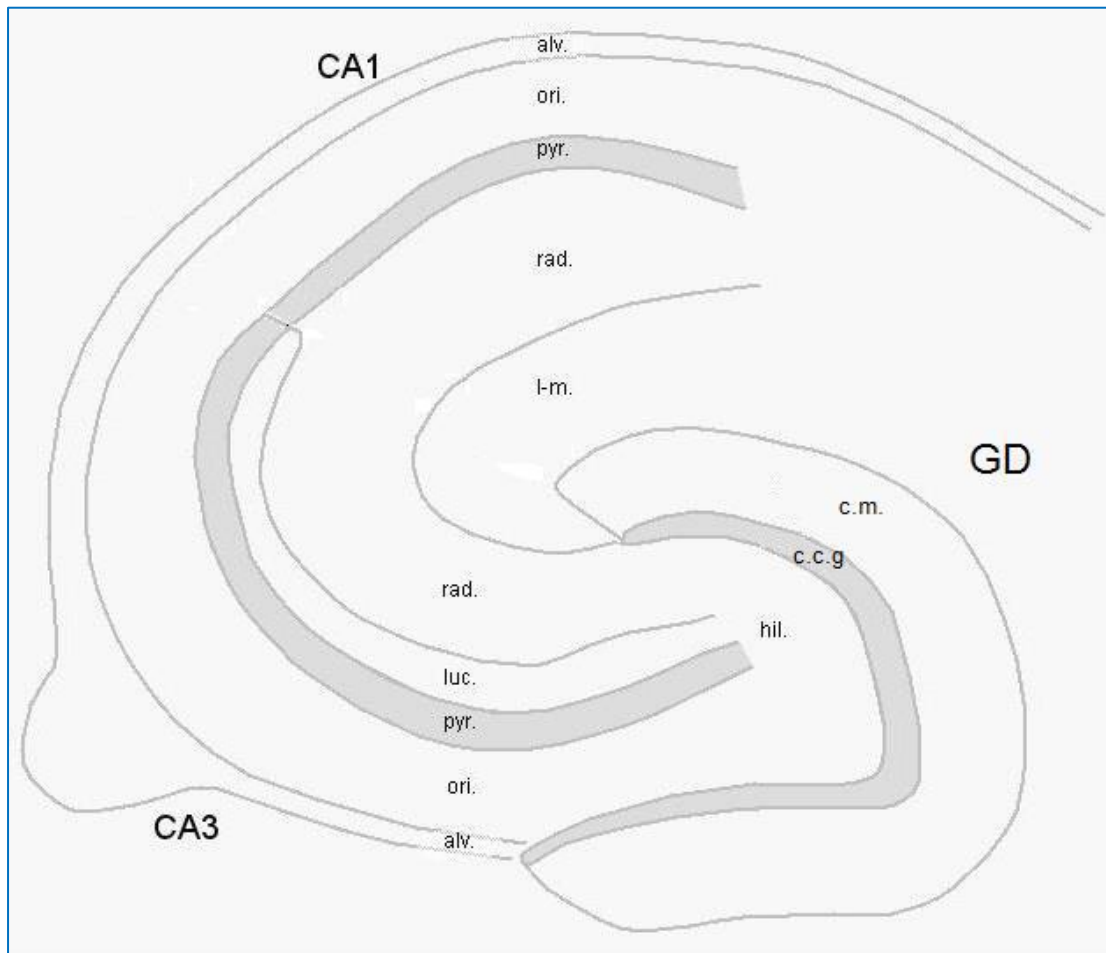


Figura 4. Formación hipocampal. En su estructura básica está conformada por giro dentado (GD), CA3 y CA1. Las capas del giro dentado son: c.c.g. Capa celular granular, c.m. Capa molecular e hil. Hilus. Las capas de CA3 y CA1 son: ori. *Stratum oriens*, pyr. Capa celular piramidal, rad. *Stratum radiatum*, l-m. *lacunosum-moleculare*, luc. *Stratum lucidum* (Presente solo en CA3) (Imagen tomada y modificada de neuron.org).

- *Flujo de información en el hipocampo*

El flujo de información a lo largo del hipocampo ha sido motivo de estudio durante muchas décadas. Hoy en día, se han identificado por lo menos dos vías de conexiones sinápticas que proveen al hipocampo de la mayor fuente de entradas glutamatérgicas excitadoras (Basu & Siegelbaum, 2015). La **vía trisináptica** (también llamada vía perforante), compuesta por los axones de células estelares de la capa superficial de la corteza entorrinal que conectan con las células granulares del giro dentado. Las células granulares originan un

haz de axones denominados “fibras musgosas” que hacen contacto sináptico con las células piramidales de la región CA3. A su vez, los axones de las neuronas piramidales de CA3, que se conocen genéricamente como “colaterales de Schaffer”, hacen contacto directo con las dendritas de las células piramidales de CA1. Esta vía es la mayor fuente de entrada sináptica excitadora a la región CA1 del hipocampo. Finalmente, los axones de las neuronas piramidales de CA1 proyectan de manera unidireccional al subiculum y a la corteza entorrinal. Estas proyecciones son la principal vía de salida del flujo de información del hipocampo (Amaral G, 1993; Andersen, 2003). La segunda vía de comunicación es la **temporoamónica**. Está formada por conexiones directas de las neuronas piramidales de la capa III de la corteza entorrinal con las neuronas piramidales de la región CA1 (Basu & Siegelbaum, 2015). Debido al flujo de información, la región CA1 del hipocampo es la estructura hipocámpal de mayor interés de estudio, ya que es la principal salida de la información que se procesa en el hipocampo y se envía hacia distintas estructuras del sistema nervioso central (SNC).

- *Procesamiento de la información en la región CA1 del hipocampo*

En general, el hipocampo lleva a cabo distintos mecanismos para la recolección, procesamiento y almacenamiento de la información asociada a la memoria y el aprendizaje; entre los cuales la **plasticidad sináptica** es el mecanismo principal. A continuación, se describirán los mecanismos de plasticidad sináptica que tienen lugar en la región CA1 del hipocampo, debido a que el trabajo experimental de esta tesis se realizó en esta región cerebral.

En la región CA1, los procesos de plasticidad sináptica pueden ser de corta o larga duración (Zucker & Regehr, 2002). Las modificaciones de corta duración, denominadas plasticidad a corto plazo, son el resultado de mecanismos localizados principalmente a nivel de la presinápsis que tienen la capacidad de

originar cambios bidireccionales, ya sea incrementando o disminuyendo la eficacia sináptica.

Facilitación sináptica. El proceso de facilitación sináptica es fácilmente observable utilizando un protocolo de estimulación de pulso pareado (PPF, por sus siglas en inglés). Este fenómeno electrofisiológico se observa cuando, se aplican dos pulsos eléctricos en una misma sinapsis, con intervalos menores a 1 segundo entre ellos. El segundo pulso desencadena la fusión de más vesículas en la membrana presináptica, en comparación con el primer estímulo, debido al incremento en las concentraciones intracelulares de calcio. El calcio generado por el primer estímulo, denominado residual, en conjunto con el calcio entrante generado por el segundo pulso, incrementa la probabilidad de liberación del neurotransmisor dando como resultado una facilitación (o incremento) de la respuesta sináptica (Capogna, 1998; Katz & Miledi, 1968).

Potenciación post-tetánica (PTP, por sus siglas en inglés). La PTP se da por incrementos transitorios en la respuesta sináptica, después de un periodo corto de aplicación de trenes de estimulación de alta frecuencia. La duración temporal es desde decenas de segundos hasta algunos minutos y se acompaña por un incremento en la PPF, lo que sugiere un incremento en la probabilidad de liberación del neurotransmisor. El incremento de la eficacia sináptica puede llegar a triplicarse de manera inmediata tras el tren de estimulación y decaer a los pocos minutos (Zucker & Regehr, 2002). Cambios en ambos fenómenos (PTP y PPF) indican alteraciones en la probabilidad de liberación del neurotransmisor y en los procesos presinápticos asociados al flujo de información entre la presinápsis y postsinápsis.

Los procesos de plasticidad sináptica de larga duración se denominan **plasticidad a largo plazo**. Este tipo de fenómenos pueden tener una duración que va de horas a semanas y dan como resultado decrementos o incrementos en la eficacia sináptica, que contribuyen al establecimiento de la memoria y el

aprendizaje. Los fenómenos de plasticidad a largo plazo pueden dividirse en etapas tempranas y tardías, de acuerdo con la duración y si se requiere o no de la síntesis de proteínas. Las **fases tempranas** no requieren síntesis de nuevas proteínas y sólo se deben a cambios específicos en la sinapsis que está siendo activada, mientras que las **fases tardías** o macromoleculares requieren la síntesis de proteínas a partir de RNAs mensajeros (RNAm) preexistentes o a partir de la transcripción génica nuclear. Cuando el mecanismo involucra una disminución en la eficacia sináptica se le denomina **depresión a largo plazo** (LTD, por sus siglas en inglés) y cuando el fenómeno se debe a incrementos en la eficacia sináptica se denomina **potenciación a largo plazo** (LTP, por sus siglas en inglés). Ambos fenómenos se explican en detalle a continuación.

- *Depresión a largo plazo (LTD)*

La depresión a largo plazo o LTD, se presenta como resultado de una disminución en la eficacia sináptica, lo que se traduce en una disminución en la amplitud de los potenciales postsinápticos excitadores (Dudek & Bear, 1992; Goh & Manahan-Vaughan, 2013b, 2013a; Mulkey & Malenka, 1992). La inducción y mantenimiento de la LTD (Fase temprana) requiere de la actividad de receptores glutamatérgicos ionotrópicos tipo NMDA y tipo AMPA (Bussey et al., 2013; Goh & Manahan-Vaughan, 2013a; Sanderson & Sher, 2013). Las frecuencias de estimulación eléctrica baja inducen un incremento transitorio del calcio (Ca^{2+}) en el interior de la neurona postsináptica a través de la activación de los receptores ionotrópicos a glutamato NMDA y AMPA. El incremento intracelular de calcio fosforila a una fosfatasa denominada Fosfatasa 2B (PP2B o calcineurina), que es activada y provoca una desfosforilación de la proteína inhibidora 1 (I1), que en condiciones activas mantiene bloqueada la actividad de la proteína fosfatasa 1 (PP1). Al activarse, la PP1 promueve la internalización de los receptores AMPA localizados en la hendidura sináptica, induciendo así la LTD (Lee & Kirkwood, 2011). Estudios

de comportamiento y estimulación eléctrica *in vivo* muestran que la LTD se induce durante la exploración contextual de objetos familiares que se localizan en espacios novedosos, dando un amplio panorama sobre su función en procesos cognitivos (Kemp & Manahan-Vaughan, 2004, 2007; Yi et al., 1995).

La fase tardía (expresión) de la LTD (L-LTD) requiere de la síntesis de proteínas y de la activación de receptores glutamatérgicos metabotrópicos, mGluR1 y mGluR5. La L-LTD es sensible a inhibidores de síntesis de proteínas como la anisomicina. La L-LTD se ha observado en animales en libre movimiento, implantados con electrodos de estimulación y registro en la región CA1 del hipocampo dorsal y con protocolos de estimulación a baja frecuencia (LFS) (Hagena & Manahan-Vaughan, 2011; Langston et al., 2010).

- *Potenciación a largo plazo (LTP)*

La fase temprana de la LTP (inducción y mantenimiento) se genera mediante la estimulación eléctrica de alta frecuencia (100-200 Hz) y es dependiente de la activación de cinasas y de la inactivación de fosfatasas. En condiciones *in vitro*, la LTP puede durar desde unos cuantos minutos hasta un par de horas. Se ha encontrado que su función principal es facilitar el aprendizaje de espacios y objetos novedosos (Andersen, 2003; Goh & Manahan-Vaughan, 2013b). La fase temprana de la LTP necesita de la liberación masiva de glutamato de la neurona presináptica, que produce una despolarización de la membrana postsináptica y la unión del glutamato al receptor NMDA. La unión del glutamato a su receptor y la despolarización membranal promueven la remoción del ion Mg^{2+} que bloquea al receptor NMDA, permitiendo la entrada de Ca^{2+} al interior de la neurona (Nicoll & Roche, 2013). La estimulación de alta frecuencia activa diferentes cinasas como CaMKII, PKC y PKA, que regulan la fase temprana de la LTP. De igual manera, la LTP promueve la activación e inactivación de diferentes fosfatasas, como la inhibidora 1 (I1) y la proteína fosfatasa 1 (PP1), para prolongar la activación de las cinasas (Cohen,

1989; Soderling & Derkach, 2000). El resultado final de la interacción entre cinasas y fosfatasas es la inserción de nuevos receptores AMPA a la membrana postsináptica (Andersen, 2003; Lovinger et al., 1987;; Reymann et al., 1988; Soderling & Derkach, 2000), manteniendo así, el incremento en la eficacia sináptica.

Como se mencionó previamente, la fase tardía de la LTP o fase macromolecular requiere de la síntesis de proteínas que permiten mantener el incremento de la eficacia sináptica durante tiempos prolongados (entre 3 y 8 horas) (Reymann & Frey, 2007a). *In vitro*, la fase tardía puede generarse por estimulaciones eléctricas de alta frecuencia (100 Hz) a distintos intervalos y por estimulación química con forskolina. Este fármaco activa la vía de señalización de la adenilato ciclasa, involucrada en la LTP macromolecular (Calixto et al., 2003; Gobert et al., 2008; Otmakhov et al., 2004). De forma general, la fase macromolecular se divide en dos estadios principales. El primero, representa la síntesis de proteínas a partir de RNAm (traducción) situados en las dendritas (Vickers et al., 2005) y la segunda, se da por la transcripción génica a partir del DNA en el núcleo del soma de la neurona. En la región CA1 del hipocampo, la fase tardía requiere la modulación de neurotransmisores cuyos sistemas de transducción estén acoplados a proteínas G, como los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluRs), los receptores a opioides y los de aminas. Por tal razón, se ha sugerido que esta fase requiere la coactivación de diferentes sistemas de neurotransmisión (Frey & Morris, 1998). Una de las aminas que tienen un papel fundamental en la fase tardía de la LTP es la dopamina. La participación de los receptores de dopamina y la fase macromolecular se retomarán a mayor detalle más adelante.

Actualmente, diversos estudios han sugerido que la fase tardía de la LTP es crítica para la consolidación de la memoria y el aprendizaje (Rosenberg et al., 2014; Whitlock et al., 2006). El mecanismo más estudiado es aquel que involucra incrementos citosólicos de AMPc (adenosín monofosfato cíclico) y la

activación de la cascada de señalización AC (adenilato ciclasa)-AMPc y PKA (Dong et al., 2008). La activación de estas cinasas induce las vías de señalización de las MAPK y CREB, promoviendo la transcripción génica y dando como resultado, la remodelación estructural de la sinapsis (Reymann & Frey, 2007b). En la figura 5 se muestran las vías de señalización que participan en las fases temprana y tardía de la LTP.

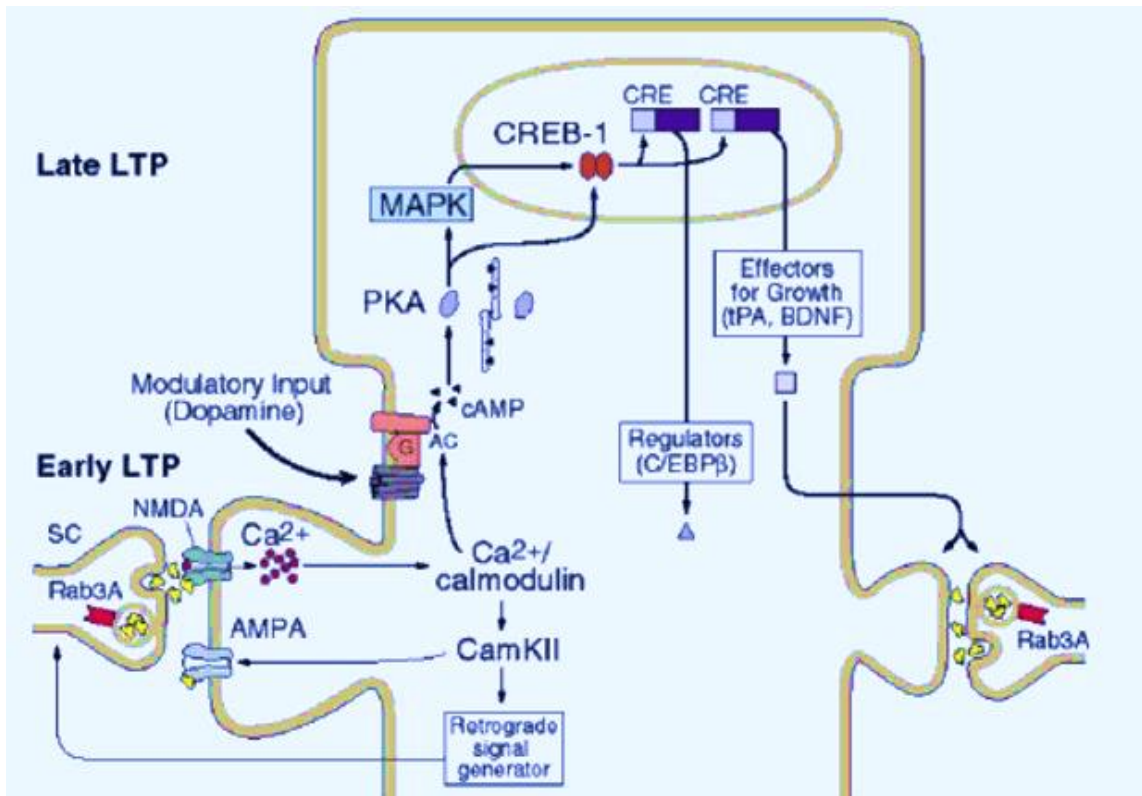


Figura 5. Fase temprana y tardía de la LTP. La fase temprana de la LTP (early LTP) requiere la activación de cinasas como la CAMKII y PKC y no requiere la síntesis de proteínas. Por otro lado, la fase tardía de la LTP (late LTP) requiere la activación de receptores dopaminérgicos y las vías de señalización AC-AMPc-PKA-MAPK-CREB requiriendo así, la síntesis de nuevas proteínas (Imagen tomada y modificada de Smith et al., 2005).

- *Dopamina y potenciación a largo plazo (LTP)*

La inervación dopaminérgica del hipocampo, específicamente de la región CA1, proviene directamente del área tegmental ventral (ATV) y del locus cerúleo (LC), formando una entrada funcional que modula diversos procesos cognitivos de memoria y aprendizaje (Bartsch et al., 2015). En el hipocampo, se ha asociado a la dopamina con procesos de memoria espacial, con la detección novedosa y el reconocimiento de objetos nuevos. A su vez, se le ha asociado como el principal modulador de la fase macromolecular de la LTP (Edelmann & Lessmann, 2013).

Los receptores a dopamina son receptores de siete dominios transmembranales (metabotrópicos) que señalizan a través de proteínas G heterotrimericas (Edelmann & Lessmann, 2013; Jay, Burette, & Laroche, 1996; Waung, Pfeiffer, Nosyreva, Ronesi, & Huber, 2008; Whitlock et al., 2006). Estos receptores están divididos en dos familias; la familia D1-like (receptores D1 y D5) y la familia D2-like (receptores D2, D3 y D4). Los receptores D1-like modulan de forma positiva a la adenilato ciclasa (AC), por lo que elevan los niveles de AMPc intracelular. Por el contrario, los receptores D2-like regulan de forma negativa a la AC, por lo que disminuyen los niveles intracelulares de AMPc a través de un sistema de señalización Gi/o (Li, Cullen, Anwyl, & Rowan, 2003; Seamans, Floresco, & Phillips, 1998). Como ya se había mencionado, la dopamina funciona como el modulador por excelencia de la fase tardía de la LTP, más que como un mediador directo, por lo que requiere la coactivación de receptores D1-like y de receptores glutaminérgicos tipo NMDA para llevar a cabo la L-LTP.

- *Plasticidad sináptica hipocampal y esquizofrenia*

Existe evidencia sobre la relación de los síntomas cognitivos de la esquizofrenia con un déficit en el procesamiento de la información en los microcircuitos neuronales que produce cambios en los procesos pre- y postsinápticos que modulan de forma directa la plasticidad sináptica (Crabtree & Gogos, 2014). A su vez, estudios postmortem, indican que hay un incremento en la expresión de la subunidad GluN2B del receptor NMDA y de la proteína PSD-95 en la región CA3 del hipocampo de individuos esquizofrénicos, lo que produce un incremento aberrante de las espinas dendríticas (Li et al., 2015).

La desregulación de la interacción entre grupos neuronales se puede observar como una alteración en la comunicación neuronal entre las distintas estructuras cerebrales que conforman el sistema límbico, lo que da como resultado un “síndrome de desconexión” que subyace a los déficits cognitivos tan pronunciados, así como a los estados psicóticos del paciente esquizofrénico. Existe una gama amplia de estudios de imagenología por resonancia magnética (fMRI, por sus siglas en inglés) que han investigado las anomalías cognitivas espontáneas, así como las alteraciones en la ejecución de distintas pruebas de memoria. De igual forma, se han realizado estudios de electromagnetoencefalografía (EEG/MEG, por sus siglas en inglés) que confirman dichos cambios en pacientes que presentan esquizofrenia (Maran et al., 2016).

4. Tratamiento neonatal con MK-801 como modelo de esquizofrenia

En la actualidad, en preclínica se cuenta con diversos modelos animales que permiten el estudio de los cambios neuroquímicos, anatómicos y conductuales de la esquizofrenia (Marcotte et al., 2001; Micale et al., 2013).

El tratamiento neonatal con MK-801 es un modelo que tiene como fundamento el bloqueo de la transmisión glutamatérgica a través del receptor NMDA durante la etapa neonatal, una etapa crítica del desarrollo de los circuitos neuronales (Thomases et al., 2014; Tseng et al., 2009). Este modelo combina dos teorías del origen de la esquizofrenia: la teoría de la hipofunción del receptor NMDA y la de las alteraciones en el neurodesarrollo.

En humanos, el desarrollo y maduración del sistema nervioso central ocurren de manera sostenida y acelerada durante el tercer trimestre de gestación y se prolongan hasta la adolescencia; la neurotransmisión glutamatérgica tiene un papel primordial en dicho proceso de maduración. De manera similar, en roedores se considera que la etapa crítica para el neurodesarrollo abarca las primeras tres semanas de vida (11-22 días), etapa en la que el glutamato, modula migración y maduración de redes neuronales a través de los receptores tipo NMDA (Falkai et al., 2010a; Lin & Zuo, 2011; Potkin et al., 2009).

Así, el tratamiento subcrónico con el antagonista de receptores NMDA, el MK-801, durante esta etapa crítica del neurodesarrollo produce alteraciones bioquímicas, anatómicas y funcionales que mimetizan algunas de las alteraciones que ocurren en la esquizofrenia. Diversos estudios han documentado que el tratamiento con MK-801 provoca una reorganización celular que se refleja a través de cambios en las proteínas del citoesqueleto y la modificación de la transmisión sináptica glutamatérgica, GABAérgica, serotoninérgica y dopaminérgica. Se han observado alteraciones en los

niveles cerebrales del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), modificaciones en la fosforilación de distintas cinasas como ERK 1 y 2, y de CREB y una disminución en la densidad de proteínas asociadas a los procesos apoptóticos (como Bcl2).

Por otro lado, estudios conductuales han revelado la aparición de una serie alteraciones que mimetizan síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia. En la siguiente tabla, se muestran las conductas evaluadas en el modelo y su asociación con los síntomas de la enfermedad.

