



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

**SEDE SUR**

**Departamento de Farmacobiología**

**Análisis farmacológico del receptor 5-HT<sub>6</sub> en el  
proceso del olvido**

Tesis que presenta:

**Q.F.B. Miguel Iván Paz Ramos**

Para obtener el grado de:

**Maestro en ciencias en**

**Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

**DIRECTOR DE TESIS:** Dr. Alfredo Meneses Hernández

Ciudad de México

Julio, 2019

**Esta tesis fue realizada con el apoyo de la beca de maestría número 635554, otorgada al alumno Miguel Iván Paz Ramos por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).**

## *DEDICATORIAS:*

---

*A mis padres, gracias por todo el inmenso apoyo, económico, emocional, intelectual, espiritual, moral y demás... No tengo forma de agradecerles, por tanto, que me han dado. Intentaré que siempre estén orgullosos de mí.*

*A mis hermanas, Andrea y Ariana, las aprecio muchísimo, han sido mi motor para seguir mejorando, creciendo y superándome.*

*Al resto de mi familia, principalmente a mis tíos Isidro, Rosario, Alejandra, Juvenal, Odilia y Andrey; y mis queridos abuelos, que en paz descansen, Angela y Vicente muchísimas gracias por todo el apoyo, los buenos momentos, las enseñanzas y los regaños, sin ustedes jamás hubiera llegado tan lejos.*

*A mis perracas, Swanky y Flareon, les agradezco toda la felicidad, lealtad, cariño, confidencialidad y apoyo que me han brindado siempre.*

*A todos esos profesores que vieron algo en mí, me motivaron e impulsaron a crecer, gracias por creer en mí.*

## *AGRADECIMIENTOS*

---

Al **Dr. Alfredo Meneses Hernández** por confiar en mí, por su enorme paciencia y sus enseñanzas tanto profesionales como personales. Mi más sincero cariño y admiración.

Al **Dr. Enrique Hong y Maximiliano Ibarra**, por compartir sus valiosos consejos para la realización de este proyecto.

A la **Dra. Ruth Téllez**, le agradezco por brindarme la oportunidad de acercarme a la neurofarmacología, sin su apoyo no habría conocido y no me hubiera enamorado de este mundo. Además, le agradezco por todo el conocimiento brindado en farmacología y en el ámbito profesional, ha sido de mis mejores profesoras. Para usted, mi más humilde admiración y respeto.

A **Roberto**, muchísimas gracias por todas tus enseñanzas, experiencias, consejos y apoyo durante el servicio social y durante este trabajo.

A los amiguitos del Cinvestav: **Nancy, Frida, Cristina, Alejandro, Alma, etc.** ... Muchísimas gracias por hacer amena esta experiencia, por brindarme su apoyo, confianza y los momentos más divertidos de esta etapa. Agradezco haberlos conocido, su amistad ha sido consolidada y no habrá tiempo que la haga decaer.

A mis mejores amigos: **Nayely, Flor, Anali, Julián, Erick, Abi, Bere, Carla, "Cos"...** Les agradezco muchísimo por su amistad real y sincera. Por todos los buenos ratos que pasé con ustedes, los dramas, los chistes, las historias cómicas, por todas nuestras tonterías y todas esas experiencias buenas y malas que hemos compartido. Sobre todo: ¡por confiar en mí y soportarme! ... también por permanecer en mi vida después de tantos años. Sin duda, son los mejores compañeros que pude haber deseado.

*Escribo para que existas /.../ Leo para olvidar que no estás aquí /.../ pero leyendo descubro sin extrañarme que el olvido está lleno de memoria.*

*El olvido está lleno de memoria.*

**Mario Benedetti**

# Índice

---

<b>Glosario de abreviaturas</b>	I
<b>Índice de tablas</b>	III
<b>Índice de figuras</b>	IV
<b>Resumen</b>	VII
<b>Abstract</b>	VIII
<b>1. Introducción</b>	1
a. Memoria	1
a.1 Clasificación de la memoria	2
a.2 Mecanismos moleculares de la memoria	6
a.3 Áreas cerebrales asociadas a la memoria	9
b. Olvido	10
b.1 Teorías del olvido	10
b.2 Mecanismos moleculares del olvido	13
b.3 Áreas cerebrales asociadas al olvido	17
b.4 La corteza prefrontal en los procesos de memoria y olvido	17
c. Memoria, olvido y disfunciones cognitivas	18
c.1 Disfunciones de la memoria y el olvido	18
c.2 Amnesia	21
d. Serotonina y memoria	21
d.1 El receptor 5-HT <sub>6</sub>	24
d.2 Farmacología del receptor 5-HT <sub>6</sub> en el proceso de memoria y olvido	28
<b>2. Justificación</b>	33
<b>3. Hipótesis</b>	33
<b>4. Objetivos generales</b>	33
<b>5. Objetivos específicos</b>	33
<b>6. Materiales y métodos</b>	34
6.1 Sujetos de prueba	34

6.2	Equipo y prueba conductual de automoldeamiento _____	34
6.3	Fármacos _____	35
6.4	Diseño experimental _____	36
6.5	Diseño farmacológico _____	37
6.6	Análisis estadístico _____	38
	<b>7. Resultados y Discusión</b> _____	<b>39</b>
7.1	Experimentos conductuales y farmacológicos _____	39
7.1.1	Evaluación farmacológica del receptor 5-HT <sub>6</sub> sobre la formación del olvido _____	39
7.1.2	Evaluación farmacológica del receptor 5-HT <sub>6</sub> sobre la recuperación de la memoria _____	53
7.1.3	Evaluación farmacológica del receptor 5-HT <sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de la memoria _____	63
7.1.4	Análisis de la coadministración del agonista inverso con el antagonista _____	73
	<b>8. Conclusiones</b> _____	<b>77</b>
8.1	Conclusiones particulares _____	77
8.2	Conclusión general _____	77
	<b>9. Perspectivas</b> _____	<b>78</b>
	<b>10. Referencias</b> _____	<b>79</b>
	<b>APÉNDICE I</b> _____	<b>88</b>
	Terminología farmacológica de utilidad para este proyecto. _____	88