Tabla 1. Comparación de los aspectos clínicos observados en la esquizofrenia y los cambios conductuales detectados con el tratamiento neonatal con MK-801 en roedores (Tomada y modificada de Lipska & Weinberger 2000)

<i>Esquizofrenia: Aspectos clínicos</i>	<i>Modelo animal: Cambios conductuales</i>
Síntomas psicóticos	Conducta relacionada a aumento de la transmisión dopaminérgica: <ul style="list-style-type: none"> • Hiperlocomoción inducida por dopamina
Conducta estereotipada	Conductas perseverantes (acicalamiento, sniffing)
Exacerbación de síntomas psicóticos por antagonistas NMDA	Aumento en la locomoción inducido por antagonistas NMDA
Vulnerabilidad al estrés	Hiperlocomoción inducida por estrés
Déficit en el procesamiento de la información	Déficits de la entrada sensorial
Déficit de atención	Déficit en inhibición latente
Déficit cognitivo	Ejecución deficiente en pruebas de memoria
Retraimiento social	Reducción del contacto con animales no familiares

Existen diversas pruebas para el estudio de los déficits cognitivos en modelos de esquizofrenia, que nos permiten evaluar el desempeño del roedor y determinar así, las alteraciones que se pudieran relacionar con alteraciones típicas de la esquizofrenia.

En el modelo del tratamiento neonatal con MK-801 se han evaluado conductas asociadas a la memoria declarativa, que no es dependiente en su totalidad del hipocampo. Un ejemplo es la prueba de reconocimiento de objetos nuevos (RON), la cual involucra el funcionamiento de diversas cortezas (corteza entorrinal, corteza perirrinal y corteza prefrontal) en conjunto con el hipocampo (Baier et al., 2009; Lim et al., 2012c; Neill et al., 2010; Savage et al., 2011). En esta prueba se encontró una disminución en el índice de reconocimiento del objeto novedoso en comparación con el objeto familiar que permaneció hasta la etapa adulta.

Para el estudio de la funcionalidad del hipocampo, después del tratamiento neonatal con MK-801, se han realizado diversas pruebas conductuales que nos permiten evaluar la memoria espacial, una de las más ampliamente utilizadas es el laberinto acuático de Morris. El tratamiento neonatal con MK-801 produce una disminución en el desempeño en el laberinto acuático que parece manifestarse hasta la etapa adulta, sin que se observen cambios en etapas más tempranas del desarrollo (Lim et al., 2012c). De igual forma, utilizando otros laberintos, como el laberinto radial y el laberinto elevado en cruz, se ha detectado una disminución en el desempeño que aparece hasta la etapa adulta del animal.

A pesar, que los laberintos previamente mencionados permiten el estudio de la funcionalidad hipocampal, las pruebas en ellos parecen involucrar un alto grado de estrés en el roedor, lo que pudiera enmascarar déficits que se presenten en etapas previas del desarrollo. El laberinto de Barnes es otra prueba utilizada en preclínica para evaluar la funcionalidad del hipocampo. Esta prueba tiene como fundamento la tendencia innata del roedor a evitar espacios abiertos e iluminados y a refugiarse en espacios de menor tamaño y oscuros (McLay et al., 1988; Sunyer et al., 2007). A diferencia de los laberintos previamente mencionados, el laberinto de Barnes permite la evaluación del funcionamiento hipocampal con menos estrés y menor liberación de

corticosterona, ya que el roedor no requiere nadar en un depósito profundo para encontrar la plataforma que lo pone a salvo, ni permanecer por periodos prolongados con restricción de agua y alimento (Harrison et al., 2006).

En el laberinto de Barnes se evalúa la memoria espacial dependiente del hipocampo en sus diferentes estadios. El primer estadio, denominado adquisición, nos permite estudiar el aprendizaje del roedor durante diversas etapas del entrenamiento y el segundo estadio, también llamado fase de retención, nos permite evaluar la consolidación del aprendizaje a su vez, nos permite la colocación de distintas pistas espaciales que ayudan al animal a asociar la localización de estas pistas con la ubicación del cajón de escape (Barnes et al., 1994; O'Leary & Brown, 2013; Sunyer et al., 2007).

ANTECEDENTES

A pesar de la amplia variedad de estudios que han evaluado las consecuencias del tratamiento neonatal con MK-801 en parámetros anatómicos, bioquímicos, electrofisiológicos y conductuales en roedores que puedan asociarse a los síntomas de la esquizofrenia, existe muy poca información que relacione las alteraciones electrofisiológicas en el hipocampo con las alteraciones conductuales asociadas a esta estructura, y que determine su aparición en distintas etapas del desarrollo postnatal.

Datos previos del laboratorio, realizados durante la maestría, demuestran que el tratamiento neonatal de ratas con MK-801 contribuye a la manifestación de cambios conductuales que mimetizan algunos síntomas de la esquizofrenia (negativos y cognitivos) durante la etapa adulta del animal (90 DPN), evaluados en pruebas conductuales como la inhibición por prepulso, el reconocimiento de objetos nuevos y la interacción social. Los resultados

obtenidos sugieren deficiencias en la memoria declarativa, en el procesamiento sensorial y en la sociabilidad de ratas; conductas que mimetizan algunos síntomas de la esquizofrenia. Así mismo, encontramos que alteraciones electrofisiológicas en el hipocampo, tales como una incapacidad para inducir la fase temprana de la LTP en la región CA1 del hipocampo que comienza a manifestarse desde etapas tempranas del desarrollo (30 DPN) cuando aún no se observan las alteraciones conductuales propias del modelo animal de esquizofrenia, y que se mantienen hasta la etapa adulta del animal (90 DPN).

Por otro lado, se ha demostrado que los procesos mnemónicos del hipocampo tanto conductual como electrofisiológicamente son modulados por la activación de los receptores dopaminérgicos D1-like, y que la neurotransmisión dopaminérgica en la esquizofrenia presenta una marcada desregulación que ocasiona la aparición de estados psicóticos y que posiblemente está involucrada en los deterioros cognitivos (Duncan, Sheitman, & Lieberman, 1999; Simpson, Kellendonk, & Kandel, 2010). Sin embargo, en el modelo de esquizofrenia de tratamiento neonatal con MK-801 no se ha establecido la relación entre los cambios en la transmisión dopaminérgica y los déficits cognitivos dependientes del hipocampo, tanto a nivel conductual como electrofisiológico.

JUSTIFICACIÓN

La plasticidad sináptica es el fenómeno fisiológico que subyace a la consolidación de diversos tipos de memoria (Huang & Kandel, 1994; Kemp & Manahan-Vaughan, 2004; Reymann & Frey, 2007a). En el hipocampo, la fase tardía (o de consolidación) de la LTP requiere de la síntesis de nuevas proteínas, un proceso modulado por receptores dopaminérgicos D1-like. Por otra parte, la administración neonatal de MK-801 en roedores genera cambios

conductuales que mimetizan diversos síntomas de la esquizofrenia y disminuye la capacidad de inducir LTP en el hipocampo. Sin embargo, se desconoce el papel de la modulación dopaminérgica en el mantenimiento de la fase tardía de la LTP en este modelo de esquizofrenia.

Por tal motivo, en este proyecto se determinó el estado funcional de la LTP hipocampal utilizando el modelo animal de MK-801 y el desempeño conductual de las ratas en una prueba específica del hipocampo.

HIPÓTESIS

- El tratamiento neonatal con MK-801 producirá una disminución en la memoria espacial evaluada con una prueba de memoria dependiente del hipocampo a los 30 y 90 DPN.
- El tratamiento neonatal con MK-801 ocasionará una disminución en la excitabilidad de la respuesta sináptica, una reducción de la plasticidad sináptica a corto plazo y una disminución en ambas fases de la LTP (temprana y tardía) en la región CA1 del hipocampo a los 30 y 90 DPN.

Las alteraciones en la síntesis de proteínas durante la fase tardía de la LTP en la región CA1 del hipocampo y los déficits en la prueba conductual de memoria serán revertidos con la administración de un agonista de receptores dopaminérgicos D1-like.

OBJETIVOS GENERALES

- Establecer si el tratamiento neonatal con MK-801 produce un mal desempeño en una prueba de memoria específica del hipocampo, a los 30 y 90 DPN.
- Determinar si el modelo de esquizofrenia con MK-801 neonatal produce una alteración en la inducción de los procesos de plasticidad sináptica de la región CA1 del hipocampo, en dos etapas del desarrollo (30 y 90 DPN).
- Evaluar si la administración de un agonista de receptores dopaminérgicos D1-like revierte las alteraciones electrofisiológicas y conductuales asociadas al hipocampo, inducidas por el tratamiento con MK-801 en ambas etapas del desarrollo (30 y 90 DPN).

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar por medio de la prueba del laberinto de Barnes, si la memoria espacial dependiente del hipocampo se altera a los 30 y 90 DPN en ratas tratadas neonatalmente con MK-801.
2. Caracterizar la excitabilidad de las respuestas sinápticas de la región CA1 del hipocampo en rebanadas de cerebro de animales tratados neonatalmente con MK-801, a los 30 y a los 90 DPN.
3. Determinar posibles alteraciones en los procesos de plasticidad a corto plazo como PTP y PPF, dependientes de la región CA1 en rebanadas de hipocampo de ratas tratadas neonatalmente con MK-801, a los 30 y 90 DPN.

4. Evaluar a los 30 y 90 DPN posibles alteraciones en la señalización intracelular resultante de la activación de receptores glutamatérgicos y DAérgicos involucrados en la expresión de la fase tardía de LTP dependiente en el hipocampo, asociada a la consolidación de la memoria, en los animales tratados neonatalmente con MK-801.
5. Determinar los efectos de la administración de un agonista D1-like sobre las alteraciones conductuales y electrofisiológicas inducidas por la administración neonatal de MK-801

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Para la realización del proyecto, se ocuparon ratas de la cepa Wistar. Se utilizaron hembras gestantes, las cuales se mantuvieron en cajas estándar bajo un ciclo invertido luz/oscuridad 12/12 horas, a una temperatura de 22 ± 2 °C. A partir del nacimiento (día postnatal 0), se mantuvieron sólo a los machos de las camadas con la madre hasta el destete en el día postnatal 21. El día del destete se extrajo a las madres de la caja hogar y se mantuvieron 5 a 7 machos por caja hogar. Los animales estuvieron con agua y alimento *ad libitum* y fueron manipulados de acuerdo con la norma oficial mexicana para el cuidado y manejo de los animales NOM-062-ZOO-1999 y la autorización (protocolo 379-02) del comité para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) del CINVESTAV-IPN.

Fármacos

- + (-) MK 801 de la compañía Sigma Aldrich (Toluca, México) a una dosis de 0.2 mg/kg.

- Forskolina (FSK) de la compañía Sigma Aldrich (Toluca, México) a una concentración de 50 μ M.
- 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX) de la compañía Sigma Aldrich (Toluca, México) a una concentración de 25 μ M.
- SKF-38393 de la compañía Sigma Aldrich (Toluca, México) a una concentración de 5 μ M.

Todos los fármacos previamente mencionados fueron disueltos en solución salina al 0.9%.

Modelo de Esquizofrenia

- *Administración subcrónica de MK-801*

Se utilizaron ratas macho de 7 días de nacidos, los cuales se dividieron en dos grupos experimentales. El primer grupo denominado control, recibió administraciones por vía subcutánea (s.c.) el vehículo, solución salina al 0.9%. El segundo grupo denominado MK-801, recibió por la misma vía, administraciones del fármaco MK-801 a una dosis de 0.2 mg/kg. Las administraciones comenzaron en el séptimo día postnatal (DPN) y se llevaron a cabo durante cinco días consecutivos (hasta el DPN 11). Una vez terminado el tratamiento, los animales fueron alojados en sus cajas hogar durante al menos 15 días antes de las pruebas experimentales, que se realizaron entre los días 25-35 y 85-95 DPN en ambas condiciones y de forma independiente.

- Evaluación conductual

- *Laberinto de Barnes*

El equipo consiste en una plataforma circular de 122 cm de diámetro, elevado 90 cm sobre el nivel del suelo. A lo largo del perímetro y colocados de forma equidistante se encuentran distribuidos 18 agujeros con un diámetro de 9.5 cm cada uno. Debajo de uno de los agujeros se encuentra un cajón oscuro que

funciona como cajón de escape. Este cajón es colocado con relación a distintas pistas espaciales que se encuentran ubicadas alrededor del laberinto.

La prueba conductual consiste en dos etapas; la primera, denominada etapa de entrenamiento y/o adquisición y la segunda, denominada prueba y/o retención. El entrenamiento o adquisición tiene una duración de 4 días consecutivos con dos fases por día con una duración de 4 minutos y un intervalo entre cada una de 15 minutos.

Durante cada fase de entrenamiento, los animales se colocan en el cajón de escape durante 1 minuto, posteriormente, se coloca en el centro de la plataforma dentro de un cilindro de acrílico durante 10 segundos. Después, se retira el cilindro y se le deja explorar la plataforma durante 3 minutos o hasta que haya localizado y entrado en el cajón de escape. Si el animal no encuentra el cajón durante los 3 minutos se le vuelve a colocar en el cajón durante 60 segundos y al término de este tiempo se finaliza la fase de entrenamiento. Por otro lado, la prueba o evaluación de la retención, se realiza en el día 5 y consiste en colocar al animal dentro del cilindro de acrílico durante 10 segundos. Pasado este tiempo se retira el cilindro y se le deja explorar hasta que haya localizado el cajón de escape o hayan transcurrido los 3 minutos. Tanto el entrenamiento como la prueba se realizan con luz y ruido blanco y, los parámetros que se analizan son el tiempo o latencia en segundos que invierte el animal y el número de errores que se comenten antes de encontrar y entrar al cajón de escape. Un incremento en el número de errores y en la latencia involucran daños en la circuitería hipocampal asociada a los procesos de memoria y aprendizaje.

- Evaluaciones electrofisiológicas
 - *Obtención y preparación de rebanadas frescas de hipocampo*

Para la obtención de rebanadas agudas de hipocampo, los animales de ambos grupos (control y MK-801) y de ambas edades fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40-60 mg/kg; vía i.p.) y una vez que se corroboró el

efecto de la anestesia, se sacrificaron por decapitación para la extracción del cerebro completo. Se obtuvieron rebanadas transversales de todo el hipocampo, de 380 μm de grosor. Las rebanadas se incubaron a 32 ± 2 °C durante 30 minutos en baño de María para laboratorio. Posteriormente, se mantuvieron a temperatura ambiente durante al menos una hora para su estabilización y durante todo el proceso experimental en una solución de líquido cefalorraquídeo artificial (LCRA, contenido mM: 125 NaCl, 2 KCl, 1.2 NaH_2PO_4 , 25 NaHCO_3 , 10 Glucosa, 1 CaCl_2 y 6 MgCl_2) la cual, se mantuvo a flujo constante de carbógeno (95% O_2 / 5% CO_2). Durante los registros extracelulares de campo, las rebanadas se transfirieron a una cámara de registro de perfusión continua con LCRA (en mM: 125 NaCl, 3 KCl, 1.25 Na_2HPO_4 , 25 NaHCO_3 , 2.5 CaCl_2 , 1.5 MgCl_2 , 10 Glucosa) a un flujo constante de líquido (2 ml/min) a una temperatura controlada de 31 ± 2 °C y gaseo uniforme de carbógeno (95% O_2 / 5% CO_2)

- Estimulación sináptica

- *Formación Hipocampal*

Para la obtención de respuestas sinápticas extracelulares se colocaron un electrodo bipolar de nicromo (de 38 μm de diámetro) y un electrodo de registro de borosilicato, con una resistencia de 1-2 $\text{M}\Omega$, con una solución de NaCl (3 M) en el *stratum radiatum* de la región CA1 del hipocampo. Esta región es por donde pasan los axones provenientes de las neuronas piramidales de la región CA3, denominados colaterales de Schaffer. Se aplicaron pulsos cuadrados de corriente con una duración entre 80-100 μseg , a una frecuencia de 0.06 Hz (cada 15 segundos).

- *Curvas de entrada-salida (I-O)*

Para la evaluación de la excitabilidad de las respuestas sinápticas de campo, se aplicaron pulsos de corriente crecientes de 0 hasta 130 μA (0, 10, 20, 30,

40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 μ A), con la finalidad de determinar el rango de crecimiento y saturación de la respuesta sináptica.

- *Proceso de plasticidad sináptica a corto plazo por facilitación del pulso pareado (PPF)*

Para evaluar la plasticidad sináptica a corto plazo, se aplicaron dos estímulos consecutivos, con un intervalo de 50 a 1000 ms entre cada uno (de 50 a 100 ms, con intervalos de 10 ms; de 100 a 200 ms con intervalos de 20 ms; de 200 a 500 ms, con intervalos de 50 ms y, de 500 a 1000 ms, con intervalos de 100 ms). Esto, nos permitió determinar los intervalos inter-estímulo (ISI) donde el pulso pareado genera una facilitación de la respuesta sináptica del segundo estímulo en comparación con el primero. En este tipo de experimentos se analizó la amplitud de las dos respuestas sinápticas extracelulares (fEPSP) y se dividió la amplitud del segundo fEPSP entre la amplitud del primero. Se consideró como facilitación de la respuesta sináptica extracelular cuando el valor obtenido fue mayor a 1 (>1) y como depresión si el valor fue menor a 1 (<1).

- *Inducción y expresión de la fase temprana de LTD y LTP en la misma sinapsis a los 90 DPN*

Una vez colocados los electrodos de estimulación y de registro se dejó estabilizar la respuesta sináptica de campo durante al menos 15 minutos. Una vez estabilizadas, se registraron los fEPSP basales durante 20 minutos. Para la inducción de la depresión a largo plazo (LTD), se evocó el fEPSP a frecuencias bajas de estimulación (LFS) que consistieron en 900 pulsos a 1 Hz (1 pulso por segundo durante 15 minutos). Posteriormente, se registró la respuesta sináptica durante 60 minutos considerando, depresión de la respuesta sináptica de campo o LTD cuando la disminución en la amplitud de la respuesta fue mayor al 30 % en comparación a la respuesta sináptica basal. Pasado el tiempo de registro de la LTD, se incrementó la corriente de

estimulación eléctrica hasta que la amplitud del fEPSP fue similar al valor basal inicial y se registró durante 15 minutos. Una vez obtenida la basal, se indujo la LTP aplicando dos trenes de estimulación a alta frecuencia (HFS, 100 Hz por segundo a un intervalo entre cada tren de 10 segundos) y se registraron los fEPSP durante al menos 60 minutos. El incremento en la respuesta sináptica >25 % y su mantenimiento durante el tiempo de registro se consideró como LTP.

- *Inducción de la fase tardía de la potenciación a largo plazo (L-LTP) por activación de los receptores ionotrópicos a glutamato en la región CA1 del hipocampo*

Una vez colocados los electrodos de estimulación y de registro se dejó estabilizar la respuesta sináptica extracelular durante al menos 15 minutos. Después de este periodo, se registró el fEPSP basal durante al menos 20 minutos a la frecuencia previamente mencionada (0.06 Hz). Para la inducción de la L-LTP se perfunden 50 mL de LCRA modificado durante 25 minutos el cual contiene, forskolina (FSK, 50 μ M) que incrementa los niveles de AMPc intracelular por activación del adenilato ciclasa (AC) e IBMX (25 μ M), un inhibidor de las fosfodiesterasas. Una vez transcurrido este tiempo se realizó el lavado con LCRA estándar y se registró la respuesta sináptica de campo durante al menos 4 horas. Un incremento en la respuesta >25% y su mantenimiento durante el tiempo de registro se consideró como L-LTP.

Diseño Experimental

Se utilizaron 279 ratas macho neonatas de la cepa Wistar, las cuales se dividieron en dos grupos principales: grupo control (n=146) y grupo MK-801

(n=133). Cada uno de estos grupos se dividió por edad, en 30 DPN y 90 DPN. Cuando los animales de cada grupo alcanzaron la edad (30 o 90 DPN) se dividieron nuevamente en dos subgrupos: un grupo se sometió a la prueba conductual, y otro fue sacrificado después de finalizar el tratamiento, para obtener rebanadas agudas de hipocampo para los registros extracelulares (Figura 6, panel A y B).

Los grupos sometidos a la prueba conductual fueron a su vez divididos en dos subgrupos; uno que fue expuesto directamente a las pruebas conductuales (grupos control y MK-801; 30 y 90 DPN) y otro que fue implantado en la región CA1 del hipocampo dorsal antes de someterlo a dichas pruebas (grupo control/cirugía y MK-801/cirugía; 30 y 90 DPN) (Figura 6, panel C). Se utilizó cirugía estereotáxica para colocar una cánula guía, dirigida a la región CA1 del hipocampo, en el hemisferio derecho de animales tratados neonatalmente con MK-801. La cánula se colocó en la región CA1 del hipocampo dorsal, basándose en un atlas del cerebro de rata (Paxinos y Watson, 2009). Las coordenadas respecto de bregma fueron las siguientes: anteroposterior (AP) - 2.5 unidades?, lateral (LAT) +1.2 mM y dorsoventral (DV) -1 mM. Al finalizar la cirugía, se dejó recuperar a los animales en su caja hogar durante al menos 4 días antes de iniciar las pruebas conductuales. Terminando la fase de recuperación, se comenzó con el entrenamiento conductual. En el quinto día (día de la prueba) se administró a los animales por la cánula guía el agonista D1-like (SKF-38393) y se les dejó reposar durante al menos 5 minutos para posteriormente realizar la prueba.

De igual forma, los grupos sacrificados para los registros extracelulares fueron divididos en dos subgrupos, uno que en el que se realizaron los registros extracelulares y, otro en el que dichos registros se realizaron en presencia de compuestos dopaminérgicos. En este último caso, se perfundió en el LCRA el agonista dopaminérgico SKF-38393 a una concentración de 5 μ M (Figura 6, panel D). La figura 6 muestra el diseño experimental de este trabajo.

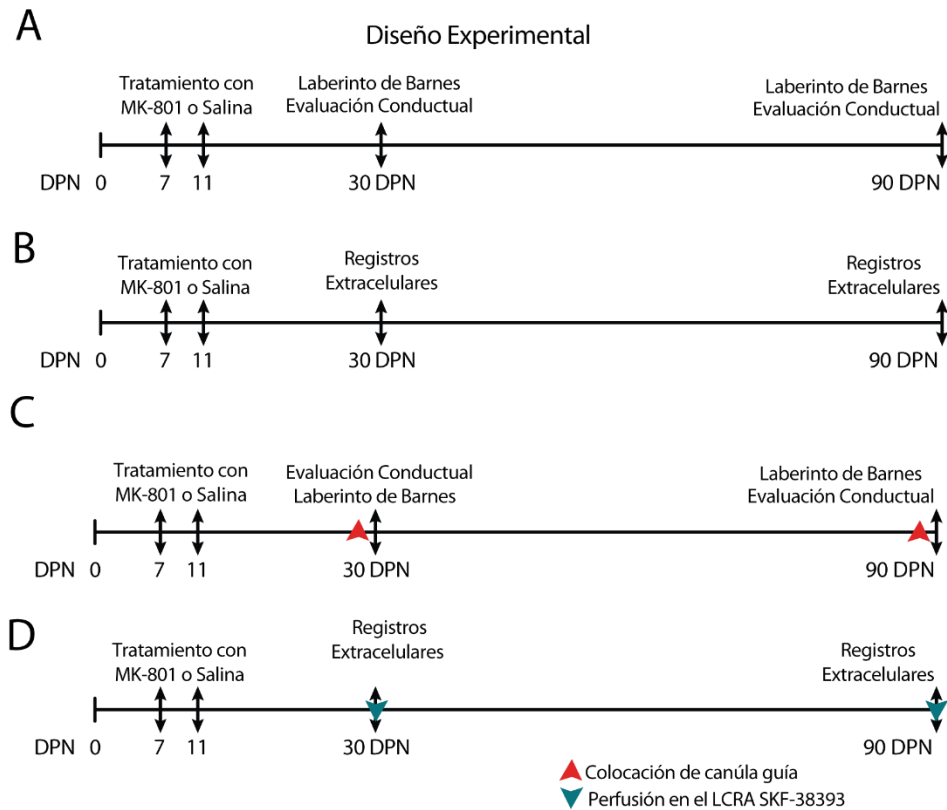


Figura 6. Diseño experimental. Representación esquemática del curso temporal utilizado para evaluar el efecto del tratamiento neonatal con MK-801 en el laberinto de Barnes y en las respuestas electrofisiológicas. La prueba del laberinto de Barnes se realizó a los 30 y 90 DPN, incluyendo animales implantados en la región CA1 dorsal. Los registros extracelulares se realizaron en la región CA1 de rebanadas agudas de hipocampo utilizando animales de las mismas edades (30 y 90 DPN), tanto en ausencia como en presencia del agonista dopaminérgico.