## Glosario de abreviaturas

---

µg	Microgramo
µL	Microlitro
5-HT	5-Hidroxitriptamina (Serotonina)
5-HTR	Receptor a serotonina
AC	Adenilato ciclasa
AMPA	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
Arc	Proteína de actividad regulada asociada al citoesqueleto
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CA	<i>Cornu Ammonis</i>
CC	<i>Contactos al comedero</i>
Cdk	Cinasa dependiente de ciclinas.
CEC	<i>Contactos al comedero durante el estímulo condicionado</i>
CPF	Corteza prefrontal
CPu	Caudado Putamen
CREB	Elemento de unión a proteína en respuesta AMPc/Ca <sup>2+</sup>
DAT	Transportador de dopamina
e.e.m	Error estándar de la media
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAAT	Transportador de los aminoácidos excitatorios
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
Ej.	Ejemplo
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GAT	Transportador de GABA
Gi	Proteína G inhibidora
GPCR	Receptor acoplado a proteína G
Gq	Proteína G
Gs	Proteína G estimuladora
h	Hora
Hpc	Hipocampo
i.p.	intraperitoneal
Jab	Proteína de unión al dominio de activación de Jun
kg	Kilogramo
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
MCP	Memoria a corto plazo
mg	Miligramo

mGluR	Receptor metabotrópico de glutamato
min	Minutos
mL	Mililitro
MLP	Memoria a largo plazo
mTOR	Blanco mecanístico/de mamífero de la rampamicina
mTORC	Complejo de mTOR
NAc	Núcleo accumbens
NMDA	N-metil-d-aspartato
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PLP	Plasticidad de largo plazo
PP1	Proteína fosfatasa 1
PP2A	Proteína fosfatasa 2A
RC	Respuestas condicionadas
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa
SH3	Dominio de Homología Src 3
SERT	Transportador de serotonina
SSI	Solución salina isotónica
T1/2	Tiempo de vida media
TEE	Tiempo entre ensayos
VGCC	Canal de Ca <sup>2+</sup> dependiente de voltaje



## Índice de tablas

---

TABLA 1. Disfunciones cognitivas relacionadas a la memoria en algunos trastornos psiquiátricos. \_\_\_\_\_ 20

TABLA 2. Propiedades de los receptores de serotonina. \_\_\_\_\_ 23

TABLA 3. Propiedades relevantes de algunos fármacos selectivos del receptor 5-HT<sub>6</sub> para este proyecto. \_\_\_\_\_ 30

TABLA 4. Resumen de la utilidad terapéutica del receptor 5-HT<sub>6</sub> \_\_\_\_\_ 32

## Índice de figuras

---

<b>FIGURA 1.</b> Clasificación de la memoria humana respecto a su contenido y sus estructuras cerebrales asociadas _____	5
<b>FIGURA 2.</b> Mecanismos moleculares asociados a la consolidación de la memoria _____	8
<b>FIGURA 3.</b> Curva del olvido de Ebbinghaus _____	11
<b>FIGURA 4.</b> Mecanismos moleculares asociados al olvido _____	16
<b>FIGURA 5.</b> Vías de señalización involucradas en algunos procesos neurobiológicos mediados por del receptor 5-HT <sub>6</sub> _____	27
<b>FIGURA 6.</b> Mecanismo de la regulación de algunos sistemas neuroquímicos del receptor 5-HT <sub>6</sub> _____	29
<b>FIGURA 7.</b> Diseño experimental para el protocolo de formación de memoria y olvido. _____	37
<b>FIGURA 8.</b> Diseño farmacológico para la evaluación del efecto del receptor 5-HT <sub>6</sub> en el olvido _____	37
<b>FIGURA 9.</b> Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el EMD-386088 sobre la formación del olvido _____	41
<b>FIGURA 10.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el SB-399885 sobre la formación del olvido _____	42
<b>FIGURA 11.</b> Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el PZ-1444 sobre la formación del olvido _____	43
<b>FIGURA 12.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el CPPQ sobre la formación del olvido _____	44
<b>FIGURA 13.</b> Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT <sub>6</sub> sobre la formación del olvido _____	45
<b>FIGURA 14.</b> Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT <sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal _____	50

<b>FIGURA 14.</b> Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT <sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal (Continuación)	52
<b>FIGURA 15.</b> Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el EMD-386088 sobre la recuperación de la información	54
<b>FIGURA 16.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el SB-399885 sobre la recuperación de la información	55
<b>FIGURA 17.</b> Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el PZ-1444 sobre la recuperación de la información	56
<b>FIGURA 18.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el CPPQ sobre la formación del olvido	57
<b>FIGURA 19.</b> Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT <sub>6</sub> sobre la recuperación de una memoria	59
<b>FIGURA 20.</b> Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT <sub>6</sub> al momento de recuperar información en la corteza prefrontal	61
<b>FIGURA 20.</b> Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT <sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal (Continuación)	62
<b>FIGURA 21.</b> Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el EMD-386088 en la formación del olvido y la recuperación de la información	64
<b>FIGURA 22.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el SB-399885 en la formación del olvido y la recuperación de la información	65
<b>FIGURA 23.</b> Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el PZ-1444 en la formación del olvido y la recuperación de la información	66
<b>FIGURA 24.</b> Efecto del bloqueo del receptor 5-HT <sub>6</sub> con el CPPQ en la formación del olvido y la recuperación de la información	67

**FIGURA 25.** Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de una memoria \_\_\_\_\_ 69

**FIGURA 26.** Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido y la recuperación de la información en la corteza prefrontal \_\_\_\_\_ 71

**FIGURA 26.** Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido y la recuperación de la información en la corteza prefrontal (Continuación) \_\_\_\_\_ 72