Análisis Estadístico

En todos los casos, los datos se expresan como el valor de la media \pm error estándar (SEM). Los cambios conductuales registrados durante el entrenamiento en un mismo grupo de animales se evaluaron con la prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's. Para evaluar diferencias entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann Whitney. Los cambios en la amplitud y pendiente del fEPSP en CA1 se determinaron al comparar la media de a fEPSP en condición basal con la media del fEPSP (amplitud o pendiente) a los distintos tiempos, con la prueba U de Mann Whitney. En todos los casos se aceptó como nivel de significancia un valor de $p < 0.05$

RESULTADOS

- Desempeño de los animales de 30 DPN en el laberinto de Barnes

En la figura 7 se muestra la latencia en encontrar el cajón de escape en segundos durante las fases de entrenamiento y prueba del laberinto de Barnes en animales control, tratados con solución salina, y animales tratados neonatalmente con MK-801, evaluados a los 30 DPN (barras blancas y negras, respectivamente). Durante el entrenamiento en el grupo control, los animales presentan una disminución significativa en la latencia para encontrar el cajón de escape a partir del tercer día, (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 40.189$ con 3 grados de libertad; $p < 0.001$). En cambio, en los animales tratados neonatalmente con MK-801 se observa que es hasta el cuarto día de entrenamiento que esta latencia disminuye significativamente (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 25.333$ con 3 grados de libertad; $p < 0.001$), indicando que los animales tratados neonatalmente con MK-801 tardan más tiempo en encontrar el cajón de escape (Figura 7 panel A). Durante la prueba, los animales tratados neonatalmente con MK-801 presentan un incremento significativo en la latencia para localizar el cajón (prueba U de Mann Whitney $p= 0.013$), indicando que los animales tratados neonatalmente con MK-801 presentan alteraciones en la retención de la memoria espacial (Figura 7 panel B).

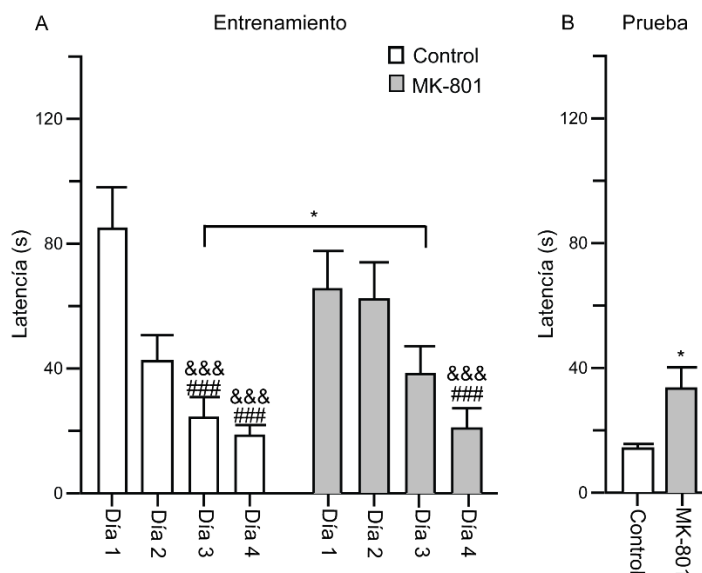


Figura 7. Latencia en encontrar el cajón de escape en laberinto de Barnes a los 30 DPN. A) Gráfica donde se muestra la latencia en segundos para encontrar el cajón de escape durante los 4 días de entrenamiento a los 30 DPN. B) Latencia el día de la prueba, se muestra un incremento en el tiempo para encontrar el cajón de escape en los animales tratados con MK-801 (n= 13) en comparación con el grupo control (n= 15). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### día 1 contra los demás días, &&& día 2 contra los demás días p<0.05, Prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. *p<0.05 U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

En la figura 8 se muestra el número de errores cometidos por animales tratados neonatalmente con MK-801 y animales control (solución salina 0.9%) antes de encontrar el cajón escape. Durante la etapa de entrenamiento se observa que en el grupo control hay una disminución significativa en el número de errores a partir del segundo día (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 16.604$ con 3 grados de libertad; $p=<0.001$). En cambio, los animales tratados con MK-801 no presentan dicha disminución durante los cuatro días de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 3.278$ con 3 grados de libertad; $p=<0.351$) como se observa en el panel A de la figura 8. En la etapa de prueba, los animales tratados con MK-801 presentan un incremento significativo en el número de errores en comparación con el grupo control (prueba U de Mann Whitney; $p=<0.020$) (Figura 8, panel B).

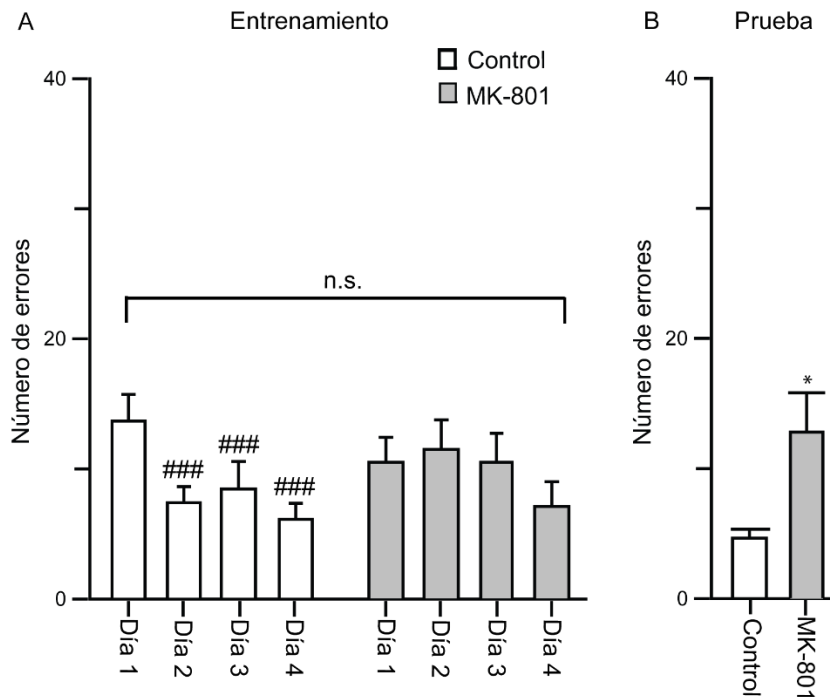


Figura 8. Número de errores en encontrar el cajón de escape en el laberinto de Barnes 30 DPN. A) Número de errores para encontrar el cajón de escape durante los 4 días de entrenamiento. B) Número de errores en los animales tratados con MK-801 neonatal ($n=13$) en comparación con el control ($n=15$). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### $p<0.05$, prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. * $p<0.05$ U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

- Desempeño de los animales de 90 DPN en el laberinto de Barnes

En el modelo de esquizofrenia MK-801, la etapa adulta es crítica para la consolidación y establecimiento de las conductas que mimetizan los síntomas de la esquizofrenia en particular, en las conductas asociadas a procesos de memoria y aprendizaje, por lo tanto, en la figura 9 se presenta la latencia, en segundos, requerida para encontrar el cajón de escape durante las fases de entrenamiento y de prueba en los animales tratados neonatalmente con MK-801 y el grupo control evaluados a los 90 DPN. Durante los cuatro días de entrenamiento, los animales control disminuyen significativamente el tiempo para encontrar el cajón de escape a partir del segundo día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 29.702$ con 3 grados de libertad; $p<0.001$), disminución que no se presenta en los animales tratados con MK-801 (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 0.660$ con 3 grados de libertad;

$p < 0.835$) (Figura 9, panel A). El día de la prueba se observa que los animales tratados con MK-801 tardan más tiempo en encontrar el cajón de escape en comparación con el control (prueba U de Mann Whitney $p < 0.032$) (Figura 9, panel B).

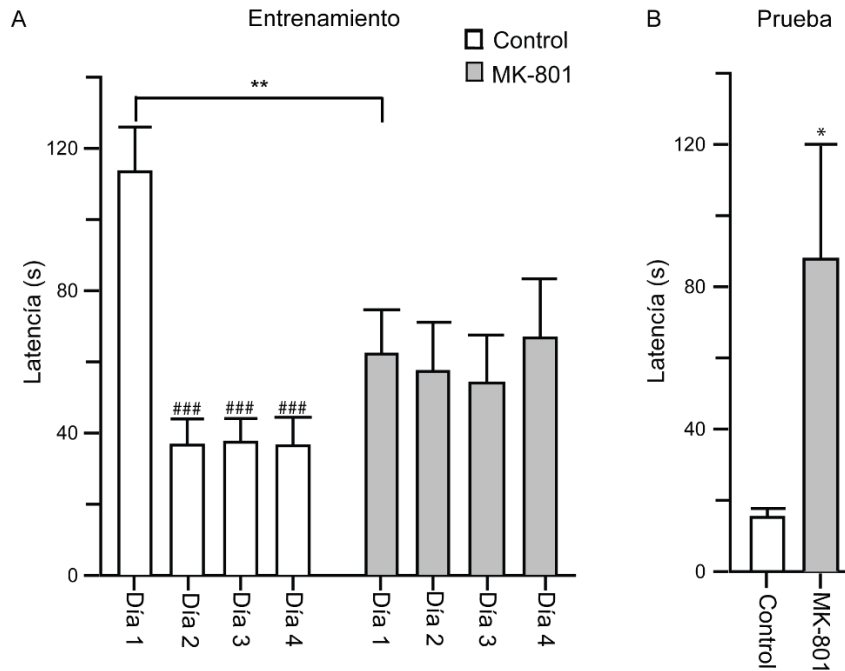


Figura 9. Latencia para encontrar el cajón de escape en laberinto de Barnes 90 DPN. A) Latencia en segundos para encontrar el cajón de escape durante los 4 días de entrenamiento. B) Latencia en el grupo tratado con MK-801 ($n = 9$) en comparación con el control ($n = 12$). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. * $p < 0.05$ U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

La figura 10 muestra el número de errores que presentan los animales adultos (90 DPN) antes de encontrar el cajón de escape. Durante los cuatro días de entrenamiento en el grupo control, los animales presentan una disminución significativa en el número de errores para encontrar el cajón de escape (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 31.683$ con 3 grados de libertad; $p < 0.001$). Sin embargo, en los animales tratados con MK-801 neonatal no disminuye el número de errores con los entrenamientos sucesivos. Al comparar este parámetro en cada uno de los entrenamientos con el del grupo control, se registra un número mayor de errores desde el segundo día (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 0.860$ con tres grados

de libertad). Durante la prueba, los animales tratados con MK-801 neonatal presentan un número mayor de errores en encontrar el cajón de escape al compararse con el control (prueba U de Mann Whitney $p < 0.01$. Figura 10, panel B).

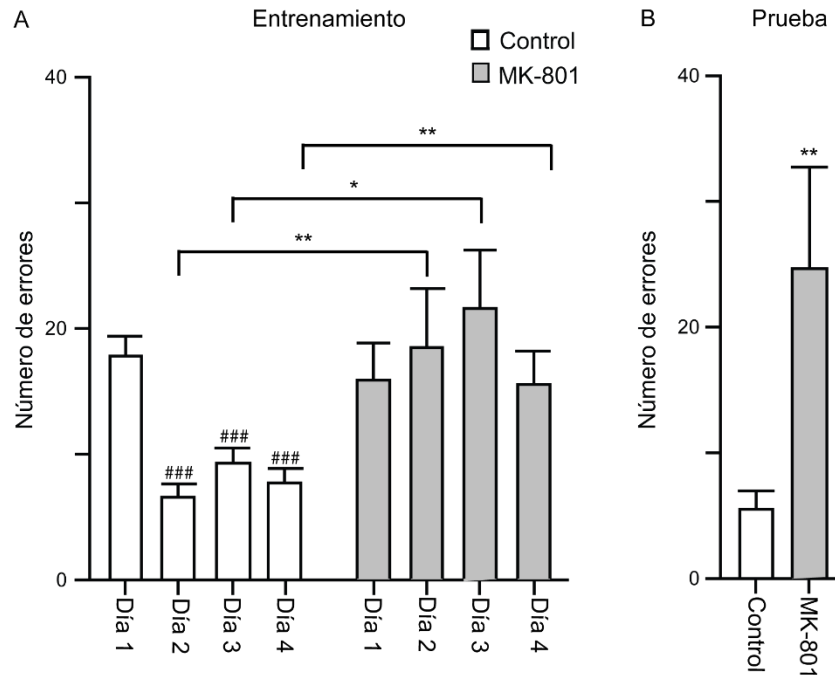


Figura 10. Número de errores en laberinto de Barnes 90 DPN. A) Número de errores para encontrar el cajón escape durante 4 días de entrenamiento B) Número de errores en los animales tratados con MK-801 (n= 9) en comparación con el control (n= 12). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### $p < 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. ** $p < 0.01$ U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

En conjunto, estos resultados indican que desde etapas tempranas del desarrollo, como son los 30 DPN, hay un incremento en la latencia y el número de errores en los animales tratados neonatalmente con MK-801 que se asocian a alteraciones en los procesos de aprendizaje y retención de la memoria de tipo espacial. Dicho desbalance se exagera y se mantiene hasta la etapa adulta (90 DPN).

- Evaluación de la fuerza sináptica del área CA1 del hipocampo en el tratamiento neonatal con MK-801 a los 30 y 90 DPN

Se exploraron diversos parámetros que constituyen a la transmisión y plasticidad sináptica hipocampal para determinar posibles alteraciones electrofisiológicas en los animales tratados con MK-801. Para esto, se realizaron registros extracelulares en rebanadas frescas de hipocampo en condiciones control y en animales tratados con MK-801. Los experimentos se restringieron a rebanadas hipocampales dorsales, por el papel que esta región juega en la memoria espacial (Moser et al., 1995). Primero se determinó si el MK-801 modifica la fuerza sináptica de la sinapsis CA3-CA1. Se evocaron fEPSPs y se seleccionaron los eventos compuestos por una deflexión rápida y de pequeña amplitud (potencial de acción presináptico ó salva aferente presináptica) seguido por el fEPSP.

La relación entre amplitud de la salva aferente presináptica y el fEPSP es lineal y refleja la eficacia sináptica: a mayor disparo presináptico, mayor liberación de neurotransmisor, y por ende, mayor respuesta postsináptica (Andersen et al., 1977,1980). Cambios en esta relación sugieren alteraciones en la sincronía entre despolarización presináptica, liberación de neurotransmisor y funcionalidad de receptor postsináptico.

Se colectaron 350 eventos por cada condición experimental (Control a los 30 y 90 DPN y MK-801). A los 30 DPN en la condición control, la relación salva aferente presináptica-fEPSP tiene un ajuste lineal ($r_2 = 0.598$; $p < 0.05$ $n = 7$ rebanadas / 7 animales. Fig 11B). Esta correlación se pierde en animales MK-801 de 30 DPN ($r_2 = 0.056$; $p = 0.310$; $n = 7$ rebanadas / 7 animales; Figura 11C). De forma similar, a los 90 DPN, los animales control presentan una correlación significativa entre la salva aferente presináptica y el fEPSP ($r_2 = 0.868$; $p < 0.05$ $n = 7$ rebanadas / 7 animales; Figura 11D) ausente en el grupo MK-801 ($r_2 = 0.03$; $p = 0.586$ $n = 7$ rebanadas / 6 animales; Figura 11E). En conjunto, los cambios observados en la relación de la salva aferente presináptica y el potencial postsináptico excitatorio de campo sugieren que el

tratamiento neonatal con MK-801 modifica el disparo presináptico y la respuesta postsináptica de la región CA1 del hipocampo.

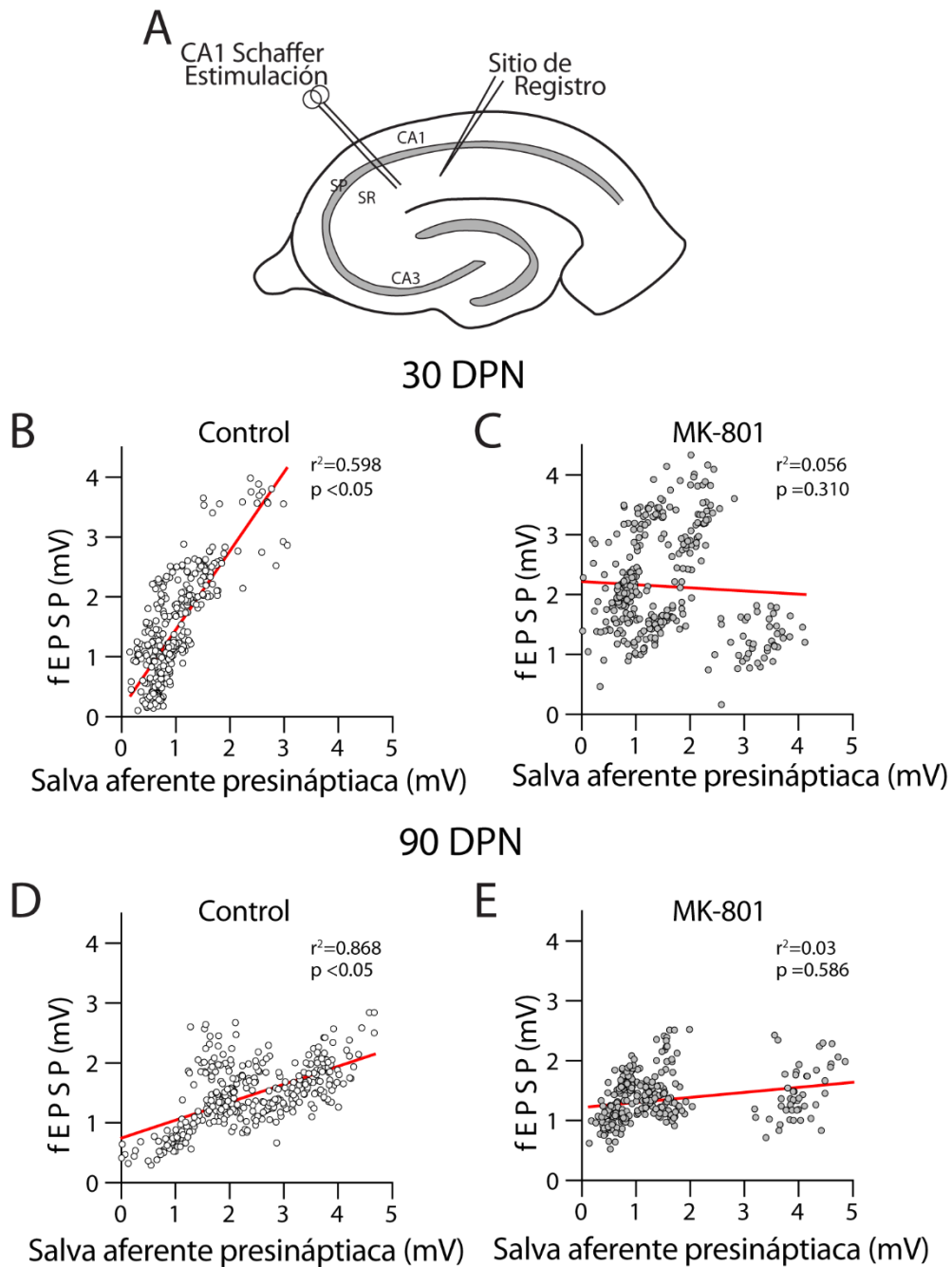


Figura 11. El tratamiento neonatal con MK-801 disminuye la relación salva aferente presináptica-fEPSP en la sinapsis Colaterales de Shaffer-CA1. A) Representación esquemática de la formación hipocampal mostrando la colocación del electrodo de estimulación y de registro. Los experimentos se realizaron de forma rigurosa en el Stratum Radiatum (SR) de rebanadas dorsales de hipocampo. B,D) Scatterplots realizados de eventos compuestos que exhibieron una

salva aferente presináptica y fEPSP a los 30 y 90 DPN en condiciones control, la línea roja muestra la correlación lineal. C,E) Scatterplots mostrando la relación FV-fEPSP obtenida de rebanadas de animales tratados como MK-801 a los 30 y 90 DPN. Cada panel fue construido por 300 eventos compuestos que exhiben la deflexión presináptica seguida del fEPSP obtenido de 7 experimentos independientes (50 eventos por experimento).

- El tratamiento neonatal con MK-801 modifica las propiedades sinápticas de la región CA1 del hipocampo

Para determinar la máxima capacidad responsiva de la sinapsis formada por las colaterales de Schaffer y CA1, se realizaron curvas de entrada-salida (I-O, por sus siglas en inglés). Adicionalmente, para minimizar el reclutamiento adicional de fibras excitadoras durante la estimulación eléctrica, el estímulo aplicado se limitó a un rango que no modificara la latencia del fEPSP (ilustrado en el panel superior en la figura 12A). En respuesta a la estimulación eléctrica (incrementos de 10 μ A), en condición control a los 30 DPN, el fEPSP alcanzó una amplitud máxima de 10.8 ± 2.29 mV ($n = 10$ rebanadas/5 animales; panel superior de la figura 12A, símbolos blancos). En contraste, las respuestas sinápticas de animales tratados con MK-801 presentaron una saturación a la estimulación eléctrica y alcanzaron una amplitud máxima de 2.99 ± 0.39 mV ($n = 10$ rebanadas / 5 animales; panel superior, Figure 12A, símbolos grises). La latencia de las respuestas evocadas fue similar en condiciones control y MK-801 (Latencia del fEPSP a los 30 DPN en condición control = 2.03 ± 0.1 ms y en animales tratados con MK-801 = 1.99 ± 0.07 ms; $p = 0.52$. Panel superior Figura 12A). Por otra parte, a los 90 DPN, la curva I-O control mostró una reducción gradual en respuesta a la estimulación eléctrica de los fEPSP. Sin embargo, esta reducción es esperada, debido a que el desarrollo postnatal modifica las propiedades de liberación de las sinapsis excitadoras del hipocampo (Foster, 1995; Papatheodoropoulos & Kostopoulos, 2000). Aun así, los registros provenientes de los animales tratados con MK-801 presentaron saturación y una disminución del fEPSP comparados a su control (valor máximo del fEPSP a los 90 DPN en condiciones control = 6.68 ± 0.56 mV; $n = 11$ rebanadas / 7 animales; en animales tratados con MK-801 = 2.64 ± 0.43

mV; n = 11 rebanadas / 7 animales). Además, la latencia de las respuestas de los animales MK-801 presentó una disminución significativa en comparación con el control (latencia de las respuestas sinápticas evocadas a los 90 DPN en animales control = 1.87 ± 0.06 ms y en animales tratados con MK-801 = 1.77 ± 0.03 ; $p < 0.01$. Panel superior, Figura 12B). Adicionalmente se exploró si el tratamiento con MK-801 modifica la facilitación por pulso pareado (PPF). Primero, estudiamos el PPF usando un rango amplio de estimulación (50-1000 ms). A los 30 DPN en la condición control, se observó una facilitación muy marcada (Figura 12C, símbolos blancos; 5 rebanadas/ 5 animales). En contraste, el tratamiento con MK-801 produjo una disminución del mismo parámetro (símbolos grises; n = 5 rebanadas /5 animales). A los 90 DPN, la PPF presenta una disminución significativa comparada con la facilitación observada a los 30 DPN, pero no se observó un decremento adicional en los animales tratados con MK-801 (Figura 12D; n = 5 rebanadas / 5 animales para ambas condiciones). La gráfica de cajas en la Figura 12E resume los valores de la PPF (60 ms intervalo inter-estimulo-9 obtenido a los 30 y 90 DPN para todas las condiciones experimentales (PPF a los 30 DPN en animales control = 1.47 ± 0.01 ; n = 30 rebanadas / 28 animales y en animales tratados con MK-801 = 1.29 ± 0.02 ; n = 30 rebanadas / 22 animales; prueba U de Mann Whitney $p < 0.001$. PPF a los 90 DPN en animales control = 1.30 ± 0.02 ; n = 30 rebanadas / 19 animales y, en animales tratados con MK-801 = 1.25 ± 0.009 ; n = 30 rebanadas / 13 animales; $p < 0.04$; Figura 12C). Ejemplos representativos de las respuestas durante el pulso pareado en las diferentes condiciones experimentales se muestran en la Figura 12F.

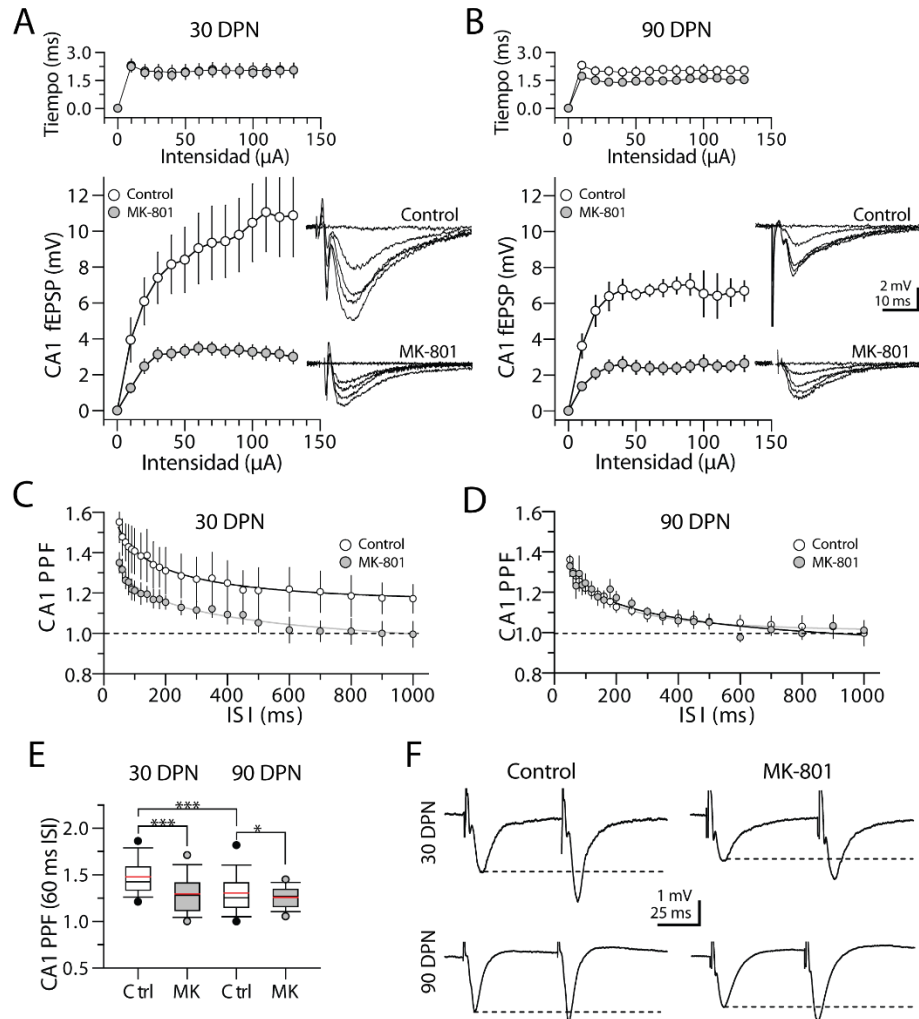


Figura 12. La exposición neonatal con MK-801 disminuye la fuerza sináptica de la región CA1 del hipocampo. **A, B** Curvas I-O realizadas a los 30 y 90 DPN en control (símbolos blancos) y animales tratados con MK-801 (símbolos grises). El panel superior muestra la latencia de las respuestas evocadas en CA1 durante las curvas I-O para todas las condiciones experimentales, medidas del término del artefacto de estimulación al inicio de la respuesta del fEPSP. Los animales tratados con MK-801 presentan una reducción sistemática en la amplitud del fEPSP. Los insertos muestran trazos representativos para todas las condiciones experimentales. **C, D** Scatter plots donde se resumen el radio de la facilitación por pulso pareado (PPF, explorado entre 50 y 1000 ms ISI), en animales control y tratados con MK-801 (símbolos blancos y grises respectivamente) a los 30 y 90 DPN. A los 30 DPN, la PPF muestra un incremento en la magnitud de facilitación en condiciones control y una disminución en los animales tratados con MK-801. Sin embargo, la proporción de la facilitación no muestra una disminución adicional a los 90 DPN. **E** Grafica de cajas indicando la media de la facilitación por pulso pareado (línea roja) para cada condición experimental. La línea negra dentro de la gráfica indica la mediana; el límite inferior y superior indican el 25 y 75 del percentil de la distribución de la PPF. Las líneas que delimitan a la caja indican el 10 y 90 percentil. Los símbolos representan valores atípicos de la distribución normalizada. **F** Trazos representativos de la facilitación por pulso pareado del promedio de 5 barridos consecutivos mostrando la respuesta típica obtenida en las condiciones y edad indicada. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

- A los 90 DPN, el tratamiento neonatal con MK-801 produce una marcada alteración en las fases tempranas de LTD y LTP en la región CA1 del hipocampo

Datos previos (Hernandez Frausto M, Tesis Maestría), indicaron que a los 30 DPN hay una disminución en la inducción de LTP sin modificaciones en la inducción de LTD. En los siguientes experimentos, exploramos las capacidades de plasticidad de la región CA1 a los 90 DPN. Se usaron rebanadas frescas de hipocampo de animales de 90 DPN para los registros electrofisiológicos. Se obtuvo una respuesta basal seguida de estimulación de baja frecuencia (LFS, 900 pulsos a un 1hz). La LFS produjo una depresión de la respuesta sináptica (fEPSP a los 60 minutos post LFS = $69.3 \pm 3.3\%$ de acuerdo con la basal; prueba U de Mann Whitney $p < 0.01$; Figura 13B, símbolos blancos). Después de este periodo de registro, se incrementó la corriente de estimulación para que la respuesta deprimida alcanzara una amplitud similar a la respuesta basal. Alcanzadas estas condiciones, se adquirió una segunda basal de fEPSPs durante 15 minutos. Tras este periodo, se aplicó estimulación de alta frecuencia (HFS; 100 pulsos a 100 Hz, repetido 2 veces) para inducir LTP. La HFS produjo una potenciación post-tetánica (PTP) seguida de un incremento estable de la pendiente del fEPSP (PTP = $267.02 \pm 24.3\%$ con respecto a la basal; $p < 0.001$; fEPSP a los 60 min post HFS = $170.62 \pm 15\%$ de acuerdo con la basal; $p < 0.001$; $n = 11$ rebanadas / 8 animales; Figure 13B, símbolos blancos). En marcado contraste, los animales tratados con MK-801 mostraron una disminución en la capacidad para expresar LTD y LTP. La LFS indujo depresión transitoria que se convirtió en potenciación sináptica a los 60 minutos (fEPSP a los 60 min post-LFS = $144.2 \pm 11\%$ de acuerdo con la basal; $p < 0.001$). De forma similar, la HFS produjo una menor PTP y no fue capaz de inducir potenciación de la pendiente del fEPSP (PTP = $229.56 \pm 26.4\%$ con respecto a la basal; $p < 0.001$; pendiente de la fEPSP a los 60 min post HFS = $94 \pm 5.6\%$ de acuerdo con la basal; $p > 0.05$; $n = 11$ rebanadas/8 animales; Figura 13B, símbolos grises). Los trazos

representativos de ambas condiciones experimentales se muestran en la Figura 13A y, la magnitud del cambio en la pendiente del fEPSP se muestran en la Figura 13C y figura 13D, respectivamente. En conjunto, estos resultados muestran que los animales tratados neonatalmente con MK-801 presentan un mal funcionamiento en la inducción de la plasticidad sináptica (LTD y LTP) de la región CA1 a los 90 DPN.

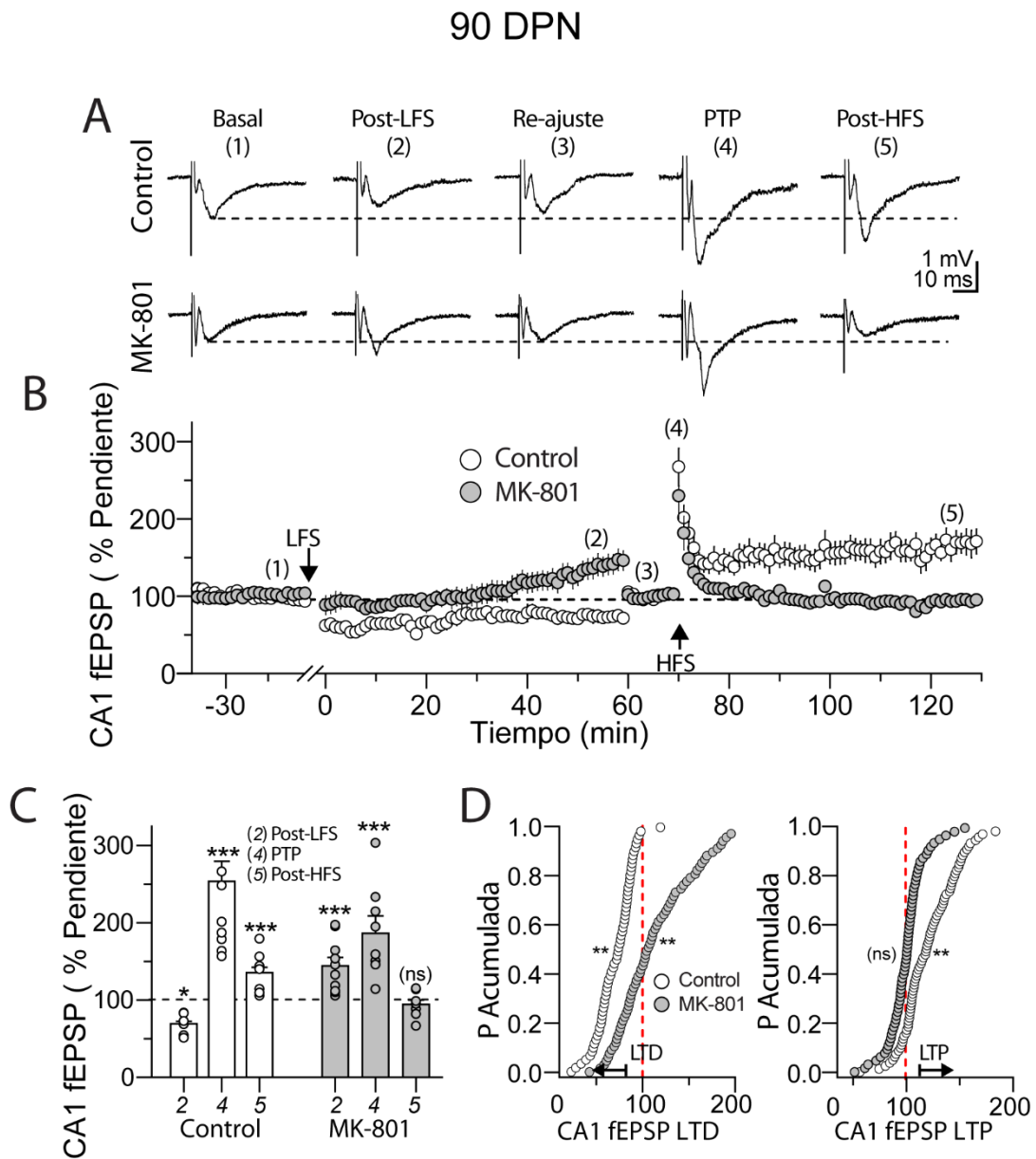


Figura 13. El tratamiento neonatal con MK-801 modifica la inducción de la depresión a largo plazo y de la potenciación a largo plazo a los 90 DPN. **A)** Trazos representativos (promedio de 5 barridos consecutivos) de fEPSP de la región CA1 a los 90 DPN, obtenidos a los tiempos indicados en la gráfica de curso temporal. **B)** Curso temporal resumiendo la respuesta de la LFS seguida de la HFS en rebanadas de animales de 90 DPN en condiciones control (n =, símbolos blancos) y de MK-801 (n = 11, símbolos grises). **C)** Grafico de barras donde se resume la respuesta de la pendiente del fEPSP a (2) la LFS, (4) PTP y, (5) la potenciación en animales control y tratados con MK-801 (barras blancas y grises, respectivamente). La línea horizontal punteada representa la respuesta media para cada experimento y la barra representa la respuesta promedio; el error indica la SEM. **D)** Probabilidad acumulada de la distribución de las pendientes del fEPSP de rebanadas control y MK-801 de 90 DPN (círculos blancos y grises, respectivamente). *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

- El tratamiento neonatal con MK-801 modifica la plasticidad sináptica a corto plazo

Estudios previos han demostrado la relación lineal entre la magnitud del incremento sináptico y la concentración del calcio residual en la terminal presináptica (Zucker & Regehr, 2002). Ya que la cinética y magnitud de los fEPSPs durante la estimulación LFS o PTP es diferente en los animales MK-801 con respecto a los controles, se evaluó si las diferencias en estos parámetros de PTP e incremento del fEPSP. A los 30 DPN, la LFS produjo una potenciación inmediata de la amplitud del fEPSP de $124.43 \pm 2.9\%$ con respecto a la basal, que decayó a $61.7 \pm 5.4\%$ durante los 15 minutos de la estimulación (n = 11 rebanadas; Figura 14A, símbolos blancos) y presentó una constante de caída (τ_{LFS}) de 5.40 ± 0.51 min (línea roja). En contraste, los animales tratados con MK-801 presentaron una potenciación mayor ($192.8 \pm 2.28\%$ con respecto a la basal) que disminuyó a $67.9 \pm 1.95\%$ (n= 11 rebanadas; Figura 14A, símbolos grises) teniendo una menor τ_{LFS} (4.72 ± 0.32 min). A los 90 DPN, la LFS produjo una potenciación mayor en los animales tratados con MK-801 en comparación con el control (potenciación a los 90 DPN en animales control = $123.87 \pm 2.41\%$ con respecto a la basal y una depresión de $73.3 \pm 8.22\%$ durante los 15 minutos de LFS; n= 11 rebanadas; Figura 13B, símbolos blancos. Potenciación en los animales tratados con MK-801 = $155.9 \pm 5.6\%$ con respecto a la basal; depresión de $87.43 \pm 14.59\%$ n= 11 rebanadas; Figura 14B, símbolos grises). La potenciación durante la LFS

en el grupo MK-801 redujo la constante de caída (τ_{LFS} control a los 90 DPN = 4.51 ± 0.48 min. τ_{LFS} animales tratados con MK-801 = 3.49 ± 0.27 min).

Por otra parte, a los 30 DPN, la HFS produjo una fuerte PTP en condiciones control en comparación con el grupo tratado con MK-801 (PTP en condiciones control = $353.52 \pm 14.52\%$ con respecto a la basal; PTP en el grupo MK-801 = 204 ± 27.8 ; Figura 14C, símbolos blancos y grises para control y MK-801, respectivamente). La constante de caída de la PTP (τ_{PTP}) para el grupo control fue de 1.09 ± 0.1 min y de 2.46 ± 0.28 min para los animales tratados con MK-801. De forma similar, a los 90 DPN, en condición control se observó una mayor PTP y una menor τ_{PTP} que las rebanadas de animales tratados con MK-801 (PTP control = $267.01 \pm 24.36\%$ de acuerdo a la basal; control $\tau_{PTP} = 1.48 \pm 0.74$ min; PTP en el grupo MK-801 = $229.56 \pm 26.4\%$ de acuerdo a la basal y una $\tau_{PTP} = 1.80 \pm 0.13$ min; Figura 14D, símbolos blancos y grises para control y MK-801, respectivamente). En conjunto, estos resultados indican que el tratamiento neonatal con MK-801 también interfiere con el incremento residual y presináptico del calcio, el fenómeno fisiológico responsable de la facilitación sináptica, incremento en la amplitud y la potenciación del fEPSP (Zucker & Regehr, 2002).

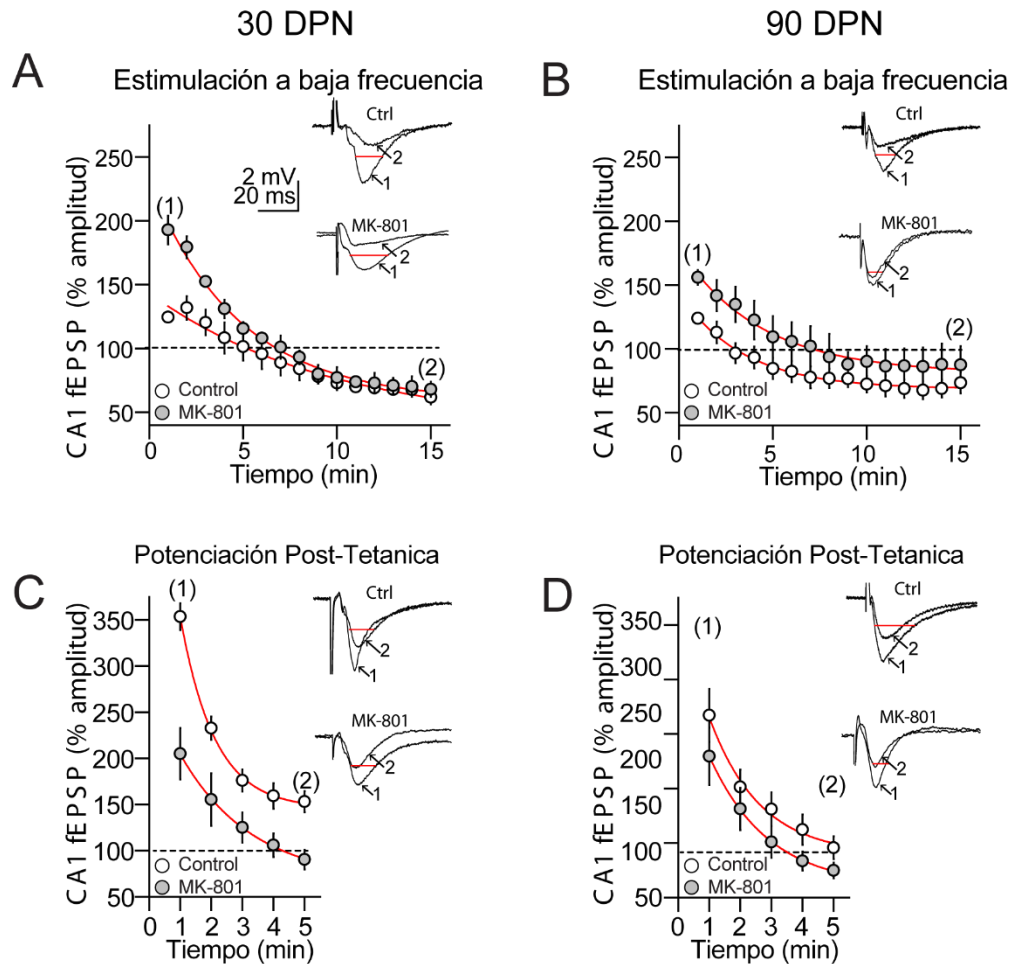


Figura 14. La exposición neonatal con MK-801 modifica la plasticidad a corto plazo de la región CA1. A,B Scatterplots donde se muestra la cinética del cambio en la amplitud del fEPSP durante la LFS (900 pulsos, 1 Hz) en animales control y tratados con MK-801 (símbolos blancos y grises) a los 30 y 90 DPN (paneles izquierdo y derecho, respectivamente). Las rebanadas de animales tratados con MK-801 presentaron una facilitación mayor en respuesta a la estimulación eléctrica. Los trazos muestran (1) la facilitación máxima inicial y (2) la amplitud del fEPSP al final de la LFS. La línea punteada roja indica el promedio de la amplitud del fEPSP durante la adquisición de la basal. **C,D** Scatterplots contruidos de la amplitud del fEPSP durante la potenciación posttetánica (inmediatamente después de la HFS). La magnitud de la PTP fue similar en condiciones control a los 30 y 90 DPN y disminuyó en rebanadas de animales tratados con MK-801.

- El tratamiento neonatal con MK-801 altera la expresión de la fase tardía de la LTP a los 30 DPN

Existen diversos estudios que evalúan el papel de la fase tardía de la LTP como el mecanismo molecular que subyace a la consolidación de la memoria en la región CA1 del hipocampo (Huang & Kandel, 1994; U. Frey, Y.-Y. Huang,

1993). De igual forma, la activación farmacológica de la cascada de señalización adenilato ciclasa (AC) -AMPC induce la L-LTP in vitro hasta por 6 horas. A nivel experimental, la activación de la AC se logra aplicando su activador selectivo, forskolina (50 μ M) en combinación con el inhibidor no específico de fosfatasa, IBMX (50 μ M).

En condición control, se observó que la perfusión de forskolina e IBMX (FSK-IBM, 25 min) produce un incremento sostenido de la pendiente del fEPSP que persiste por lo menos cuatro horas (Control = fEPSP durante la FSK/IBM 302 \pm 60 % en comparación con la basal; fEPSP a los 120 min: 233 \pm 52 %; a los 240 min 169 \pm 24%, n= 11, círculos blancos. Figura 15). Sin embargo, en rebanadas obtenidas de animales MK-801, la FSK+IBM no fue capaz de mantener el incremento de la pendiente del fEPSP (FSK/IBM 119 \pm 25%; a los 120 minutos: 67 \pm 13 %; a los 240 minutos: 50 \pm 12; n= 11, círculos grises)

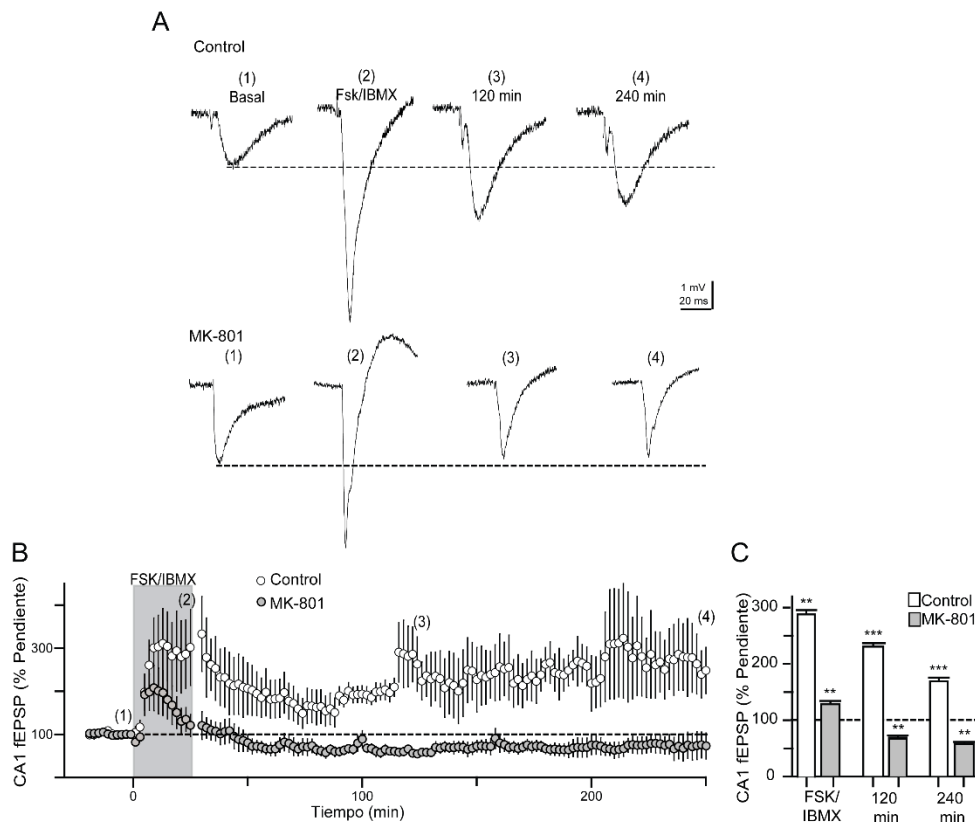


Figura 15. El tratamiento neonatal con MK-801 modifica la expresión de la fase tardía de la LTP a los 30 DPN. A) Trazos representativos obtenidos de animales control y tratados neonatalmente con MK-801 evaluados a los 30 DPN. **B)** Curso temporal del promedio de 11 experimentos por grupo de rebanadas obtenidas de animales control y de animales tratados neonatalmente con MK-801 (círculos blancos y grises, respectivamente). La perfusión de FSK-IBM durante 25 minutos induce una

potenciación del fEPSP estable y sostenido durante 4 horas en condiciones control. En contraste, la perfusión de FSK-IBMX no produce el mismo efecto en rebanadas de animales tratados con MK-801, observándose un incremento transitorio seguido de una caída por debajo de los niveles basales. **C)** Grafico de barras donde se resume el efecto de la perfusión de FSK-IBMX sobre la pendiente del fEPSP en condiciones control y MK-801 a distintos tiempos (Barras blancas y grises, respectivamente) ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

- El tratamiento neonatal con MK-801 altera el mantenimiento de la fase tardía de la LTP a los 90 DPN

De igual manera se evaluó el estado de la fase tardía, en el grupo control y en animales MK-801 adultos (90 DPN). En condición control, la perfusión de FSK-IBMX indujo un incremento en la pendiente del fEPSP por 4 horas (fEPSP durante la FSK/IBMX 276 ± 39 %; fEPSP a los 120 min post-FSK/IBMX 153 ± 17 %; fEPSP a los 240 min post-FSK/IBMX 222 ± 56 % en comparación con la basal, $n = 7$, Figura 16, círculos blancos). En contraste, en rebanas de animales MK-801, la combinación FSK-IBMX produjo un incremento transitorio en el fEPSP seguido de una depresión sináptica (fEPSP durante la FSK/IBMX 130 ± 21 %; fEPSP a los 120 min post-FSK/IBMX 85 ± 18 %; 240 min post-FSK/IBMX 65 ± 12 % con respecto a la basal, $n = 6$; Figura 16, círculos grises). Este resultado sugiere que la hipofunción de los receptores de glutamato, inducida por el tratamiento neonatal con MK-801, causa modificaciones a largo plazo en la funcionalidad de las sinapsis hipocampales.