**FIGURA 27.** Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido \_\_\_\_\_ 74

**FIGURA 28.** Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la recuperación de la información \_\_\_\_\_ 75

**FIGURA 29.** Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de la información. \_\_\_\_\_ 76

## Resumen

---

Desde hace más de un siglo la neurociencia se ha centrado en el estudio del aprendizaje y la memoria, específicamente la consolidación, cuyo objetivo principal es el desarrollo de nuevas terapéuticas que mejoren la cognición tanto en condiciones fisiológicas como en patológicas. Sin embargo, los mecanismos neurobiológicos de cómo se recuerda o se olvida una memoria han sido relegados. Es conocido que los diferentes sistemas de neurotransmisión determinan si una memoria se almacena, se recuerda o no. La serotonina, a través de sus 7 familias de receptores, es un neuromodulador que regula diferentes procesos neurobiológicos y fisiopatológicos. Especialmente el receptor 5-HT<sub>6</sub> se ha convertido en un blanco terapéutico prometedor por sus capacidades procognitivas. El problema surge con la evidencia farmacológica que hasta cierto punto resulta paradójica: tanto agonistas como antagonistas son capaces de mejorar la consolidación de la memoria.

Es por ello que el presente trabajo busca indagar como el receptor de 5-HT<sub>6</sub> modula la formación del olvido o el recuerdo de la información, en un paradigma de olvido por decaimiento. Al evaluar el efecto sobre la formación del olvido las dosis efectivas de diferentes fármacos (agonista parcial, agonista inverso parcial, antagonistas): solo la inactivación o el bloqueo del receptor evitan el olvido. Por otra parte, durante la recuperación de la información la activación parcial, la inactivación y el bloqueo del receptor facilitan recordar una memoria, siendo el agonista inverso el que mayor efecto produce. Finalmente, al evaluar ambas etapas, la inactivación del receptor produce un menor efecto antiolvido y menor recuperación. En contraste con el agonista parcial quien incrementa su efecto.

En conjunto, los datos anteriores sugieren que tanto la inactivación como la disminución de la actividad del receptor son importantes al momento de recordar y podrían evitar el olvido.

## Abstract

---

For more than a century, neuroscience has focused on studying learning and memory particularly memory consolidation, one of its aims is developing new therapeutics that improve cognition under physiological and pathological conditions. Nevertheless, neurobiological mechanisms of other memory process like retrieval or forgetting has been relegated. It has been known, that different neurotransmission systems decide whether a memory is stored, recalled or forgotten. The serotonin, through its seven-receptor family, is a neuromodulator that controls different neurobiological and pathological processes. Especially, 5-HT<sub>6</sub> receptor has become a promising therapeutic target due to its procognitive properties. The problem arises with the preclinical pharmacological evidence, which its relatively paradoxical: both agonist and antagonist can improve memory consolidation.

Hence, the aim of this project was to evaluate, in a decay forgetting paradigm, how the 5-HT<sub>6</sub> receptor influence forgetting or retrieval of information. Our results indicate that forgetting was partially reversed by ip (mg/kg) administration of the partial 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist EMD-386088 (5.0) or facilitated retrieval (A-168 h). The partial inverse agonist PZ-1444(3.0) had an anti-forgetting effect and facilitated retrieval, while PZ-1444 injected at 48- and 168-h produce minor facilitation of retrieval. Even, a higher dose produce produced a minor anti-forgetting effect or less retrieval. Moreover, the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists SB-399885 (5.0) and CPPQ (3.0) partially prevented forgetting and facilitated retrieval when were injected previously to forgetting formation or retrieval; however, these effects disappeared when injected at 48- and 168-h.

Therefore, the above data, suggest that either inactivation or a decrease of the activity of the 5-HT<sub>6</sub> receptor is relevant during retrieval or to prevent forgetting.

## 1. Introducción

---

### a. Memoria

Dentro del campo de la biología, una de las habilidades más relevantes para la supervivencia podría ser la capacidad de los animales de almacenar experiencias y modificar su conducta debido a estas (*McGaugh, 1966*). En el caso del humano, la memoria nos permite comunicarnos, saber quiénes somos y quiénes nos rodean (*Loftus, 1985*).

Para que exista una memoria debe de precederle un aprendizaje, este último es definido como el proceso por el cual se modifica una conducta a partir de la experiencia o de la adquisición de la información del ambiente, generalmente la palabra “aprendizaje” se utiliza como sinónimo del proceso adquisición. Por otra parte, la memoria se define como el proceso por el cual se codifica, almacena y recupera la información aprendida (*Meneses, 2003*).

Una definición más formal de estos procesos establece que: el aprendizaje es cualquier cambio relativamente permanente del tipo estímulo-específico, ya sea estructural o molecular, en el cerebro que resulta de una experiencia y por ende produce cambios en la conducta. Consecuentemente la memoria es la capacidad de almacenar y recuperar la información de ese aprendizaje bajo condiciones específicas (*Byrne, 2017*).

El proceso de aprendizaje y formación de una memoria no es un proceso unitario sino un conjunto de etapas delimitadas, para permitir una mayor facilidad en su estudio experimental (*Bekinschtein et al., 2010; Izquierdo et al., 2010; McGaugh, 1966*). Estas etapas se mencionan a continuación:

- I. **Adquisición:** esta etapa se refiere al fenómeno donde un organismo altera su conducta debido a estímulos del ambiente o bien, en respuesta a una experiencia (*Sweatt, 2010*). Así, la información es codificada, produciéndose una representación de esa experiencia en los diversos sistemas de memoria (*Walter y Stickgold, 2004*).