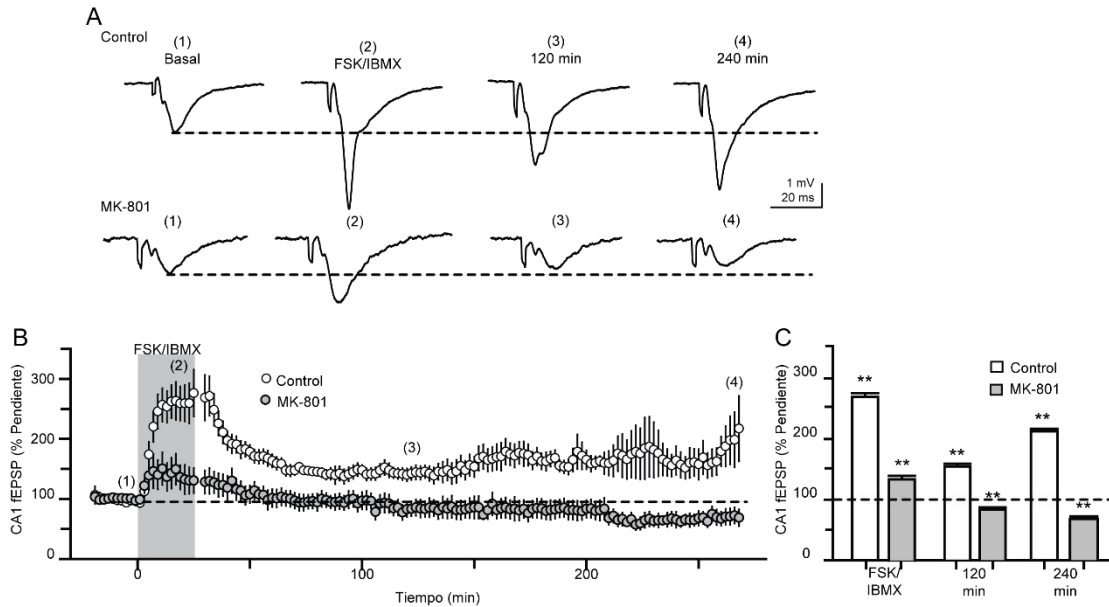


Figura 16. El tratamiento neonatal con MK-801 impide la expresión de la fase tardía de la LTP a los 90 DPN. A) Trazos representativos de fEPSP obtenidos de animales control y tratados neonatalmente con MK-801 de 90 DPN. **B)** Curso temporal del promedio de 7 y 6 experimentos (control y MK-801, círculos blancos y grises, respectivamente). La perfusión de FSK-IBMX durante 25 minutos produce una potenciación del fEPSP que se mantiene estable durante 4 horas en condiciones control. En marcado contraste, la perfusión de FSK-IBMX no es capaz de mantener el incremento, observándose un incremento transitorio seguido de una caída a niveles basales. **C)** Grafico de barras que resume el efecto de la perfusión de FSK-IBMX sobre la pendiente del fEPSP en condiciones control y MK-801 a distintos tiempos (barras blancas y grises, respectivamente) **p<0.01.

Tras la identificación de las alteraciones conductuales asociadas al hipocampo y de plasticidad sináptica de la región CA1, evaluamos si la dopamina, vía sus receptores D1-like, es capaz de revertir el daño conductual y de plasticidad sináptica producido por el tratamiento neonatal con MK-801.

- Efecto de la administración intra-hipocampal en la región CA1 dorsal del agonista dopaminérgico D1-like SKF-38393 en el desempeño en el laberinto de Barnes a los 30 DPN

Durante el aprendizaje existen diversas etapas que permiten determinar el establecimiento de memorias en el hipocampo y las cuales, se cree están asociadas a la modulación dopaminérgica en el hipocampo. En la figura 17 se

muestra la latencia para encontrar el cajón de escape durante el entrenamiento y prueba en animales a los 30 DPN a los que se les infundió por vía intrahipocampal vehículo (solución salina 0.9 %) o SKF-38393 (barras azules y amarillas, respectivamente). Durante el entrenamiento los animales tratados neonatalmente con MK-801 que recibieron salina (MK-801/Salina) presentaron una marcada disminución en la latencia para encontrar el cajón de escape al cuarto día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 19.140$ con 3 grados de libertad; $p<0.001$; barras azules, Figura 17, panel A). De forma similar, los animales tratados con MK-801 neonatal tratados con SKF-38393 (MK-801/SKF-38393) presentaron una disminución en la latencia para encontrar el cajón de escape a partir del tercer día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 30.641$ con 3 grados de libertad; $p<0.001$; barras amarillas, Figura 17, panel A), observándose diferencias hasta el cuarto día de entrenamiento entre ambos grupos. En contraste el día de la prueba, los animales a los tratados con vehículo (MK-801/Salina) requirieron un tiempo mayor para encontrar el cajón de escape en comparación con los animales tratados con el agonista dopaminérgico tipo-D1 (MK-801/SKF38393) (MK-801/Salina barra azul; MK-801/SKF38393 barra amarilla, prueba U de Mann Whitney $p<0.05$; Figura 17, panel B), lo que nos sugiere que el agonista dopaminérgico D1-like mejora la consolidación de la memoria en los animales tratados neonatalmente con MK-801 desde los 30 DPN. Nuestros resultados indican que en animales tratados neonatalmente con MK-801 evaluados a los 30 DPN, la latencia para encontrar el cajón de escape durante el establecimiento de la memoria incrementa de manera significativa en la prueba conductual de laberinto de Barnes.

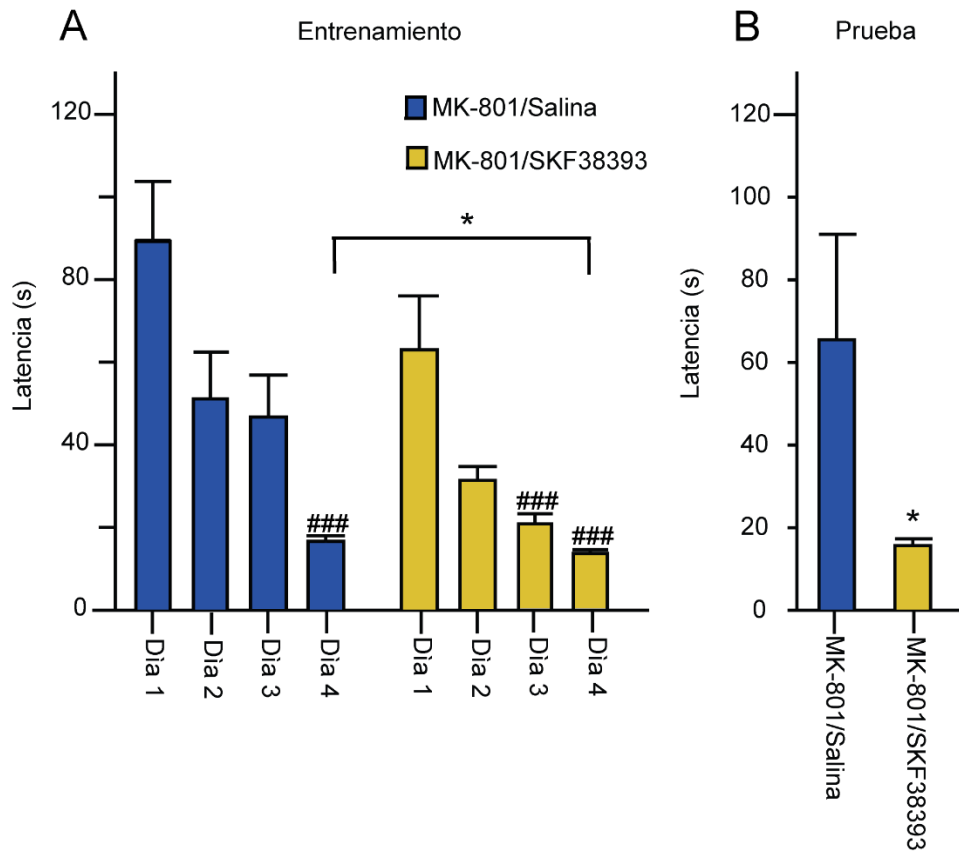


Figura 17. Latencia en segundos para encontrar el cajón de escape en el laberinto de Barnes a los 30 DPN en animales tratados neonatalmente con MK-801 divididos en grupo salina y grupo SKF-38393. A) Latencia en segundos para encontrar el cajón de escape durante 4 días de entrenamiento. B) Latencia para encontrar el cajón de escape durante la prueba entre ambos grupos, tras la administración intrahipocampal del agonista dopaminérgico D1-like (SKF-38393, barra amarilla, n= 11) y vehículo (solución salina, barra azul, n= 9). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### p<0.05, *p<0.05 prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. *p<0.05 prueba U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

En cuanto al número de errores para encontrar el cajón de escape, en la figura 18 se muestra que durante el entrenamiento el grupo tratado con vehículo (MK-801/Salina, barras azules) presentó una disminución significativa en el número de errores para encontrar el cajón de escape hasta el cuarto día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 15.240$ con 3 grados de libertad; $p=0.002$; barras azules, Figura 18, panel A). De forma similar, los animales tratados el agonista D1-like (MK-801/SKF-38393) presentaron una disminución en la latencia para encontrar el cajón de escape a partir del tercer

día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's H= 24.645 con 3 grados de libertad; $p < 0.001$; barras amarillas, Figura 18, panel A). En contraste, los animales que recibieron vehículo (MK-801/Salina) presentaron un número mayor de errores para encontrar el cajón de escape en comparación al grupo que fue inyectado con el agonista dopaminérgico (MK-801/SKF38393) (prueba U de Mann Whitney $p = 0.022$; MK-801/Salina barras azules, MK-801/SKF38393 barras amarillas, respectivamente. Figura 18, panel B). En conjunto estos resultados nos sugieren, que la inyección del agonista dopaminérgico D1-like mejora la consolidación de la memoria en animales de 30 DPN tratados neonatalmente con MK-801.

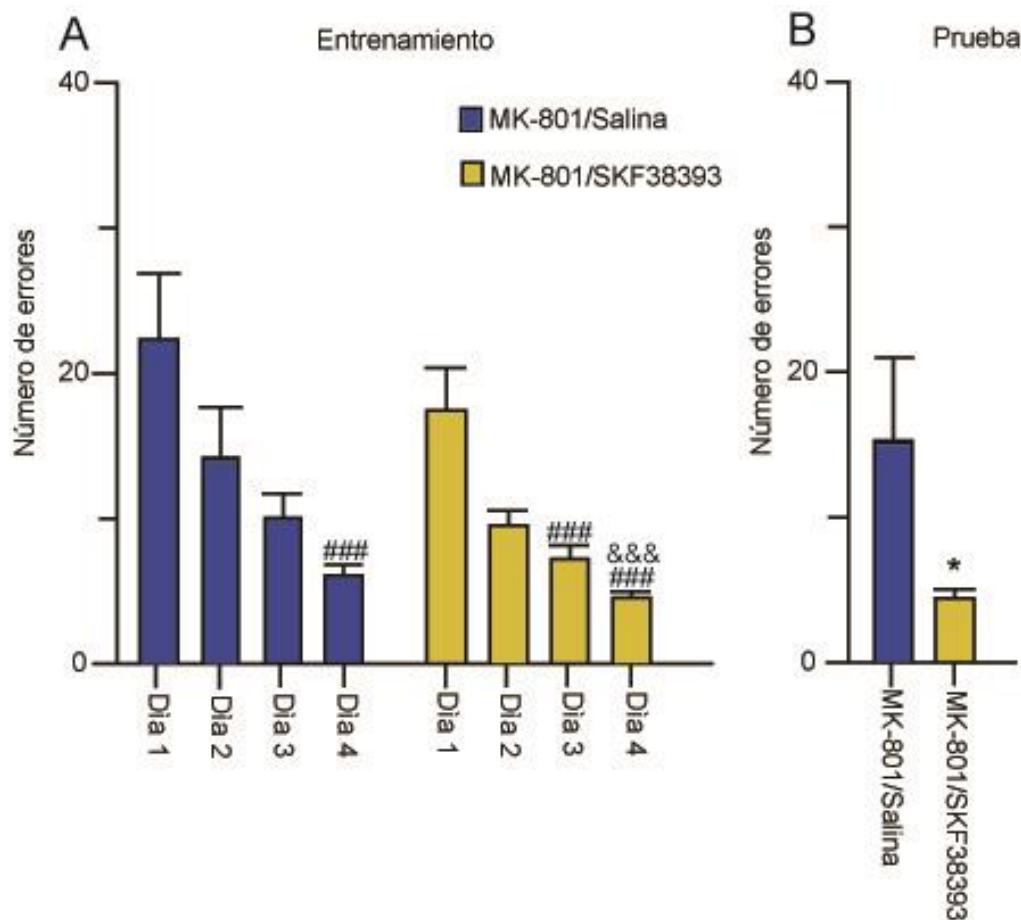


Figura 18. Número de errores para encontrar el cajón de escape en el laberinto de Barnes 30 DPN en animales tratados neonatalmente con MK-801 divididos en grupo MK-801/salina y grupo MK-801/SKF-38393. A) Número de errores para encontrar el cajón de escape durante 4 días de entrenamiento. B) Número de errores en encontrar el cajón de escape durante la prueba entre ambos grupos, tras la administración intrahipocampal del agonista dopaminérgico D1-like (SKF-38393, barra amarilla, $n = 11$) y vehículo (solución salina, barra azul, $n = 9$). Prueba de

Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días contra el primer día ### $p < 0.05$ y entre el segundo con el día tres y cuatro && $p < 0.001$, prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. * $p < 0.05$ prueba U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

- Efecto de la administración intra-hipocampal de SKF-38393 en animales de 90 DPN sobre el desempeño en el laberinto de Barnes

En la figura 19 se muestran la latencia para encontrar el cajón de escape durante el entrenamiento y prueba en animales de 90 DPN a los que se les infundió por vía intra-hipocampal vehículo (solución salina 0.9 %) o SKF-38393 (barras azules y amarillas, respectivamente). Durante el entrenamiento los animales tratados neonatalmente con MK-801 a los que se les infundió el vehículo (MK-801/salina) presentaron una marcada disminución en la latencia hasta el cuarto día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 9.007$ con 3 grados de libertad; $p = < 0.029$; barras azules, Figura 19, panel A). Por otro lado, los animales tratados con MK-801 a los que se les infundió el agonista D1-like (MK-801/SKF-38393) no presentaron una disminución significativa en la latencia para encontrar el cajón de escape durante el entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H = 3.284$ con 3 grados de libertad, $p = 0.350$; barras amarillas, Figura 19, panel A). Durante la fase de prueba, los animales a los que se les infundió el vehículo (MK-801/Salina) presentaron un mayor tiempo para encontrar el cajón de escape en comparación a los que se les infundió el agonista dopaminérgico D1-like (MK-801/SKF38393) (MK-801/Salina, barra azul; MK-801/SKF38393, barra amarilla; prueba U de Mann Whitney $p < 0.01$, Figura 19, panel B). Estos resultados en conjunto con los obtenidos en animales adolescentes (Figura 18, panel B) nos sugieren que la activación de los receptores dopaminérgicos D1-like previo a la fase de retención mejora la consolidación de la memoria en animales que fueron sometidos a un tratamiento neonatal con un antagonista glutamatérgico (MK-801). A su vez, los datos obtenidos durante la fase de

adquisición (entrenamiento) nos indican que, durante la etapa adulta, los animales presentan una mayor alteración en aprender y encontrar el cajón de escape.

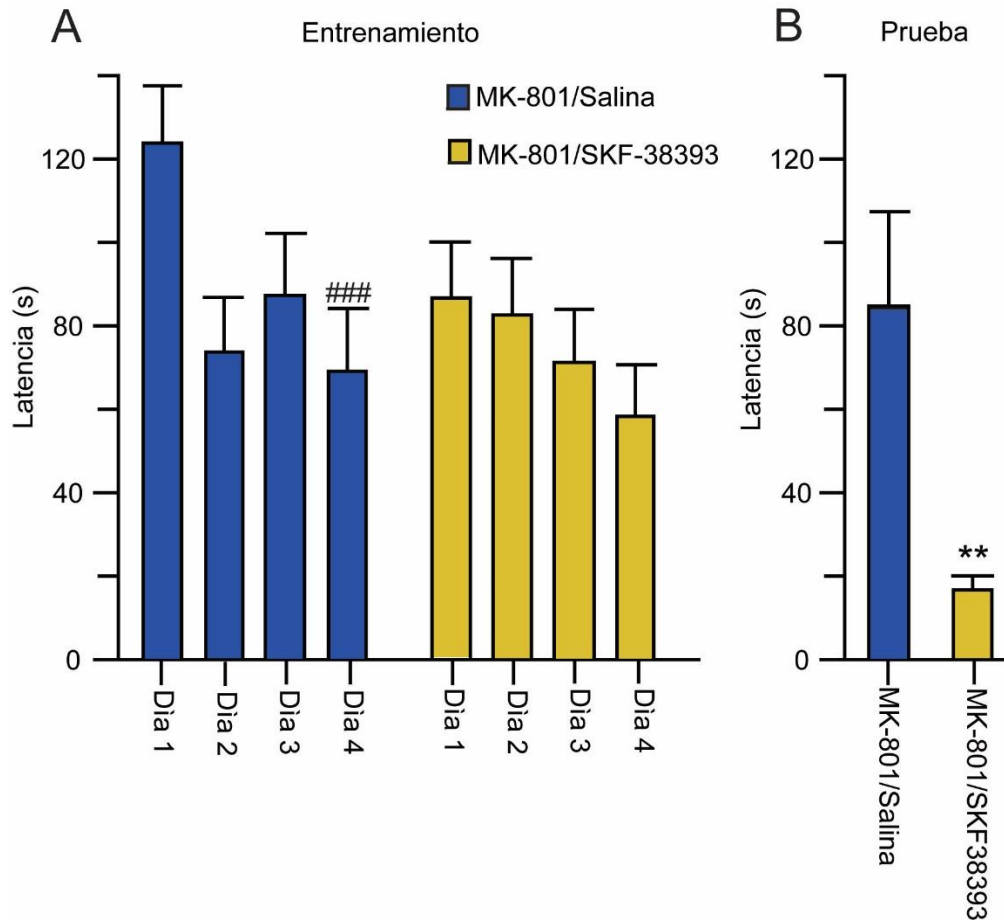


Figura 19. Latencia en segundos para encontrar el cajón de escape en el laberinto de Barnes 90 DPN en animales tratados neonatalmente con MK-801 divididos en grupo MK-801/salina y grupo MK-801/SKF-38393. A) Latencia en segundos para encontrar el cajón de escape durante 4 días de entrenamiento. B) Latencia para encontrar el cajón de escape durante la prueba entre ambos grupos, tras la administración intrahipocampal del agonista dopaminérgico D1-like (SKF-38393, barra amarilla, n= 14) y el vehículo (solución salina, barra azul, n= 12). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días ### p<0.05, prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. **p<0.01 prueba U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

Después, se midió el número de errores para encontrar el cajón de escape en animales tratados con MK-801 neonatal y que se les infundió el vehículo (MK-

801/Salina) y a los cuales se les infundió el agonista D1-like (MK-801/SKF38393). Durante el entrenamiento el grupo MK-801/Salina presentó una disminución significativa del número de errores para encontrar el cajón de escape hasta el cuarto día de entrenamiento (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 9.382$ con 3 grados de libertad; $p= 0.025$; barras azules, Figura 20, panel A). Por otro lado, el grupo MK-801/SKF38393 no presentó una disminución significativa durante el entrenamiento en el número de errores para encontrar el cajón de escape (Kruskal Wallis seguido de Dunn's $H= 1.013$ con 3 grados de libertad; barras amarillas, Figura 20, panel A). Sin embargo, durante la fase de prueba, los animales MK-801/Salina a los que se les infundió el vehículo presentaron un mayor número de errores para encontrar el cajón de escape en comparación con el grupo MK-801/SKF38393 (MK-801/Salina, barra azul; MK-801/SKF38393, barra amarilla, prueba U de Mann Whitney $n=0.024$. Figura 20, panel B). En conjunto nuestros resultados de animales que fueron inyectados vía intrahipocampal con el agonista dopaminérgico tipo-D1 presentaron una mejora significativa en la retención de la memoria lo que nos sugiere cambios en los niveles de dopamina en animales tratados con MK-801 que se asocian a alteraciones en los procesos cognitivos del hipocampo.

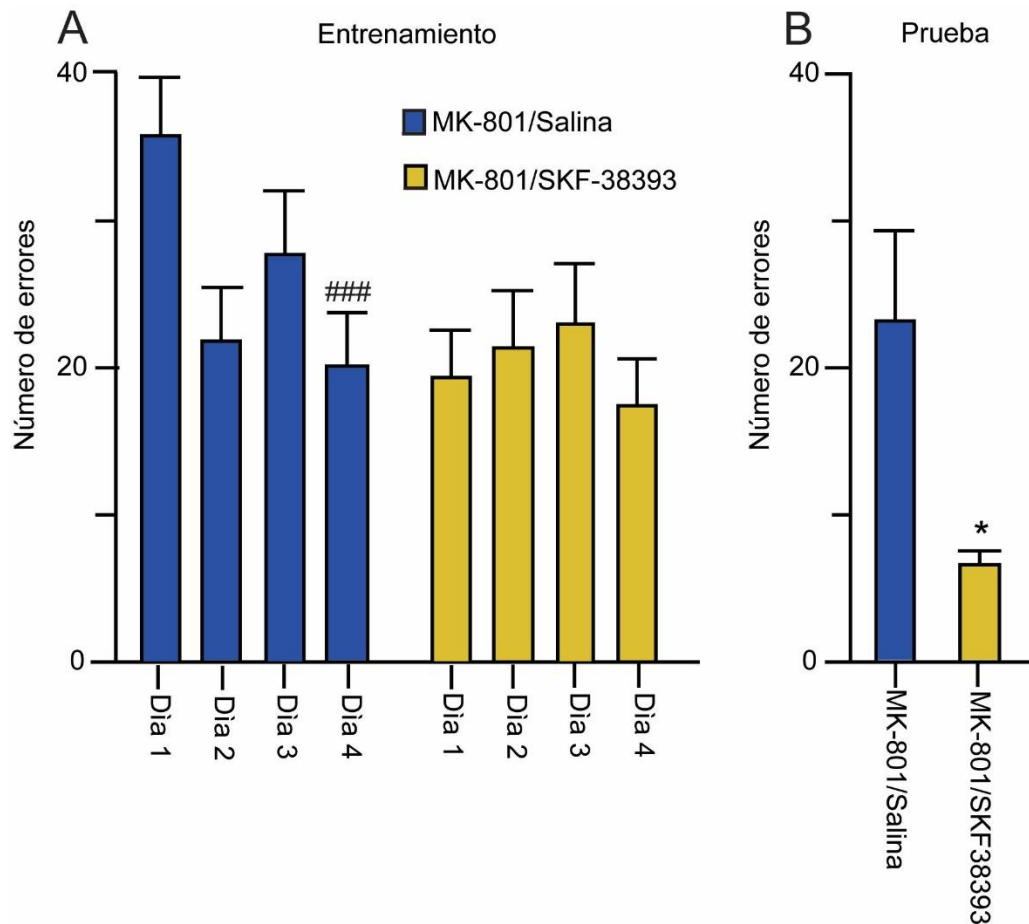


Figura 20. Número de errores para encontrar el cajón de escape en el laberinto de Barnes 90 DPN en animales tratados neonatalmente con MK-801 divididos en grupo MK-801/salina y grupo MK-801/SKF-38393. A) Número de errores para encontrar el cajón de escape durante 4 días de entrenamiento. B) Número de errores en encontrar el cajón de escape durante la prueba entre ambos grupos, tras la infusión intrahipocampal del agonista dopaminérgico D1-like (SKF-38393, barra amarilla, n= 14) y vehículo (solución salina, barra azul, n= 12). Prueba de Kruskal Wallis seguido de Dunn's comparando el mismo grupo en los distintos días contra el primer día ### p<0.05, prueba U de Mann Whitney para comparar el mismo día entre los distintos grupos. *p<0.05 prueba U de Mann Whitney para comparar los distintos grupos el día de la prueba.