- II. **Consolidación:** La consolidación es un proceso hipotético propuesto en 1900 por Müller y Pilzecker, en donde con el paso del tiempo una memoria recién formada se transforma en una memoria duradera. Actualmente su estudio se ha dividido en dos niveles que difieren en sus mecanismos moleculares y/o celulares: la consolidación sináptica y la de sistemas (*Dudai, 2012; McGaugh, 2000*).
- III. **Almacenamiento:** El almacenamiento es el proceso que le permite al cerebro retener información dentro de algún sistema de memoria. Esto conlleva a la formación de un engrama o trazo de memoria, definido como un cambio físico o químico que se da durante el aprendizaje y sustenta las nuevas memorias (*Tonegawa et al., 2015*).
- IV. **Recuperación:** La recuperación se define como el proceso de recordar consciente o inconsciente una información previamente almacenada, de tal forma que una memoria puede ser expresada (mediante una respuesta conductual, motora o verbal) (*Byrne, 2017; Sweatt, 2010*).
- V. **Olvido:** El olvido es un proceso teórico (hasta la fecha) que implica la pérdida de un trazo de memoria o su correcta expresión (*Barros et al., 2000; Wixted, 2004*).
- VI. **Reconsolidación:** La reconsolidación es el proceso por el cual una memoria recién recordada se vuelve sensible a diferentes agentes amnésicos, evitando su posterior consolidación, actualización y almacenamiento (*Alberini, 2005; Dudai, 2012*).

## **a.1 Clasificación de la memoria**

Debido a la complejidad biológica de la memoria, diversos textos indican que hay por lo menos 25 categorías de memoria. Una recopilación más actual señala que existen al menos 256 diferentes tipos de memoria (*Tulving, 2007*). La propuesta más aceptada actualmente es que la memoria se puede clasificar respecto a su contenido o a su duración.

### *a.1.1 Clasificación respecto al tiempo de duración*

De acuerdo con su duración, la memoria se clasifica en memoria a corto plazo y memoria a largo plazo. Las distinciones surgen por la duración de almacenamiento de la información



*per se*, los sistemas neuronales que las componen, la evidencia de pacientes con amnesia y lesiones cerebrales y los mecanismos moleculares asociados (*Squire y Wixted, 2011*).

#### a.1.1.1 Memoria a corto plazo

La memoria de este tipo se refiere a la retención de la información por periodos cortos de tiempo, que van desde segundos a minutos e inclusive pueden llegar a horas. Esta memoria tiene una capacidad limitada y experimentalmente se ha deducido que aproximadamente se retienen un máximo de 4 a 7 elementos (*Squire, 1982*). Su importancia reside, al menos en humanos, en el pensamiento consciente ya que la información que se procesa es categorizada, alcanza la conciencia y es posible su manipulación mediante la memoria de trabajo (*Mohamed y Ghoneim, 2004; Sweatt, 2010*). A partir de este tipo de memoria la información puede consolidarse y posteriormente formar parte de la memoria a largo plazo u olvidarse.

Los estudios en el paciente H.M el cual fue sometido a una resección del lóbulo medial temporal, sugieren que esta región no es necesaria para la memoria a corto plazo (*Squire y Wixted, 2011*).

#### a.1.1.2 Memoria a plazo intermedio

Este tipo de memoria fue identificado por los experimentos realizados en el molusco *Aplysia californica*. Sus características principales se resumen en: una duración de hasta 15 horas en *Aplysia* y hasta cinco horas después del entrenamiento en ratones; es interrumpida por inhibidores de la traducción (p. ej. actinomicina) pero no por inhibidores de la transcripción lo cual la distingue de la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo a nivel molecular (*Sutton y Carew, 2002*).

#### a.1.1.3 Memoria a largo plazo

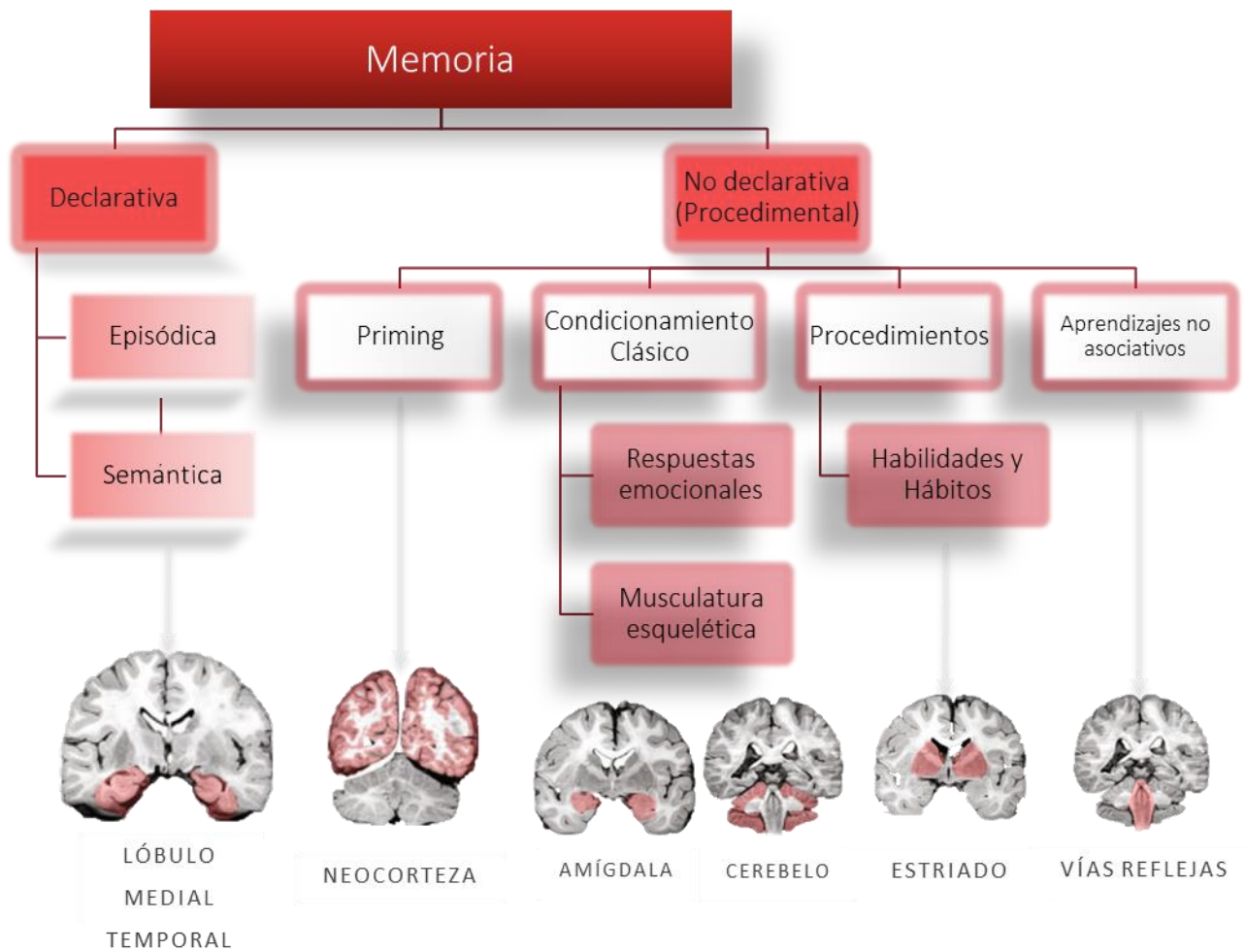
Se propone que la memoria a largo plazo se encuentra formada de diferentes sistemas neuronales (*Squire, 1993*). Este tipo de memoria se considera un almacén permanente de la información con duración indeterminada (*Mohamed y Ghoneim, 2004*). El curso