- A los 30 DPN, la perfusión del agonista tipo-D1 facilita el mantenimiento de la fase tardía de la LTP en rebanadas de animales tratados neonatalmente con MK-801

En la figura 21 se muestran los efectos de la perfusión de FSK/IBMX en rebanadas obtenidas de animales MK-801 de 30 DPN y un segundo grupo experimental en presencia del agonista dopaminérgico tipo-D1 (SKF38393). En las rebanadas de los animales MK-801 el tratamiento con FSK/IBMX no induce la fase tardía de la LTP (FSK/IBMX $119 \pm 25\%$; a los 120 minutos: $67 \pm 13 \%$; a los 240 minutos: 50 ± 12 ; n= 11, símbolos grises). Sin embargo, en rebanadas tratadas con MK-801 en presencia adicional de SKF38393 (20 minutos de basal, 25 minutos con FSK/IBMX, y 10 minutos post-FSK/IBMX) se observó un incremento sostenido del fEPSP que continuó hasta el final del experimento (FSK/IBMX 359.54 ± 54.17 ; a los 120 minutos: 232.16 ± 39.69 ; a los 240 minutos: 167.36 ± 7.26 ; n= 8). En conjunto, estos experimentos sugieren que la activación farmacológica de los receptores D1-like revierte los daños en la plasticidad sináptica inducidos por la administración neonatal de MK-801.

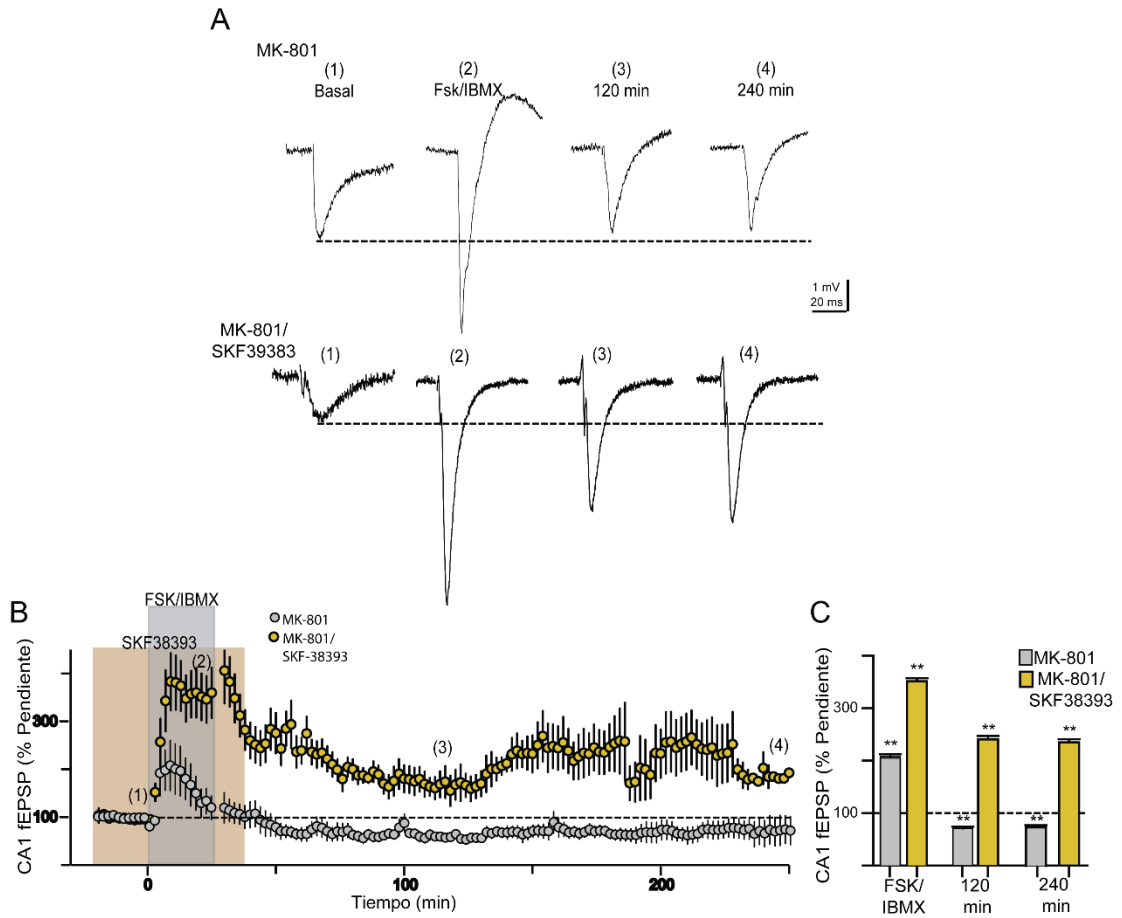


Figura 21. Expresión y mantenimiento (fase tardía) de la LTP en animales tratados neonatalmente con MK-801 evaluados a los 30 DPN tras la activación de los receptores dopaminérgicos tipo-D1. A) Trazos representativos obtenidos de animales de 30 DPN tratados con MK-801 sin y con presencia del fármaco SKF-38393. B) Curso temporal del promedio de experimentos independientes de animales tratados con MK-801 sin y con perfusión del agonista tipo-D1 (círculos grises y amarillos respectivamente). La perfusión de FSK/IBMX induce un incremento transitorio y un decaimiento por debajo de la basal durante las 4 horas de registro en rebanadas de animales tratados con MK-801. En marcado contraste, las rebanadas a las que se les perfundió el agonista tipo-D1 presentan un incremento en la pendiente del fEPSP que se mantiene durante todo el registro. C) Grafico de barras que resume el efecto de la perfusión de FSK/IBMX sobre la pendiente del fEPSP en ambas condiciones. U de Mann Whitney $p < 0.01$.

- A los 90 DPN, la perfusión del agonista tipo-D1 promueve el mantenimiento de la fase tardía de la LTP en rebanadas de animales tratados neonatalmente con MK-801

Finalmente, se determinó si el tratamiento con el agonista tipo-D1 a los 90 DPN promueve el mantenimiento de la fase tardía de la LTP. Comparado con el control, el tratamiento con FSK/IBMX en rebanadas de 90 DPN de animales tratados con MK-801 causa una potenciación transitoria seguido por depresión sináptica (FSK/IBMX 130.48 ± 20.85 %; a los 120 minutos 85.80 ± 18.42 ; a los 240 minutos 64.66 ± 12.22 %; $n = 7$, símbolos grises, figura 22). En marcado contraste, cuando las rebanadas de los animales MK-801 fueron tratados con SKF-38393 la pérdida de la fase tardía de la LTP fue completamente revertida (FSK/IBMX 241.91 ± 54 %; a los 120 minutos post FSK/IBMX: 202.39 ± 47.39 %; 240 minutos post FSK/IBMX: 200 ± 26.96 %; $n= 6$, símbolos amarillos, figura 22). Estos experimentos indican que, en la etapa adulta, la estimulación farmacológica de los receptores D1-like revierte el daño cognitivo y de plasticidad sináptica inducido por la hipofunción glutamatérgica durante el desarrollo temprano postnatal. Conjuntamente, estos resultados abren una ventana terapéutica para tratar ciertas alteraciones asociadas a la esquizofrenia que a continuación se discuten.

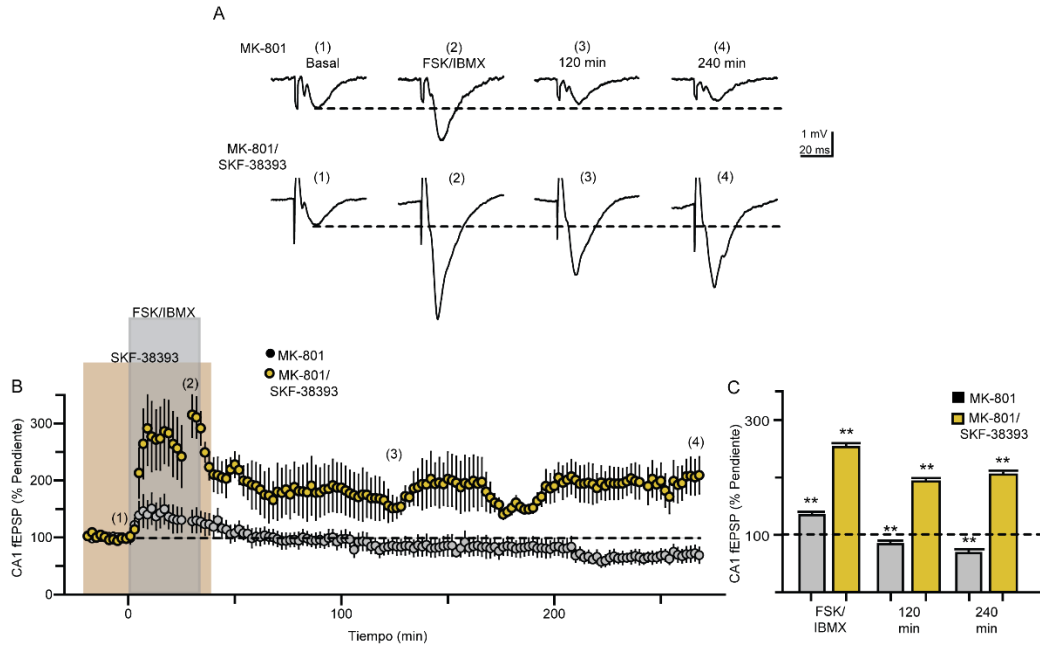


Figura 22. Expresión y mantenimiento (fase tardía) de la LTP en animales tratados neonatalmente con MK-801 evaluados a los 90 DPN tras la activación de los receptores dopaminérgicos tipo-D1. A) Trazos representativos obtenidos de animales de 30 DPN tratados con MK-801 sin y con presencia del fármaco SKF-38393. B) Curso temporal del promedio de experimentos independientes de animales tratados con MK-801 sin y con perfusión del agonista tipo-D1 (círculos grises y amarillos respectivamente). La perfusión de FSK/IBMX induce un incremento transitorio y un decaimiento por debajo de la basal durante las 4 horas de registro en rebanadas de animales tratados con MK-801. En marcado contraste, las rebanadas a las que se les perfundió el agonista tipo-D1 presentan un incremento en la pendiente del fEPSP que se mantiene durante todo el registro. C) Grafico de barras que resume el efecto de la perfusión de FSK/IBMX sobre la pendiente del fEPSP en ambas condiciones. U de Mann Whitney $p < 0.01$.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, combinando registros electrofisiológicos en rebanadas frescas de la región CA1 del hipocampo dorsal con evaluaciones conductuales en el laberinto de Barnes, una prueba específica para evaluar la memoria dependiente del hipocampo, comprobamos que en animales tratados neonatalmente con MK-801 se presentan cambios en la plasticidad sináptica y conductuales desde etapas tempranas del desarrollo postnatal (30 DPN), sin que se hayan manifestado las conductas típicas del modelo de esquizofrenia, como disminución en el reconocimiento de objetos novedosos, en la interacción social y un incremento en la inhibición por prepulso.

También demostramos que, la exposición neonatal al MK-801 causa una reducción progresiva de la fuerza sináptica en la región CA1 del hipocampo, que termina por modificar las capacidades de plasticidad de corta y larga duración en esta región cerebral. Así, desde etapas tempranas del desarrollo, como son los 30 DPN, hay un deterioro en la memoria y una falla en la inducción de procesos de plasticidad sináptica. Estas modificaciones son de mayor magnitud en la etapa adulta (90 DPN), lo que sugiere un deterioro en el aprendizaje y memoria que se acompañan de una incapacidad de inducir y mantener procesos de plasticidad sináptica de corta y larga duración en el hipocampo.

Finalmente, demostramos que la neuromodulación dopaminérgica, a través de la activación de los receptores D1-like, es capaz de revertir la disminución en los procesos de retención lo que sugiere una disminución en la síntesis de nuevas proteínas necesarias para el mantenimiento de la fase tardía de la LTP.

Estos datos muestran por primera vez, que el tratamiento neonatal con MK-801 produce cambios en la neurotransmisión del hipocampo dependientes de receptores glutamatérgicos como los procesos de memoria y aprendizaje y que la activación de receptores dopaminérgicos D1-like es capaz de revertir las deficiencias observadas en el aprendizaje y memoria en una prueba

conductual de memoria asociada al estudio del funcionamiento hipocampal y contribuye al mantenimiento de la fase tardía de la LTP.

Nuestros resultados muestran que, en animales control de 30 y 90 DPN, se presenta una disminución progresiva en la latencia y el número de errores para encontrar el cajón de escape durante la fase de entrenamiento (también denominada fase de adquisición) que se mantiene hasta la fase de prueba (fase de retención). Estos datos indican que, durante ambas etapas del desarrollo hay un periodo de aprendizaje y memoria que se ve reflejado como, una mejora del desempeño en el laberinto de Barnes que se asocia a un buen funcionamiento hipocampal (Bernabeu et al., 1997; Gorter & de Bruin, 1992; Lim, Taylor, & Malone, 2012^a) En condiciones basales, nosotros observamos que hay cambios sutiles durante el desarrollo mostrando, una mayor eficiencia en el desempeño de la prueba en los animales adultos en comparación con los jóvenes. Esto puede deberse a que durante la infancia y adolescencia se llevan a cabo procesos de poda neuronal, que se manifiestan con un incremento en la remoción de axones y de sinapsis para incrementar la eficacia sináptica en la etapa adulta del individuo (Iglesias & Villa, 2007), lo cual puede observarse como una mejora en procesos de aprendizaje durante etapas tempranas de la adultez, como lo muestran Sohji y colaboradores al evaluar los parámetros de latencia y número de errores en el laberinto de Barnes en distintos etapas del desarrollo, indicando un mejor desempeño en el laberinto de Barnes (Shoji, Takao, Hattori, & Miyakawa, 2016). En conclusión, las etapas de desarrollo evaluadas en el presente trabajo pueden reflejar la transición de la maduración hipocampal, que se da de manera natural durante distintas etapas del desarrollo.

En contraste, nuestros resultados indican que el tratamiento neonatal con MK-801 provoca un aprendizaje más lento durante la fase de adquisición y un incremento en la latencia y el número de errores para encontrar el cajón de

escape en la fase de retención en ratas macho de 30 DPN. Ambos procesos son dependientes del funcionamiento hipocampal, pero los mecanismos que subyacen a cada uno de estos procesos pueden diferir entre sí (Bernabeu et al., 1997; Broussard et al., 2016; Simpson et al., 2010). La fase de adquisición es un proceso por el cual, el roedor comienza a integrar la información espacial del entorno que le permite la localización del cajón de escape (Sunyer, Patil, Höger, & Luber, 2007), mientras que en la fase de retención el animal evoca el recuerdo acerca de la posición espacial del cajón de escape. En esta etapa el animal es más eficaz y rápido para encontrar el cajón que durante la etapa de adquisición (Harrison, Reiserer, Tomarken, & McDonald, 2006). De forma similar a nuestros datos, Hao y colaboradores usando un modelo de esquizofrenia por activación inmune prenatal, encontraron que hay un deterioro parcial para encontrar el cajón de escape durante la fase de adquisición y una alteración marcada para localizar el cajón de escape durante la fase de retención en el laberinto de Barnes en animales adolescentes de 40 DPN (Hao et al., 2019). A su vez, Li y colaboradores reportan que el tratamiento neonatal con MK-801 produce déficits en la ejecución en el laberinto acuático de Morris y en el contexto novedoso para el reconocimiento de objetos, en ratas adolescentes de 40 DPN (Li et al., 2011). En conjunto, nuestros datos y los de distintos grupos de investigación, indican que en diversos modelos de esquizofrenia, los procesos cognitivos asociados a la memoria y aprendizaje que se integran en el hipocampo comienzan a presentar alteraciones importantes desde etapas tempranas de la adolescencia, aun cuando no se hayan manifestado conductas típicas de este modelo de esquizofrenia, como son las alteraciones en la inhibición por prepulso, en el reconocimiento de objetos novedosos, la hiperlocomoción y disminución en la interacción social.

Nuestros resultados también muestran que a los 90 DPN, el tratamiento neonatal con MK-801 provoca una alteración en el desempeño del laberinto de Barnes tanto en la fase aprendizaje como de memoria, en los dos parámetros evaluados (latencia y número de errores), lo que muestra una

progresión de las alteraciones del funcionamiento hipocampal asociadas a este modelo de esquizofrenia. Esto se relaciona de forma similar con diversos estudios que analizan el papel del tratamiento con MK-801 en etapa neonatal y, en otros asociados a alteraciones durante el neurodesarrollo, en diversas conductas. Por ejemplo, Gorter y Bruin evaluaron el efecto del tratamiento neonatal con MK-801 en ratas sobre el comportamiento en el laberinto acuático de Morris a los 140 DPN y observaron un incremento en la latencia y distancia para encontrar la plataforma durante la fase de entrenamiento (Gorter & de Bruin, 1992; Lim, Taylor, & Malone, 2012a). Así mismo, McLamb y colaboradores reportan que los déficits cognitivos asociados al tratamiento neonatal con MK-801 comienzan a manifestarse hasta la etapa adulta, evaluando la latencia para encontrar la plataforma durante la fase de adquisición y retención de la prueba de laberinto acuático de Morris (Lim, Taylor, & Malone, 2012b; McLamb, Williams, Nanry, Wilson, & Tilson, 1990). Finalmente, Németh y colaboradores indican que el tratamiento neonatal con MK-801 produce alteraciones en el desempeño del laberinto radial durante las etapas de adquisición y retención al evaluar la latencia para encontrar la plataforma durante la etapa adulta del animal (Lim et al., 2012b; Németh et al., 2002).

Sin embargo, no son los únicos estudios que han evaluado las alteraciones cognitivas en ratas durante la etapa adulta en modelos de esquizofrenia basados en la alteración durante el neurodesarrollo. Takahashi y colaboradores reportan que el tratamiento prenatal con acetato de metilazoximetanol como modelo de esquizofrenia basado en alteraciones durante el neurodesarrollo produce una disminución en el desempeño del roedor en la prueba de laberinto en Y que mide la funcionalidad cognitiva durante la etapa post-puberal (Takahashi et al., 2019). De igual forma, Hao y colaboradores encontraron que la exposición prenatal con Poly I:C (ácido polinosínico-policitídílico) produce cambios en diversos paradigmas cognitivos, como la evitación pasiva y el laberinto de Barnes, que se observan como una

disminución en la latencia para entrar al lugar oscuro o al cajón de escape en ambas pruebas durante la etapa adulta del animal (Hao et al., 2019).

El déficit cognitivo observado durante la etapa adulta de los animales tratados neonatalmente con MK-801, así como en diversos modelos de esquizofrenia basados en la interrupción del neurodesarrollo adecuado, está acompañado de conductas que mimetizan los síntomas negativos y positivos de la esquizofrenia como una hiperlocomoción, alteraciones en inhibición por prepulso, disminución en la sociabilidad en la prueba de interacción social. Estudios realizados por nuestro grupo de investigación muestran que el tratamiento neonatal con MK-801 provoca alteraciones en el procesamiento sensoriomotor durante la etapa adulta en la prueba de inhibición por prepulso y una disminución en la sociabilidad de las ratas macho evaluada en la prueba de interacción social (Hernández-Frausto et al., 2019). Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos por el grupo de investigación de Uehara y colaboradores, los cuales reportaron un incremento en el índice de sobresalto en la prueba de inhibición por prepulso, que se acompaña por una hiperlocomoción en la etapa adulta del animal (Uehara et al., 2009). En conjunto nuestros resultados sugieren que una interrupción del neurodesarrollo en etapas críticas produce déficits cognitivos durante la etapa adulta del animal que están acompañados de alteraciones conductuales que mimetizan los síntomas negativos y positivos de la esquizofrenia, tales como incrementos en la locomoción y disminución en la sociabilidad del animal.

En conclusión, el tratamiento neonatal con un antagonista de los receptores NMDA, derivan en déficits cognitivos asociados a alteraciones en el hipocampo desde etapas tempranas del desarrollo y que se exacerban conforme el animal alcanza la edad adulta.

- Fuerza sináptica y plasticidad hipocampal

Nuestros experimentos muestran una pérdida progresiva en la relación entre la salva aferente presináptica y el subsecuente fEPSP de animales tratados con MK-801. Dado que los cambios en la fuerza de la salva aferente indican modificaciones en el tamaño y la temporalidad de la entrada presináptica a las células piramidales de CA1 (Andersen et al., 1980) y que la amplitud de la salva aferente es proporcional al número de fibras presinápticas activadas (Andersen et al., 1980), esta medición puede tomarse como un estimado de la fuerza de la entrada aferente. La combinación de una disminución en la salva aferente y de la amplitud del fEPSP, sin que se presenten cambios en la latencia de aparición de la respuesta evocada cómo sugiere que los animales tratados neonatalmente con MK-801 tienen un menor número de axones activos de las colaterales de Schaffer y/o cambios en la liberación del neurotransmisor a nivel presináptico desde los 30 DPN. Consistente con estos datos, se ha demostrado que el tratamiento neonatal con MK-801 reduce los niveles de glutamato (Wyckhuys et al., 2013) y modifica la morfología hipocampal en la etapa adulta de animal (Baier et al., 2009; Braun et al., 2007; du Bois & Huang, 2007b). Por otro lado, nuestros resultados también muestran que hay una reducción significativa en la latencia de las respuestas evocadas a los 90 DPN, lo que sugiere que hay un mayor grado de modificaciones celulares en el hipocampo que ocurren durante el desarrollo. Sin embargo, estos resultados requieren estudios de mayor profundidad para determinar cuáles son los cambios específicos que conllevan a la modificación de las respuestas evocadas.

Existe una amplia evidencia que muestra que el tratamiento neonatal con antagonistas NMDA alteran la conformación de las subunidades del receptor y sus propiedades de unión a distintos ligandos en la etapa del animal (Baier et al., 2009; Harrison, 2004; Newell et al., 1998; Wilson et al., 1998), lo que altera la inducción y expresión de la LTP (Gorter & de Bruin, 1992; Liu et al.,

2009; Yang et al., 2014). La disminución en la plasticidad sináptica observada en nuestro estudio sugiere alteraciones en la funcionalidad, composición y en las propiedades de unión del receptor NMDA. Sin embargo, y para demostrar que estos cambios conformacionales de los receptores NMDA ocurren, se requieren experimentos adicionales.