temporal de la memoria a largo plazo abarca horas, semanas, meses o toda la vida, además es dependiente del lóbulo medial temporal para realizar el proceso de consolidación (*Dudai, 2004; Dudai et al., 2015*).

#### *a.1.2 Clasificación de la memoria por su contenido*

Los términos memoria declarativa y no declarativa (procedimental) son términos que ganaron popularidad por el trabajo de Squire en 1982. Él propuso que la memoria declarativa es una categoría que incluye a la memoria episódica (recordar eventos del pasado) y a su vez a la memoria semántica (conocimiento general). Este tipo de memoria depende del hipocampo y de estructuras relacionadas al lóbulo medial temporal, mientras que la procedimental depende de estructuras del sistema límbico y las vías reflejas. Se pueden considerar dos tipos de memoria distintas debido a que pueden ser disociadas por diferentes las variables experimentales (*Squire, 1982*).

La memoria procedimental originariamente cubría solamente las habilidades motoras, posteriormente abarcó procedimientos mentales y físicos, Squire expandió el término e incluyó al *priming* de las pruebas de memoria implícita, el condicionamiento clásico y la habituación (*Squire, 2009*).



**FIGURA 1. Clasificación de la memoria humana respecto a su contenido y sus estructuras cerebrales asociadas.**

**Adaptada de Squire, 1993, 2007; Clark y Martin, 2018**

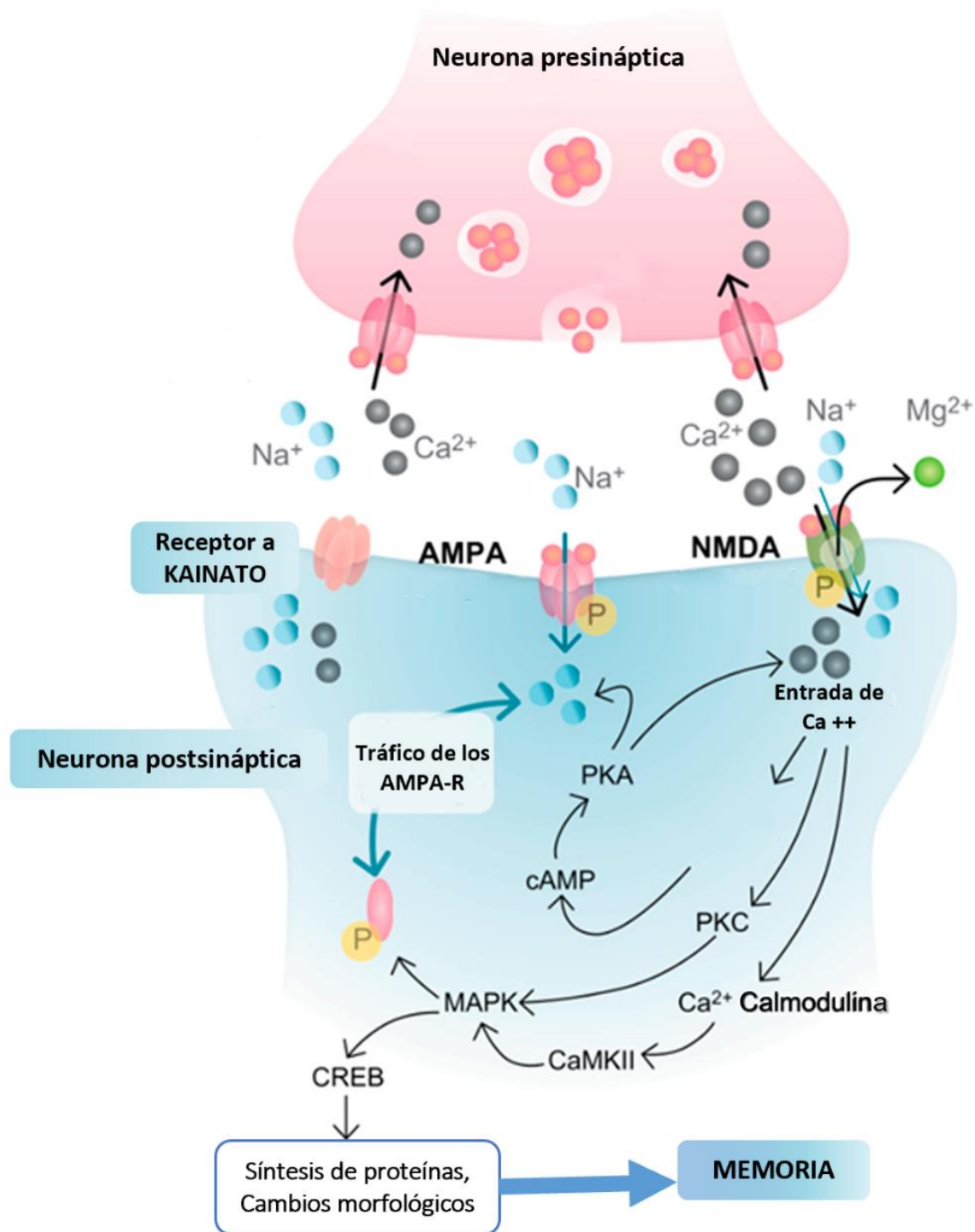
## **a.2 Mecanismos moleculares de la memoria**