En cuanto al proceso de depresión a largo plazo (LTD), nuestros datos muestran por primera vez, que la LTD de la región CA1 presenta una alteración progresiva en los animales tratados neonatalmente con MK-801. La LTD es una forma de plasticidad sináptica que ocurre durante la adquisición novedosa de espacios o entornos (Kemp & Manahan-Vaughan, 2004; Manahan-Vaughan & Braunewell, 1999). Consistente con nuestros resultados, la adquisición novedosa de espacios o entornos se encuentra alterada tanto en individuos esquizofrénicos como en los distintos modelos animales de esquizofrenia (Barkus et al., 2012; Kirschner et al., 2016; Tamminga et al., 2012; Weiss et al., 2004). Por lo tanto, nuestros datos sugieren que la adquisición de espacios o entornos novedosos asociada al hipocampo en pacientes con esquizofrenia se encuentra deteriorada y puede ser consecuencia de una hipofunción de los receptores NMDA durante periodos críticos del neurodesarrollo.

Aunque las cascadas de señalización intracelular asociadas a LTD y LTP son diferentes, ambas formas de plasticidad sináptica dependen de receptores NMDA. Consecuentemente, requieren de un incremento transitorio del calcio citosólico, y de la activación de proteínas cinasas y fosfatasas. En el hipocampo, el incremento transitorio del calcio inducido por LFS favorece la activación de fosfatasas, un paso necesario para la inducción de la LTD dependiente del receptor NMDA (Babiec et al., 2014). En este mismo sentido, el bloqueo de la proteína fosfatasa 1 (PP1) produce un cambio de LTD a LTP hipocampal (Jouveneau et al., 2006). Nuestros datos indican que la LFS induce una potenciación sináptica en los animales tratados con MK-801 neonatal (Figura 13). Una posible explicación de esta alteración podría ser que

el tratamiento con MK-801 altere la funcionalidad de las fosfatasa, incluida la PP1. En concordancia con esta hipótesis, trabajos previos han encontrado una disminución en proteínas de anclaje asociadas a la activación de los receptores NMDA, incluyendo la actividad de cinasas y fosfatasa fosforiladas que son los procesos transduccionales tras la activación de los receptores tanto en modelos animales como en pacientes con esquizofrenia (Clinton & Meador-Woodruff, 2004; Miyakawa et al., 2003). Otra posibilidad es que el tratamiento neonatal con MK-801 cause un desbalance en los mecanismos que controlan los niveles de calcio intracelular. Debido a que la magnitud del flujo de calcio durante la inducción de la plasticidad determina la polaridad de la misma (LTD o LTP), las alteraciones en los niveles de calcio intracelular durante la LFS o HFS podrían alterar la actividad de las cinasas o fosfatasa y, por lo tanto, modificar la inducción de la plasticidad sináptica. De forma consistente, en rebanadas obtenidas de animales tratados con MK-801 se observa una reducción de la plasticidad a largo plazo, los cambios observados en la amplitud de la facilitación del pulso pareado (PPR), el incremento a corto plazo (durante la estimulación a bajada frecuencia), y la potenciación postetánica (PTP, seguido de la estimulación a alta frecuencia).

La plasticidad a corto plazo controla los procesos sinápticos inmediatos, así como el flujo de información proveniente de otras estructuras cerebrales. Además, establece el filtro dependiente del tiempo de la entrada de información de las neuronas pre y postsinápticas (Crabtree & Gogos, 2014a) y codifica la información asociativa Hebbiana dependiente de receptores NMDA (Lisman, 2017). Por lo tanto, es posible que la hipofunción transitoria del receptor NMDA en un circuito inmaduro por resultado de un desbalance en el flujo de información hipocampal y estos impacten negativamente en los mecanismos Hebbianos de control sináptico. Debido a que el desbalance en la plasticidad a corto plazo es un factor de riesgo para la esquizofrenia (Crabtree & Gogos, 2014b), es necesario enfocarse con mayor detalle en experimentos que nos permitan estudiar esta forma de comunicación neuronal.

Las sinapsis hipocampales son modificables bidireccionalmente y presentan múltiples estados de potenciación, depotenciación y depresión (Dudek & Bear, 1993; Mulkey & Malenka, 1992). La metaplasticidad es un fenómeno que construye un historial de actividad en la sinapsis y altera los requerimientos para la inducción de la plasticidad en respuesta a episodios subsecuentes de actividad (Abraham & Tate, 1997). Por lo tanto, la pérdida progresiva de la plasticidad tras el tratamiento neonatal con MK-801 puede producir cambios en las capacidades metaplásticas de la formación hipocampal. Si este fuera el caso, se esperaría que las sinapsis formadas por las colaterales de Schaffer tengan un rango funcional reducido y una capacidad sináptica limitada para integrar información (Abraham & Tate, 1997; Mockett et al., 2002), lo que a su vez originaría una saturación rápida en la inducción de LTD o LTP. Debido a que la metaplasticidad también implica un cambio en el umbral de actividad para la inducción de la plasticidad sináptica a largo plazo (Abraham & Tate, 1997; McHail & Dumas, 2015, Mockett and Hulme, 2008), se podría hipotetizar que el tratamiento neonatal con MK-801 modifica el umbral de la actividad sináptica requerida para la correcta inducción de la LTD y LTP.

- Memoria y dopamina

Nuestros resultados indican que, el tratamiento neonatal con el antagonista MK-801, produce una disminución en la ejecución de una prueba conductual que evalúa el aprendizaje y memoria dependiente del hipocampo (laberinto de Barnes) desde etapas tempranas del desarrollo y en procesos de plasticidad sináptica de corta y larga duración en la región CA1 del hipocampo que se mantienen hasta la etapa adulta del animal.

En condiciones fisiológicas, la dopamina juega un papel fundamental en la consolidación del aprendizaje dependiente del hipocampo (Broussard et al., 2016; Broussard, 2013; Yang et al., 2014). Diversos grupos de investigación han evaluado el papel de la dopamina en el desempeño conductual de los

roedores en distintos paradigmas asociados al funcionamiento hipocampal. Uno de estos trabajos es el realizado por Broussard y colaboradores que mostró que la actividad de los receptores dopaminérgicos de la familia D1-like es necesaria para la retención de la memoria aversiva en la prueba de evitación pasiva (Broussard et al., 2016). A su vez, McNamara y colaboradores reportan que la activación optogenética de las proyecciones del locus cerúleo al hipocampo son capaces de incrementar la exploración de entornos novedosos y promueven la estabilidad de los mecanismos cognitivos asociados al hipocampo (McNamara, Tejero-Cantero, Trouche, Campo-Urriza, & Dupret, 2014). Por otro lado, Xing y colaboradores observaron que la activación de los receptores dopaminérgico de la familia D1-like mas no los de la familia D2-like es crítica para el aprendizaje espacial en la prueba de laberinto acuático de Morris (Xing et al., 2010). Por otro lado, se ha observado que una desregulación de los niveles dopaminérgicos en el hipocampo produce alteraciones en los procesos de aprendizaje y consolidación de la memoria. Silva y colaboradores reportaron que el bloqueo de los receptores dopaminérgicos de la familia D1-like, por infusión intra-hipocampal en la región CA1 dorsal del antagonista de receptores D1-like SCH-23390 produce incrementos en la latencia para encontrar la plataforma en el laberinto acuático de Morris durante la fase de retención y que, la infusión del agonista D1-like SKF-38393 disminuye dicha latencia, lo que sugiere una mejora en la consolidación de la memoria (Silva et al., 2010). Finalmente, Melief y colaboradores demostraron en un modelo de Alzheimer, caracterizado por presentar incrementos en la latencia y número de errores en el laberinto de Barnes asociados a alteraciones en la funcionalidad hipocampal, que la activación de los receptores dopaminérgicos D1-like revierte dichas alteraciones, observándose una mejora en ambos parámetros durante la fase de retención (Melief et al., 2015).

En concordancia con estos estudios, nuestros resultados indican que la infusión intra-hipocampal del agonista dopaminérgico de los receptores de la familia D1-like, SKF-38393 aminora los déficits, resultantes del tratamiento

neonatal de MK-801, observados durante la fase de retención en ambas etapas del desarrollo (30 y 90 DPN). En este contexto, Bruns y colaboradores observaron en un modelo genético de ratón que presenta déficits cognitivos similares a los de modelos de esquizofrenia, que el SKF-38393 , produce una mejora en el desempeño de los roedores en el laberinto elevado en Y, demostrando que la activación dopaminérgica es capaz de revertir las alteraciones cognitivas asociadas al modelo de esquizofrenia (Bruns et al., 2018).

El tratamiento farmacológico mayormente utilizado en la esquizofrenia, para disminuir la presencia de los síntomas positivos en el individuo, con efecto moderado o nulo en los síntomas cognitivos, tiene como mecanismo de acción principal el bloqueo de la transmisión dopaminérgica (Baviera, Invernizzi, & Carli, 2008). Sin embargo, se ha demostrado que los pacientes con esquizofrenia presentan una disminución en los niveles de dopamina en la región mesocortical, y posiblemente una disminución en la expresión de receptores dopaminérgicos D1-like, lo que sugiere un papel de la dopamina en los síntomas cognitivos de la enfermedad (Arnsten et al., 2017; Campbell, 1979).

Nuestros datos son la primera evidencia que muestra que la activación de los receptores dopaminérgicos de la familia D1-like, mejora el desempeño cognitivo durante la etapa de retención en una prueba de aprendizaje y memoria, en un modelo de esquizofrenia y que, estos efectos se observan desde etapas tempranas del desarrollo donde aún no se observan las conductas típicas del modelo de esquizofrenia.

Nuestros registros electrofisiológicos mostraron consistentemente que la estimulación AC con FSK + IBMX induce la fase tardía de la LTP (4 horas de potenciación sináptica) en rebanadas de hipocampo. Este fenómeno no se presentó en rebanadas de animales tratados neonatalmente con MK-801.

La fase tardía de la LTP hipocampal está asociada a la consolidación de procesos mnemónicos (Dong et al., 2008; Ge et al., 2010; Huang & Kandel,

1994; Kauderer & Kandel, 2000; Nguyen & Kandel, 1996). Las alteraciones en el establecimiento de la fase tardía de la LTP sugieren que el daño se da en parte, por la pérdida del control de diversas cinasas intracelulares, entre ellas las MAPK (Gerges & Alkadhi, 2004; Lin & Zuo, 2011; Yuan Xiang et al., 2016). A pesar de la relevancia de nuestro hallazgo (daño en los mecanismos celulares involucrados en el mantenimiento de la fase tardía de la LTP hipocampal) se requieren estudios mecanísticos para determinar qué elementos celulares están alterados. Aun así, este trabajo aportó evidencias experimentales de que la activación de la modulación dopaminérgica mediada por receptores de la familia D1-like contribuye a revertir los daños generados por MK-801. Más aún, aportó conocimiento puntual de que los receptores D1-like son responsables de revertir el daño. Por tal razón, también se puede especular que el tratamiento neonatal con MK-801 altera la transmisión dopaminérgica D1-like.

Finalmente, nuestros hallazgos apoyan la idea de la existencia de un periodo crítico en la maduración neuronal, en el que una alteración breve del funcionamiento de los receptores NMDA es suficiente para desencadenar modificaciones sinápticas que pueden incrementar el riesgo a desarrollar desórdenes psiquiátricos en la adolescencia y adultez.

CONCLUSIONES

Este trabajo describe las modificaciones conductuales y de plasticidad sináptica dependientes del hipocampo como resultado de la administración neonatal de MK-801 en ratas macho, como una disminución en el desempeño del laberinto de Barnes y cambios en la eficacia sináptica de corta y larga duración, así como, en la expresión de la fase tardía de la LTP en la región

CA1 del hipocampo asociados al establecimiento del aprendizaje. A su vez, se describe como las alteraciones fueron revertidas por la activación de los receptores dopaminérgicos de la familia D1-like en el hipocampo que se traduce como un mejor desempeño en la ejecución del laberinto de Barnes y en la expresión de la fase tardía de la LTP.

Este trabajo también representa una ventana de oportunidad para investigar fármacos de receptores dopaminérgicos para hacer frente a la pérdida de las capacidades cognitivas asociadas a este padecimiento.

PERSPECTIVAS

El presente trabajo es el primero en caracterizar las consecuencias del tratamiento neonatal con MK-801 sobre el funcionamiento del hipocampo a nivel electrofisiológico y conductual. Estas alteraciones fueron caracterizadas en distintas etapas del desarrollo. Sin embargo, nuestros hallazgos también originaron diversos cuestionamientos que deben ser investigados.

- Determinar si la mejora en el desempeño en el laberinto de Barnes de animales tratados neonatalmente con MK-801 producida por la activación de los receptores dopaminérgicos D1-like se mantiene durante la fase de adquisición.
- Investigar si los cambios en la fuerza sináptica que observamos en las curvas I/O son consecuencia de una disminución en la concentración de calcio intracelular o de cambios en la conformación de los receptores NMDA del espacio sináptico.
- De igual manera, persiste la pregunta, ¿Cuál es estado funcional de las cinasas y fosfatasa que conjuntamente permiten la inducción y mantenimiento de la LTP?

- Debido a que la inducción LTP requiere de la inserción de receptores AMPA previa activación de receptores NMDA, es de suma importancia determinar su expresión proporcional (ratio AMPA / NMDA) tras el tratamiento neonatal con MK-801.
- Finalmente, es necesario establecer la funcionalidad de la transmisión dopaminérgica. A pesar de que el funcionamiento del hipocampo es modulado por esta catecolamina, es altamente probable que el tratamiento neonatal con MK-801, afecte otras regiones cerebrales que dependan aún más de dopamina para su funcionamiento adecuado.

REFERENCIAS

1. Abel, K. M., Drake, R., & Goldstein, J. M. (2010). Sex differences in schizophrenia. *International Review of Psychiatry*, 22(5), 417–428.
2. Abraham, W. C., & Tate, W. P. (1997). Metaplasticity: A new vista across the field of synaptic plasticity. *Progress in Neurobiology*, 52(4), 303–323.

3. Agarwal, P., Sarris, C. E., Herschman, Y., Agarwal, N., & Mammis, A. (2016). Schizophrenia and neurosurgery: A dark past with hope of a brighter future. *Journal of Clinical Neuroscience*, 34, 53–58.
4. Aleman, A., Kahn, R. S., & Selten, J.-P. (2003). Sex Differences in the Risk of Schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 60(6), 565.
5. Amaral G. (1993). Emerging principles of intrinsic hippocampal organization. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, 225–229.
6. Andersen, P., Sundberg, S. H., Sveen O., Swann J. W., W. H. (1980). Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *Journal of Physiology*, 302, 463–482.
7. Andersen, S. L. (2003). Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(1–2), 3–18.
8. Andreasen, N. C. (1985). Positive vs. negative schizophrenia: a critical evaluation. *Schizophrenia Bulletin*, 11(3), 380–389.
9. Andrzejewska, M., Wójciak, P., Domowicz, K., & Rybakowski, J. (2017). Emotion recognition and theory of mind in chronicschizophrenia: association with negative symptoms. *Archives of Psychiatry and Psychotherapy*, 19(4), 7–12.
10. Angeles, L. (1984). *of Schizophrenia*. 8, 55–71.
11. Arnsten, A. F. T., Girgis, R. R., Gray, D. L., & Mailman, R. B. (2017). Novel Dopamine Therapeutics for Cognitive Deficits in Schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 81(1), 67–77.
12. Arnold, S E, & Trojanowski, J. Q. (1996). Recent advances in defining the neuropathology of schizophrenia. *Acta Neuropathologica*, 92(3), 217–231.
13. Arnold, Steven E, Talbot, K., & Hahn, C.-G. (2005). Neurodevelopment, neuroplasticity, and new genes for schizophrenia. *Progress in Brain Research*, 147, 319–345.

14. Ashe, P. C., Berry, M. D., & Boulton, A. A. (2001). *SCHIZOPHRENIA , A NEURODEVELOPMENTAL DISORDER WITH NEURODEVELOPMENTAL ANTECEDENTS*. 25, 691–707.
15. Babiec, W. E., Guglietta, R., Jami, S. a, Morishita, W., Malenka, R. C., & O'Dell, T. J. (2014). Ionotropic NMDA receptor signaling is required for the induction of long-term depression in the mouse hippocampal CA1 region. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(15), 5285–5290.
16. Baier, P. C., Blume, A., Koch, J., Marx, A., Fritzer, G., Aldenhoff, J. B., & Schiffelholz, T. (2009). Early postnatal depletion of NMDA receptor development affects behaviour and NMDA receptor expression until later adulthood in rats-A possible model for schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, 205(1), 96–101.
17. Barkus, C., Feyder, M., Graybeal, C., Wright, T., Wiedholz, L., Izquierdo, A., ... Holmes, A. (2012). Do GluA1 knockout mice exhibit behavioral abnormalities relevant to the negative or cognitive symptoms of schizophrenia and schizoaffective disorder? *Neuropharmacology*, 62(3), 1263–1272.
18. Barnes, C. a, Jung, M. W., McNaughton, B. L., Korol, D. L., Andreasson, K., & Worley, P. F. (1994). LTP saturation and spatial learning disruption: effects of task variables and saturation levels. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(10), 5793–5806.
19. Bartsch, J. C., Fidzinski, P., Huck, J. H., Hörtnagl, H., Kovács, R., Liotta, A., ... Behr, J. (2015). Enhanced Dopamine-Dependent Hippocampal Plasticity after Single MK-801 Application. *Neuropsychopharmacology*,

40, 987–995.

20. Basu, J., & Siegelbaum, S. A. (2015). Plasticity, and Memory. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7, 1–26.
21. Baviera, M., Invernizzi, R. W., & Carli, M. (2008). Haloperidol and clozapine have dissociable effects in a model of attentional performance deficits induced by blockade of NMDA receptors in the mPFC. *Psychopharmacology*, 196(2), 269–280.
22. Bernabeu, R., Bevilacqua, L., Ardenghi, P., Bromberg, E., Schmitz, P., Bianchin, M., ... Medina, J. H. (1997). Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(13), 7041–7046.
23. Bob, P., & Mashour, G. a. (2011). Schizophrenia, dissociation, and consciousness. *Consciousness and Cognition*, 20(4), 1042–1049.
24. Braun, I., Genius, J., Grunze, H., Bender, A., Möller, H. J., & Rujescu, D. (2007). Alterations of hippocampal and prefrontal GABAergic interneurons in an animal model of psychosis induced by NMDA receptor antagonism. *Schizophrenia Research*, 97(1–3), 254–263.
25. Broussard, J. I., Yang, K., Levine, A. T., Tsetsenis, T., Jenson, D., Cao, F., ... Dani, J. A. (2016). Dopamine Regulates Aversive Contextual Learning and Associated In Vivo Synaptic Plasticity in the Hippocampus. *Cell Reports*, 14(8), 1930–1939.
26. Bussey, T. J., Barch, D. M., & Baxter, M. G. (2013). Testing long-term memory in animal models of schizophrenia: suggestions from

CNTRICS. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(9 Pt B), 2141–2148.

27. Bruns, R. F., Mitchell, S. N., Wafford, K. A., Harper, A. J., Shanks, E. A., Carter, G., ... Svensson, K. A. (2018). Preclinical profile of a dopamine D1 potentiator suggests therapeutic utility in neurological and psychiatric disorders. *Neuropharmacology*, 128, 351–365.
28. Calixto, E., Thiels, E., Klann, E., & Barrionuevo, G. (2003). Early maintenance of hippocampal mossy fiber--long-term potentiation depends on protein and RNA synthesis and presynaptic granule cell integrity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(12), 4842–4849.
29. Campbell, B. A. (1979). Cognitive Deficit Caused by Regional Depletion of dopamine in Prefrontal Cortex of Rhesus Monkey. *Science (New York, N.Y.)*, 205(31), 929–932.
30. Capogna, M. (1998). Presynaptic Facilitation of Synaptic Transmission in the Hippocampus INTERACTIONS BETWEEN. *Pharmacology & Therapeutics*, 77(3), 203–223.
31. Clinton, S. M., & Meador-Woodruff, J. H. (2004). Thalamic dysfunction in schizophrenia: Neurochemical, neuropathological, and in vivo imaging abnormalities. *Schizophrenia Research*, 69(2–3), 237–253.
32. Cohen, P. (1989). *REGULATION OF PROTEIN*. 453–508.
33. Crabtree, G., & Gogos, J. A. (2014a). Synaptic plasticity, neural circuits and the emerging role of altered short-term information processing in schizophrenia. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 6(OCT), 1–27.

34. Crabtree, G., & Gogos, J. A. (2014b). Synaptic plasticity, neural circuits and the emerging role of altered short-term information processing in schizophrenia. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 6(OCT), 1–27.
35. da Silva Alves, F., Bakker, G., Schmitz, N., Abeling, N., Hasler, G., van der Meer, J., ... van Amelsvoort, T. (2013). Dopaminergic modulation of the reward system in schizophrenia: a placebo-controlled dopamine depletion fMRI study. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 23(11), 1577–1586.
36. Dong, C., Upadhyay, S. C., Ding, L., Smith, T. K., & Hegde, A. N. (2008). Proteasome inhibition enhances the induction and impairs the maintenance of late-phase long-term potentiation. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 15(5), 335–347.
37. Dr. A Leung and Dr. P Cheung. (2000). Sex differences in schizophrenia, a review. *Acta Psychiatr Scand*, 101, 3–38.
38. du Bois, T. M., & Huang, X. F. (2007a). Early brain development disruption from NMDA receptor hypofunction: Relevance to schizophrenia. *Brain Research Reviews*, 53(2), 260–270.
39. du Bois, T. M., & Huang, X. F. (2007b, February). Early brain development disruption from NMDA receptor hypofunction: Relevance to schizophrenia. *Brain Research Reviews*, Vol. 53, pp. 260–270.
40. Dudek, M., & Bear, F. (1993). *Bidirectional Modification Adult and Immature Hippocampus of Synaptic Effectiveness in the*. 13(July).
41. Dudek, S. M., & Bear, M. F. (1992). Homosynaptic long-term depression

in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(10), 4363–4367.

42. Duncan, G. E., Sheitman, B. B., & Lieberman, J. a. (1999). An integrated view of pathophysiological models of schizophrenia. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 29(2–3), 250–264.

43. Edelman, E., & Lessmann, V. (2013). Dopamine regulates intrinsic excitability thereby gating successful induction of spike timing-dependent plasticity in CA1 of the hippocampus. *Frontiers in Neuroscience*, 7(March), 25.

44. Eichenbaum, H., Schoenbaum, G., Young, B., & Bunsey, M. (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13500–13507.

45. Falkai, P., Parlapani, E., Gruber, O., & Schmitt, A. (2010a). *Advances in Schizophrenia Research 2009*. 149–165.

46. Falkai, P., Parlapani, E., Gruber, O., & Schmitt, A. (2010b). *The Neuropathology of Schizophrenia : Central Role for the Hippocampus ?* 149–165.

47. Farde, L. (1997). Brain imaging of schizophrenia--the dopamine hypothesis. *Schizophrenia Research*, 28(2–3), 157–162.

48. Fatemi, S. H., & Folsom, T. D. (2009). The neurodevelopmental hypothesis of Schizophrenia, revisited. *Schizophrenia Bulletin*, 35(3), 528–548.

49. Foster, T. C. D. and T. C. (1995). Dumas Developmental increase in CA3-CA1 presynaptic function in the hippocampal slice.pdf. *Journal of Neurophysiology*, 73(5), 1821–1828.
50. Frangou, S. and J. K. (2004). Schizophrenia. *Medicine*, 21–25.
51. Frey, U., & Morris, R. G. M. (1998). Synaptic tagging: Implications for late maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, 21(5), 181–188.
52. Ge, Y., Dong, Z., Bagot, R. C., Howland, J. G., Phillips, A. G., Wong, T. P., & Wang, Y. T. (2010). Hippocampal long-term depression is required for the consolidation of spatial memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(38), 16697–16702.
53. Gerges, N. Z., & Alkadhi, K. A. (2004). Hypothyroidism impairs late LTP in CA1 region but not in dentate gyrus of the intact rat hippocampus: MAPK involvement. *Hippocampus*, 14(1), 40–45.
54. Gobert, D., Topolnik, L., Azzi, M., Huang, L., Badeaux, F., DesGroseillers, L., ... Lacaille, J. C. (2008). Forskolin induction of late-LTP and up-regulation of 5' TOP mRNAs translation via mTOR, ERK, and PI3K in hippocampal pyramidal cells. *Journal of Neurochemistry*, 106(3), 1160–1174.
55. Goh, J. J., & Manahan-Vaughan, D. (2013a). Hippocampal long-term depression in freely behaving mice requires the activation of beta-adrenergic receptors. *Hippocampus*, 23(12), 1299–1308.