Uno de los modelos que ha recibido mayor aceptación en el campo es la potenciación a largo plazo (PLP). La relación entre las formas específicas de la PLP y la memoria siguen en debate, aunque se acepta que son fenómenos con una alta correlación (*Kandel et al., 2014*). La idea proveniente de Donald Hebb, postula que el lugar donde se almacena la información son los contactos entre neuronas en los diversos circuitos neuronales. Hebb también sugiere que: “Cuando un axón de una célula A se encuentra lo suficientemente cerca para excitar una célula B repetidamente y/o persistentemente; esta toma parte en su disparo, produciendo un cambio en el crecimiento (cambios estructurales) o bioquímico (cambios funcionales) en una o ambas células, a tal punto que la eficiencia de A, así como de B se ven incrementadas” (*Citri y Malenka, 2008; Korte y Schmitz, 2016*).

La potenciación a largo plazo se define como un incremento en la fuerza sináptica que dura al menos 1 hora. Consiste en una fase de inducción seguida de la fase de expresión o mantenimiento. Este fenómeno puede subdividirse en: potenciación a largo plazo temprana (E-PLP) si ocurre durante las primeras 1-3 horas y se caracteriza por modificaciones postraduccionales. Si el proceso dura más de 3 horas, se lleva a cabo la transcripción de genes y síntesis de proteínas, y la fase es denominada como potenciación a largo plazo tardía (L-PLP) (*Clopath, 2012*). En general las principales formas de inducción de potenciación a largo plazo implican la liberación de glutamato de las presinapsis y una despolarización postsináptica que produce un incremento en la concentración de calcio intracelular. Las altas concentraciones de calcio activan diferentes cinasas como PKA, CaMKII, Fyn, Scr, PKM $\zeta$ , cuyo papel es el de mantener el incremento en la fuerza sináptica promoviendo diferentes vías de señalización (*Barros et al., 2000*). Una de las primeras cinasas descubiertas en este contexto es la proteína cinasa Mzeta (PKM $\zeta$ ), que se encuentra en altas concentraciones en las espinas dendríticas de neuronas excitatorias y se transloca a la densidad postsináptica. La PKM $\zeta$  fosforila algunos residuos de aminoácidos de la subunidad GluR1 del receptor AMPA, incrementando el tamaño de los potenciales excitatorios. Esta fosforilación también induce el transporte de subunidades GluR1 hacia la densidad postsináptica (cabe

mencionar que AMPA-R es un tetrámero y sus subunidades se transportan en pares GluR1/2 y GluR2/3 (*Korte y Schmitz, 2016*).

Tiempo después del entrenamiento, las nuevas memorias se vuelven resistentes a interferencia u otros factores (p. ej. distractores conductuales, fármacos, convulsiones, lesiones anatómicas, etc.). Esta susceptibilidad tiene una ventana de tiempo que depende de la tarea y el tipo de interferencia o inhibidor (*Dudai, 2004*). Se cree que las cascadas de transducción de señales intracelulares y particularmente la modulación de la expresión génica, mediada por el elemento en respuesta a AMPc (CRE), juegan un papel importante en la consolidación de la memoria a corto plazo a la memoria a largo plazo (*Dudai, 2012; Stevens, 1994*). Las vías que aumentan la producción de AMPc han sido ampliamente estudiadas en el modelo de *Aplysia*. Esta vía culmina en la fosforilación de las isoformas del elemento de unión a proteína en respuesta AMPc/Ca<sup>2+</sup> (CREB), para modificar la expresión de los genes de respuesta tardía (*Hawkins et al., 2006*). Los cambios a largo plazo en la sinapsis implican el tráfico de nuevos receptores, moléculas y otras proteínas en la membrana sináptica. Los cambios morfológicos se correlacionan con alteraciones en el citoesqueleto celular y varias vías de transducción (*Alberini, 2005; Kandel et al., 2014*) .



**FIGURA 2. Mecanismos moleculares asociados a la consolidación de la memoria.**  
Adaptada de Korte et al., 2016

### **a.3 Áreas cerebrales asociadas a la memoria**

Los estudios de imagenología en humanos e inactivación farmacológica en animales han detectado diferentes áreas cerebrales que aumentan su actividad eléctrica y/o metabólica dependiendo del tipo de memoria que se estudie. El proceso de adquisición, en la tarea de automoldeamiento, es dependiente de algunas aferencias específicas de la corteza, la amígdala, el subículo y del núcleo accumbens (*Bussey et al., 1997; Parkinson et al., 1999; Thomas y Everitt, 2001*).