56. Goh, J. J., & Manahan-Vaughan, D. (2013b). Spatial object recognition enables endogenous LTD that curtails LTP in the mouse hippocampus. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 23(5), 1118–1125.
57. Gorter, J. A., & de Bruin, J. P. C. (1992). Chronic neonatal MK-801 treatment results in an impairment of spatial learning in the adult rat. *Brain Research*, 580(1–2), 12–17.
58. Gorter, J. a, & Brady, R. J. (1994). NMDA receptor responses in adult hippocampal CA1 region after neonatal treatment with MK-801: comparison with NMDA receptor responses in the immature rat. *Brain Research*, 665(1), 63–68.
59. Grace, A. A. (2004). Developmental dysregulation of the dopamine system and the pathophysiology of schizophrenia. *Neurodevelopment and Schizophrenia.*, 17(8), 273–294.
60. Hager, H., & Manahan-Vaughan, D. (2011). Learning-facilitated synaptic plasticity at CA3 mossy fiber and commissural-associational synapses reveals different roles in information processing. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 21(11), 2442–2449.
61. Hao, K., Su, X., Luo, B., Cai, Y., Chen, T., Yang, Y., ... Lv, L. (2019). Prenatal immune activation induces age-related alterations in rat offspring: Effects upon NMDA receptors and behaviors. *Behavioural Brain Research*, 370(April), 111946.
62. Harrison, F. E., Reiserer, R. S., Tomarken, A. J., & McDonald, M. P. (2006). Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. *Learning & Memory*, 13(6), 809–819.
63. Harrison, P. J. (1997). Schizophrenia: A disorder of neurodevelopment?

Current Opinion in Neurobiology, 7(2), 285–289.

64. Harrison, P. J. (2004). The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology*, 174(1), 151–162.
65. Hernández-Frausto, M., López-Rubalcava, C., & Galván, E. J. (2019). Progressive Alterations in Synaptic Transmission and Plasticity of Area CA1 Precede the Cognitive Impairment Associated with Neonatal Administration of MK-801. *Neuroscience*, 404.
66. Howes, O. D., & Murray, R. M. (2014). Schizophrenia: An integrated sociodevelopmental-cognitive model. *The Lancet*, 383(9929), 1677–1687.
67. Huang, Y. Y., & Kandel, E. R. (1994). Recruitment of long-lasting and protein kinase A-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 1(1), 74–82.
68. Iglesias, J., & Villa, A. E. P. (2007). Effect of stimulus-driven pruning on the detection of spatiotemporal patterns of activity in large neural networks. *Bio Systems*, 89(1–3), 287–293.
69. Immonen, J., Jääskeläinen, E., Korpela, H., & Miettunen, J. (2017). Age at onset and the outcomes of schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Early Intervention in Psychiatry*, Vol. 11, pp. 453–460.
70. Jablensky, A. (2010). The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12(3), 271–287.

71. Jay, T. M., Burette, F., & Laroche, S. (1996). Plasticity of the hippocampal-prefrontal cortex synapses. *Journal of Physiology Paris*, 90(5–6), 361–366.
72. Jentsch, J. D., & Roth, R. H. (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: From NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, Vol. 20, pp. 201–225.
73. Katz, B. Y. B., & Miledi, R. (1968). THE ROLE OF CALCIUM IN NEUROMUSCULAR. *The Journal of Physiology*, 195, 481–492.
74. Kauderer, B. S., & Kandel, E. R. (2000). Capture of a protein synthesis-dependent component of long-term depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(24), 13342–13347.
75. Kemp, A., & Manahan-Vaughan, D. (2004). Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), 8192–8197.
76. Kemp, A., & Manahan-Vaughan, D. (2007). Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *Trends in Neurosciences*, 30(3), 111–118.
77. Kirschner, M., Hager, O. M., Bischof, M., Hartmann-Riemer, M. N., Kluge, A., Seifritz, E., ... Kaiser, S. (2016). Deficits in context-dependent adaptive coding of reward in schizophrenia. *Npj Schizophrenia*, 2(1), 16020.

78. Konradi, C., & Heckers, S. (2003). *Molecular aspects of glutamate dysregulation : implications for schizophrenia and its treatment*. 97, 153–179.
79. Kristiansen, L. V., Beneyto, M., Haroutunian, V., & Meador-Woodruff, J. H. (2006). Changes in NMDA receptor subunits and interacting PSD proteins in dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex indicate abnormal regional expression in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 11(8), 737–747.
80. Lahera, G., Freund, N., & Sáiz-Ruiz, J. (2013). Salience and dysregulation of the dopaminergic system. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental (English Edition)*, 6(1), 45–51.
81. Langston, R. F., Stevenson, C. H., Wilson, C. L., Saunders, I., & Wood, E. R. (2010). The role of hippocampal subregions in memory for stimulus associations. *Behavioural Brain Research*, 215(2), 275–291.
82. Lee, H.-K., & Kirkwood, A. (2011). AMPA receptor regulation during synaptic plasticity in hippocampus and neocortex. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 22(5), 514–520.
83. Li, S., Cullen, W. K., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (2003). Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nature Neuroscience*, 6(5).
84. Li, J.-T., Su, Y.-A., Guo, C.-M., Feng, Y., Yang, Y., Huang, R.-H., & Si, T.-M. (2011). Persisting cognitive deficits induced by low-dose, subchronic treatment with MK-801 in adolescent rats. *European Journal of Pharmacology*, 652(1–3), 65–72.

85. Lim, A. L., Taylor, D. A., & Malone, D. T. (2012a). Consequences of early life MK-801 administration: long-term behavioural effects and relevance to schizophrenia research. *Behavioural Brain Research*, 227(1), 276–286.
86. Lin, D., & Zuo, Z. (2011). Isoflurane induces hippocampal cell injury and cognitive impairments in adult rats. *Neuropharmacology*, 61(8), 1354–1359.
87. Lipska, B. K., & Weinberger, D. R. (2000). To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 23(3), 223–239.
88. Lisman, J. (2017). Glutamatergic synapses are structurally and biochemically complex because of multiple plasticity processes: Long-term potentiation, long-term depression, short-term potentiation and scaling. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1715).
89. Lisman, J., Grace, A. A., & Duzel, E. (2011). A neoHebbian framework for episodic memory; role of dopamine-dependent late LTP. *Trends in Neurosciences*, 34(10), 536–547.
90. Liu, Y., Chen, J., Song, T., Hu, C., Tang, Y., Zhang, X., & Zhao, J. (2009). Contribution of K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 in MK-801-induced impairment of long term potentiation. *Behavioural Brain Research*, 201(2), 300–304.
91. Lovinger, D. M., Wong, K. L., Murakami, K., & Routtenberg, a. (1987). Protein kinase C inhibitors eliminate hippocampal long-term

potentiation. *Brain Research*, 436(1), 177–183.

92. Malhotra, a K., Pinals, D. a, Adler, C. M., Elman, I., Clifton, a, Pickar, D., & Breier, a. (1997). Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 17(3), 141–150.
93. Manahan-Vaughan, D., & Braunewell, K. H. (1999). Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(15), 8739–8744.
94. Maran, M., Grent-'t-Jong, T., & Uhlhaas, P. J. (2016). Electrophysiological insights into connectivity anomalies in schizophrenia: a systematic review. *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2(1), 1–9.
95. Marcotte, E. R., Pearson, D. M., & Srivastava, L. K. (2001). *Animal models of schizophrenia : a critical review*. 26(5), 395–410.
96. McCutcheon, J. E., & Marinelli, M. (2009). Age matters. *European Journal of Neuroscience*, 29(5), 997–1014.
97. McCutcheon, R. A., Abi-Dargham, A., & Howes, O. D. (2019). Schizophrenia, Dopamine and the Striatum: From Biology to Symptoms. *Trends in Neurosciences*, xx, 1–16.
98. McGlashan, T. H. (2011). Eugen Bleuler: centennial anniversary of his 1911 publication of Dementia Praecox or the group of schizophrenias. *Schizophrenia Bulletin*, 37(6), 1101–1103.

99. McHail, D. G., & Dumas, T. C. (2015). Multiple forms of metaplasticity at a single hippocampal synapse during late postnatal development. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 12, 145–154.
100. McLay, R. N., Freeman, S. M., & Zadina, J. E. (1998). Chronic corticosterone impairs memory performance in the Barnes maze. *Physiology and Behavior*, 63(5), 933–937.
101. McLamb, R. L., Williams, L. R., Nanry, K. P., Wilson, W. A., & Tilson, H. A. (1990). MK-801 impedes the acquisition of a spatial memory task in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 37(1), 41–45.
102. McNamara, C. G., Tejero-Cantero, Á., Trouche, S., Campo-Urriza, N., & Dupret, D. (2014). Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. *Nature Neuroscience*, 17(12), 1658–1660.
103. Meador-woodruff, J. H., & Healy, D. J. (2000). Glutamate receptor expression in schizophrenic brain 1. *Brain Research Reviews*, 31, 288–294.
104. Melief, E. J., Cudaback, E., Jorstad, N. L., Sherfield, E., Postupna, N., Wilson, A., ... Montine, T. J. (2015). Partial depletion of striatal dopamine enhances penetrance of cognitive deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience Research*, 93(9), 1413–1422.
105. Meyer-Lindenberg, A. S., Olsen, R. K., Kohn, P. D., Brown, T., Egan, M. F., Weinberger, D. R., & Berman, K. F. (2005). Regionally

specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 62(4), 379–386.

106. Micale, V., Kucerova, J., & Sulcova, A. (2013). Leading compounds for the validation of animal models of psychopathology. *Cell and Tissue Research*, 354(1), 309–330.
107. Miyakawa, T., Leiter, L. M., Gerber, D. J., Gainetdinov, R. R., Sotnikova, T. D., Zeng, H., ... Tonegawa, S. (2003). *Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia*. 100(15), 8987–8992.
108. Mockett, B., Coussens, C., & Abraham, W. C. (2002). *NMDA receptor-mediated metaplasticity during the induction of long-term depression by low-frequency stimulation*. 15.
109. Mulkey, R. M., & Malenka, R. C. (1992). Mechanisms Underlying Induction of Homosynaptic Long-Term Depression in Area CA1 of the Hippocampus. *Neuron*, 9, 967–975.
110. Navakkode, S., Sajikumar, S., Korte, M., & Soong, T. W. (2012). Dopamine induces LTP differentially in apical and basal dendrites through BDNF and voltage-dependent calcium channels. *Learning & Memory*, 19(7), 294–299.
111. Newell, K. A., Zavitsanou, K., & Huang, X. F. (2007). Short and long term changes in NMDA receptor binding in mouse brain following chronic phencyclidine treatment. *Journal of Neural Transmission*, 114(8), 995–1001.

112. Neyman, S., & Manahan-Vaughan, D. (2008). Metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) and 5 (mGluR5) regulate late phases of LTP and LTD in the hippocampal CA1 region in vitro. *European Journal of Neuroscience*, 27(6), 1345–1352.
113. Neill, J. C., Barnes, S., Cook, S., Grayson, B., Idris, N. F., McLean, S. L., ... Harte, M. K. (2010). Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacology & Therapeutics*, 128(3), 419–432.
114. Németh, H., Varga, H., Farkas, T., Kis, Z., Vécsei, L., Horváth, S., ... Toldi, J. (2002). Long-term effects of neonatal MK-801 treatment on spatial learning and cortical plasticity in adult rats. *Psychopharmacology*, 160(1), 1–8.
115. Nguyen, P. V., & Kandel, E. R. (1996). A macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation requiring cAMP in the medial perforant pathway of rat hippocampal slices. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(10), 3189–3198.
116. Nicoll, R. a., & Roche, K. W. (2013). Long-term potentiation: peeling the onion. *Neuropharmacology*, 74, 18–22.
117. Nugent, T. F., Herman, D. H., Ordonez, A., Greenstein, D., Hayashi, K. M., Lenane, M., ... Gogtay, N. (2007). Dynamic mapping of hippocampal development in childhood onset schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 90(1–3), 62–70.
118. O’Leary, T. P., & Brown, R. E. (2013). Optimization of apparatus design and behavioral measures for the assessment of visuo-spatial

learning and memory of mice on the Barnes maze. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 20(2), 85–96.

119. Otmakhov, N., Khibnik, L., Otmakhova, N., Carpenter, S., Riahi, S., Asrican, B., & Lisman, J. (2004). Forskolin-induced LTP in the CA1 hippocampal region is NMDA receptor dependent. *Journal of Neurophysiology*, 91(5), 1955–1962.
120. Otmakhova, N. a, & Lisman, J. E. (1996). D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(23), 7478–7486.
121. Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Thapar, A., & Craddock, N. (2011). Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*, 198(3), 173–175.
122. Papatheodoropoulos, C., & Kostopoulos, G. (2000). Dorsal-ventral differentiation of short-term synaptic plasticity in rat CA1 hippocampal region. *Neuroscience Letters*, 286(1), 57–60.
123. Pei-Lu Yi a, Fang-Chia Chang a, Jing-Jane Tsai b, Chen-Road Hung a, P.-W. G. (1995). The involvement of metabotropic glutamate receptors in long-term depression of N-methyl-D-aspartate receptor-mediated synaptic potential in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, 185, 207–210.
124. Pietraszek, M. (2003). Review Significance of Dysfunctional Glutamatergic Transmission for the Development of Psychotic Symptoms. *Polish Journal of Pharmacology Pol. J. Pharmacol*, 55(3),

133–154.

125. Potkin, S. G., Turner, J. a, Brown, G. G., McCarthy, G., Greve, D. N., Glover, G. H., ... Lim, K. O. (2009). Working memory and DLPFC inefficiency in schizophrenia: the FBIRN study. *Schizophrenia Bulletin*, 35(1), 19–31.
126. Rajarethinam, R., DeQuardo, J. R., Miedler, J., Arndt, S., Kirbat, R., Brunberg, J. a, & Tandon, R. (2001). Hippocampus and amygdala in schizophrenia: assessment of the relationship of neuroanatomy to psychopathology. *Psychiatry Research*, 108(2), 79–87.
127. Rajji, T. K., Miranda, D., & Mulsant, B. H. (2014). Schizophrenia : A Review of Longitudinal Studies. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne de Psychiatrie*, 59(1), 13–17.
128. Reymann, K. G., Brodemann, R., Kase, H., & Matthies, H. (1988). Inhibitor of calmodulin and protein kinase C block different phases of hippocampal loong-term potentiation. *Brain Research*, 461, 388–392.
129. Reymann, K. G., & Frey, J. U. (2007a). The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, “synaptic tagging”, “late-associativity” and implications. *Neuropharmacology*, 52(1), 24–40.
130. Reymann, K. G., & Frey, J. U. (2007b). The late maintenance of hippocampal LTP: Requirements, phases, “synaptic tagging”, “late-associativity” and implications. *Neuropharmacology*, 52(1), 24–40.
131. Roggenhofer, E., Fidzinski, P., Shor, O., & Behr, J. (2013). Reduced Threshold for Induction of LTP by Activation of Dopamine D1/D5 Receptors at Hippocampal CA1-Subiculum Synapses. *PLoS*

ONE, 8(4), 1–10.

132. Rosenberg, T., Gal-Ben-Ari, S., Dieterich, D. C., Kreutz, M. R., Ziv, N. E., Gundelfinger, E. D., & Rosenblum, K. (2014). The roles of protein expression in synaptic plasticity and memory consolidation. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 7(November), 86.
133. Sanderson, T. M., & Sher, E. (2013). The role of phosphodiesterases in hippocampal synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 74, 86–95.
134. Savage, S., Kehr, J., Olson, L., & Mattsson, a. (2011). Impaired social interaction and enhanced sensitivity to phencyclidine-induced deficits in novel object recognition in rats with cortical cholinergic denervation. *Neuroscience*, 195, 60–69.
135. Schröder, J., Tittel, a, Stockert, a, & Karr, M. (1996). Memory deficits in subsyndromes of chronic schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 21(1), 19–26.
136. Shoji, H., Takao, K., Hattori, S., & Miyakawa, T. (2016). Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Molecular Brain*, 9(1), 1–18.
137. Seamans, J. K., Floresco, S. B., & Phillips, a G. (1998). D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(4), 1613–1621.
138. Seeman, P., & Kapur, S. (2000). Schizophrenia: more dopamine,

more D2 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(14), 7673–7675.

139. Siegel, S. J., Talpos, J. C., & Geyer, M. a. (2013). Animal models and measures of perceptual processing in schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(9 Pt B), 2092–2098.
140. Silva, W. C. N. d., Köhler, C. C., Radiske, A., & Cammarota, M. (2012). D 1/D 5 dopamine receptors modulate spatial memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 97(2), 271–275.
141. Simpson, E. H., Kellendonk, C., & Kandel, E. (2010). A Possible Role for the Striatum in the Pathogenesis of the Cognitive Symptoms of Schizophrenia. *Neuron*, 65(5), 585–596.
142. Smith, W. B., Starck, S. R., Roberts, R. W., & Schuman, E. M. (2005). Dopaminergic stimulation of local protein synthesis enhances surface expression of GluR1 and synaptic transmission in hippocampal neurons. *Neuron*, 45(5), 765–779.
143. Snyder, M. a, & Gao, W.-J. (2013). NMDA hypofunction as a convergence point for progression and symptoms of schizophrenia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(March), 31.
144. Soderling, T. R., & Derkach, V. a. (2000). Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends in Neurosciences*, 23(2), 75–80.
145. Stefani, M. R., & Moghaddam, B. (2005). Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 57(4), 433–436.

146. Sunyer, B., Patil, S., Höger, H., & Luber, G. (2007). Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *Protocol Exchange*, *198*, 1–13.
147. Tamminga, C. A., Thomas, B. P., Chin, R., Mihalakos, P., Youens, K., Wagner, A. D., & Preston, A. R. (2012). Hippocampal novelty activations in schizophrenia: Disease and medication effects. *Schizophrenia Research*, *138*(2–3), 157–163.
148. Tandon, R., Nasrallah, H. a, & Keshavan, M. S. (2009). Schizophrenia, “just the facts” 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia Research*, *110*(1–3), 1–23.
149. Takahashi, K., Nakagawasai, O., Sakuma, W., Nemoto, W., Odaira, T., Lin, J. R., ... Tan-No, K. (2019). Prenatal treatment with methylazoxymethanol acetate as a neurodevelopmental disruption model of schizophrenia in mice. *Neuropharmacology*, *150*(February), 1–14.
150. Thomases, D. R., Cass, D. K., Meyer, J. D., Caballero, A., & Tseng, K. Y. (2014). Early Adolescent MK-801 Exposure Impairs the Maturation of Ventral Hippocampal Control of Basolateral Amygdala Drive in the Adult Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *34*(27), 9059–9066.
151. Tseng, K. Y., Chambers, R. A., & Lipska, B. K. (2009). The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, *204*(2), 295–305.
152. Uehara, T., Sumiyoshi, T., Seo, T., Itoh, H., Matsuoka, T., Suzuki, M., & Kurachi, M. (2009). Long-term effects of neonatal MK-801 treatment on prepulse inhibition in young adult rats.

Psychopharmacology, 206(4), 623–630.

153. U. Frey, Y.-Y. Huang, E. R. K. (1993). Effects of cAMP Simulate a Late Stage of LTP in Hippocampal CA1 Neurons. *Science*, 260, 1661–1664.
154. Usun, Y., Eybrard, S., Meyer, F., & Louilot, a. (2013). Ketamine increases striatal dopamine release and hyperlocomotion in adult rats after postnatal functional blockade of the prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 256, 229–237.
155. Vickers, C. A., Dickson, K. S., & Wyllie, D. J. A. (2005). Induction and maintenance of late-phase long-term potentiation in isolated dendrites of rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *The Journal of Physiology*, 568(3), 803–813.
156. Vinson, P. N., & Conn, P. J. (2012). Metabotropic glutamate receptors as therapeutic targets for schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1461–1472.
157. Waung, M. W., Pfeiffer, B. E., Nosyreva, E. D., Ronesi, J. a, & Huber, K. M. (2008). Rapid translation of Arc/Arg3.1 selectively mediates mGluR-dependent LTD through persistent increases in AMPAR endocytosis rate. *Neuron*, 59(1), 84–97.
158. Wedzony, K., Fijal, K., Mackowiak, M., Chocyk, a, & Zajackowski, W. (2008). Impact of postnatal blockade of N-methyl-D-aspartate receptors on rat behavior: a search for a new developmental model of schizophrenia. *Neuroscience*, 153(4), 1370–1379.
159. Weickert, T. W., Leslie, F., Rushby, J. A., Hodges, J. R., &

- Hornberger, M. (2013). Probabilistic association learning in frontotemporal dementia and schizophrenia. *Cortex*, 49(1), 101–106.
160. Wei Li, Subroto Ghose, Kelly Gleason, Anita Begovic', Jessica Perez, John Bartko, Scott Russo, Anthony D. Wagne, Lynn Selemon, and C. A. T. (2015). Synaptic Proteins In Schizophrenia Hippocampus Indicate Increased Neuronal Activity in CA3. *American Journal of Psychiatry*, 172(4), 373–382.
161. Weickert, T. W., Leslie, F., Rushby, J. A., Hodges, J. R., & Hornberger, M. (2013). Probabilistic association learning in frontotemporal dementia and schizophrenia. *Cortex*, 49(1), 101–106.
162. Weiss, A. P., Zalesak, M., DeWitt, I., Goff, D., Kunkel, L., & Heckers, S. (2004). Impaired hippocampal function during the detection of novel words in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 55(7), 668–675.
163. Whitlock, J. R., Heynen, A. J., Shuler, M. G., & Bear, M. F. (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5790), 1093–1097.
164. Wilson, M. a, Kinsman, S. L., & Johnston, M. V. (1998). Expression of NMDA receptor subunit mRNA after MK-801 treatment in neonatal rats. *Brain Research. Developmental Brain Research*, 109(2), 211–220.
165. Witter, M. P., Groenewegen, H. J., Lopes da Silva, F. H., & Lohman, a. H. M. (1989). Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Progress in Neurobiology*, 33(3), 161–253.
166. Wyckhuys, T., Verhaeghe, J., Wyffels, L., Langlois, X., Schmidt,

- M., Stroobants, S., & Staelens, S. (2013). N-Acetylcysteine- and MK-801-Induced Changes in Glutamate Levels Do Not Affect In Vivo Binding of Metabotropic Glutamate 5 Receptor Radioligand 11C-ABP688 in Rat Brain. *The Journal of Nuclear Medicine*, 54(11), 1954–1962.
167. Xing, B., Kong, H., Meng, X., Wei, S. G., Xu, M., & Li, S. B. (2010). Dopamine D1 but not D3 receptor is critical for spatial learning and related signaling in the hippocampus. *Neuroscience*, 169(4), 1511–1519.
168. Yang, K., Jin, G., Wu, J., Moraga-Amaro, R., González, H., Ugalde, V., ... Morris, R. G. M. (2014). A proof of concept, randomized clinical trial of DAR-0100a, a dopamine-1 receptor agonist, for cognitive enhancement in schizophrenia. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(5), 273–294.
169. Yang, Y.-J., Li, Y.-K., Wang, W., Wan, J.-G., Yu, B., Wang, M.-Z., & Hu, B. (2014). Small-molecule TrkB agonist 7,8-dihydroxyflavone reverses cognitive and synaptic plasticity deficits in a rat model of schizophrenia. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 122, 30–36.
170. Yuan Xiang, P. A., Janc, O., Grochowska, K. M., Kreutz, M. R., & Reymann, K. G. (2016). Dopamine agonists rescue A β -induced LTP impairment by Src-family tyrosine kinases. *Neurobiology of Aging*, 40, 98–102.
171. Zaytseva, Y., Korsakova, N., Agius, M., & Gurovich, I. (2013). Neurocognitive functioning in schizophrenia and during the early phases of psychosis: targeting cognitive remediation interventions. *BioMed Research International*, 2013, 819587.

172. Zucker, R. S., & Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Physiology*, 64, 355–405.