Diversos trabajos conductuales, neuroanatómicos, así como casos clínicos, han identificado al lóbulo temporal medial (hipocampo, corteza entorrinal, perirrinal y parahipocampal) como el sistema encargado de la memoria declarativa. Estas estructuras son esenciales para la formación de la memoria, su organización y consolidación (*Dudai et al., 2015*). Posteriormente hay cambios graduales en las cortezas que mantienen estables a las memorias. El modelo estándar de consolidación de la memoria indica que la información inicialmente se integra y codifica simultáneamente en el hipocampo y en la neocorteza. La reactivación posterior de las redes cortico-hipocampales conlleva a una reproducción de la actividad inicial de estas redes (condiciones de aprendizaje), permitiendo que las memorias sean distribuidas, integradas y almacenadas en las cortezas, de esta forma las memorias logran ser independientes del hipocampo (*Dudai et al., 2015; Frankland y Bontempi, 2005*).

Al momento de recordar información adquirida recientemente, el cerebro asemeja el estado que tenía cuando se presentó el aprendizaje (activándose áreas corticales de asociación, el hipocampo y la corteza entorrinal). Mientras que el recuerdo de memorias remotas se ha asociado con regiones corticales como la prefrontal, la cingulada, la retrosplenial, la parietal y la temporal. Recientemente, mediante la técnica de la optogenética, se ha identificado la participación del subículo (del hipocampo) para recordar el contexto de una memoria (*Albo y Gräff, 2018; Ledergerber y Moser, 2017; McKenzie y Eichenbaum, 2011; Preston y Eichenbaum, 2013*).

## **b. Olvido**

El olvido a través del pensamiento e investigación de los psicólogos se define como la ausencia de expresión de una memoria correctamente almacenada, reflejando la incapacidad de recuperarla o una pérdida de esta (*Hardt et al., 2013*). Se ha planteado que este fenómeno se origina al deshacer los procesos moleculares y celulares que generaron una memoria o por la interferencia activa de otros procesos mentales (*Wixted, 2004*). Se ha propuesto también al olvido como un mecanismo que siempre se encuentra activo y es controlado por mecanismos moleculares y celulares que borran memorias no usadas o no queridas (*Davis, 2010*). El proceso del olvido tiene una connotación negativa en la sociedad, debido a su carácter involuntario y a la creencia de la capacidad limitada del cerebro para almacenar la memoria (*Anderson y Hanslmayr, 2014*). Sin embargo, olvidar información resulta benéfico ya que permite adaptarse a situaciones cambiantes, eliminar memorias irrelevantes, procesar efectivamente nueva información y evitar la interferencia (*Fawcett y Taylor, 2012; Storm et al., 2008*). Es por ello que las memorias que tienen poco significado para un individuo, que no son repetidas o que se contradicen a lo largo de diversas experiencias son más susceptibles a ser olvidadas o sobrescritas (*McKenzie y Eichenbaum, 2011*). Debe mencionarse que actualmente el olvido se evalúa conductualmente y se desconoce si algún tipo de olvido cause la erosión de los trazos de memoria (*Izquierdo, 2015*).

### **b.1 Teorías del olvido**

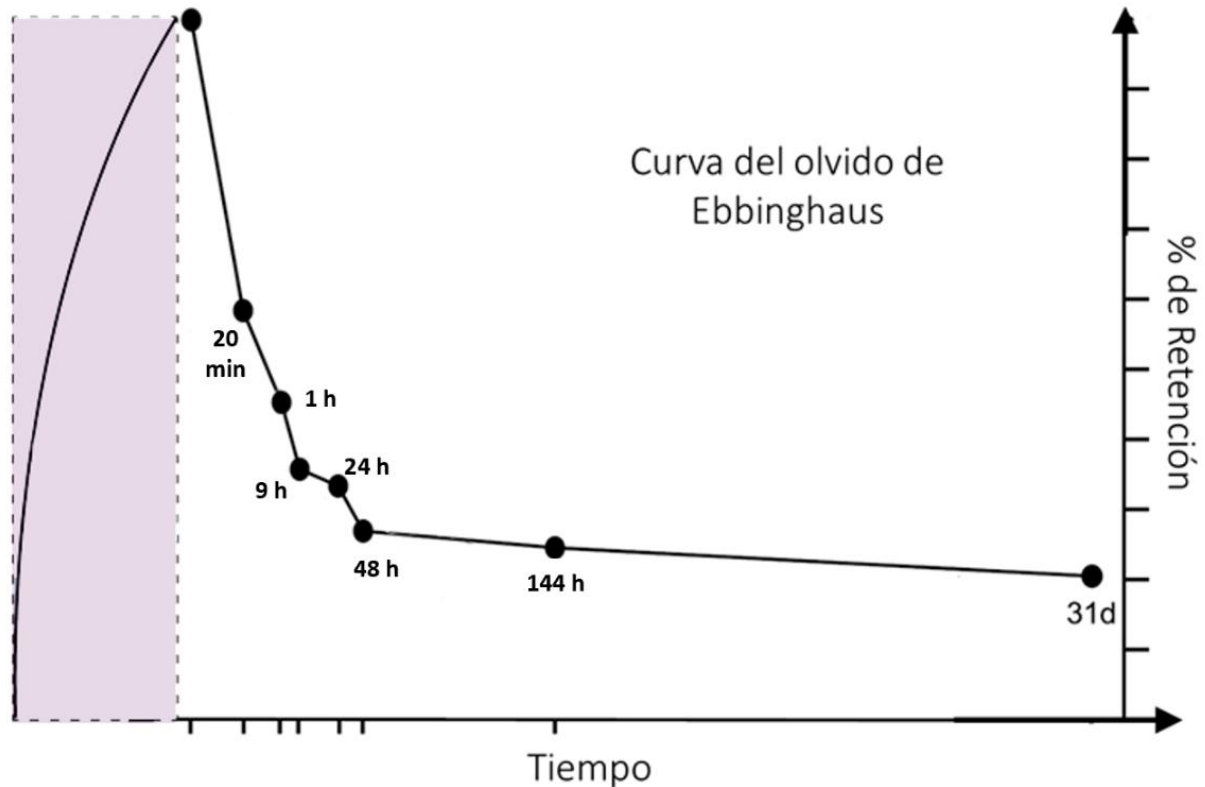
Los psicólogos han observado en humanos que diferentes tipos de memorias son olvidadas de diversas maneras e innegablemente por diversas razones, dando como resultado a las diferentes teorías de olvido.

#### *b.1.1 Teoría del decaimiento*

El olvido por decaimiento se debe a una pérdida gradual del sustrato de una memoria, Thorndike en 1913 propuso la ley del desuso para explicar este fenómeno y esta teoría adquiere relevancia por los subsecuentes trabajos de Ebbinghaus y su curva del olvido (figura 3). De esta forma, el sustrato biológico de la memoria decae en función del tiempo ocasionando así una alteración en la integridad de la memoria por lo que este proceso es



de tipo pasivo (Davis y Zhong, 2017). En contraste, Hardt *et al.*, proponen a este fenómeno como un proceso activo y regulado, que sistemáticamente remueve memorias para permitir una mayor flexibilidad y adaptabilidad a un sistema de memoria (Hardt *et al.*, 2013).



**FIGURA 3. Curva del olvido de Ebbinghaus.** Ilustra que después de adquirir y consolidar una memoria (representado por la zona rosa), un periodo de interrupción de ensayos ocasiona que una memoria se pierda en función del tiempo.

*Adaptada de Davis y Zhong, 2017.*

#### *b.1.1.1 Teoría de la neurogénesis*

El concepto de esta teoría sugiere que después de la generación de nuevas neuronas (en el giro dentado o del área ventricular), su posterior migración y acoplamiento en otras regiones ocasionan alteraciones en los circuitos neuronales preexistentes. La adición de las nuevas neuronas a un circuito implica la formación de nuevas conexiones y de esta manera se alteran los engramas previamente establecidos. Se propone a la

neurogénesis (al menos en animales) como un mecanismo para el olvido por decaimiento (*Frankland et al., 2013; Richards y Frankland, 2017*).

#### *b.1.2 Teoría de la interferencia*

La teoría de la interferencia es la teoría más estudiada y caracterizada. Esta teoría postula que la actividad cerebral causada por otra información o actividades anteriores (proactiva) o posteriores (retroactiva) al evento de aprendizaje atenúa la expresión de la memoria. Este olvido se considera activo debido a que necesita ser desencadenado por un estímulo (retroactivo) que posiblemente altere la consolidación, empero si el estímulo de interferencia (proactivo) crea un problema con la recuperación al competir con la información que se recupera, puede ser considerado un proceso pasivo (*Davis y Zhong, 2017; Wixted, 2004*).

#### *b.1.3 Olvido intencional*

Este tipo de olvido ocurre al activar algún mecanismo cognitivo voluntariamente o cuando se posee un motivo emocional para debilitar algún trazo de memoria. Generalmente se desencadena debido a que la memoria para olvidar tiene componentes no agradables como información que va en contra de nuestras creencias o ideologías, que evocan tristeza, culpa o pena, así como aquellas que atentan con una autoimagen positiva. De tal forma que si estas memorias son recordadas durante la consolidación o reconsolidación, se evita la formación de un engrama estable (*Anderson y Hanslmayr, 2014; Davis y Zhong, 2017; Fawcett et al., 2016*).

#### *b.1.4 Teoría del olvido activo*

Esta teoría surge de las neurociencias y no es reconocida por la literatura de la psicología. La teoría del olvido activo expresa que el cerebro posee una capacidad inherente de borrar memorias usando sistemas de señalización y circuitos neuronales intrínsecos del cerebro. Por ende, el proceso se encuentra activo en todo momento y su función es de tipo homeostática eliminando memorias irrelevantes. De esta manera, el proceso de consolidación determina que información es relevante y cual conserva. Lo anterior no

significa que las memorias consolidadas sean inmunes al olvido, sino que presentan una resistencia mayor (*Cervantes-Sandoval et al., 2016; Davis, 2010; Liu et al., 2016*).

## **b.2 Mecanismos moleculares del olvido**

Las interacciones entre la memoria y el olvido se conciben como eventos antagónicos, así durante las condiciones favorables para la memoria existe de manera predominante la actividad de las cinasas y la inserción de receptores AMPA en la membrana citoplasmática. La actividad de las fosfatasa y la endocitosis de los receptores AMPA predominan en el olvido. Genoux y colaboradores establecen que la activación de la proteína fosfatasa 1 (PP1) determina la eficacia del aprendizaje y favorece el decaimiento de una memoria. En sus experimentos emplean un modelo de inhibición genética de la PP1, en estos animales transgénicos la memoria se mantiene inclusive después de 4 semanas, pero en el grupo control la memoria disminuye a partir del primer día del aprendizaje, indicando que la inhibición de la PP1 previene el decaimiento (*Genoux et al., 2002*). Este efecto anti-olvido se correlaciona con un incremento en el tiempo que permanecen fosforiladas las proteínas como CREB, la proteína cinasa dependiente de calcio-calmodulina II (CaMKII) y en el receptor AMPA con la subunidad GluR1 (*Silva y Josselyn, 2002*). Análogamente, la inactivación post-adquisición del receptor NMDA (con la subunidad GluN2B), los canales de calcio dependiente de voltaje tipo L y de la fosfatasa calcineurina previenen el olvido, de esta manera la activación de los receptores NMDA después de la consolidación de una memoria lleva a un incremento intracelular de calcio y a la activación de la calcineurina, promoviendo el decaimiento de la potenciación a largo plazo en el hipocampo de animales (*Sachser et al., 2016*). Shuai y colaboradores han demostrado que una Rho GTPasa, Rac, puede actuar como una señal para olvidar información. Usando un modelo transgénico (de Rac en forma inactiva), los autores muestran que las memorias son más persistentes al momento de parear un olor con un choque eléctrico (comparado con los controles), mientras que cuando se expresa una forma de Rac constitutivamente activa tiene el efecto contrario, favorece el decaimiento de la memoria después del aprendizaje (*Shuai et al., 2010*). La vía Rac-PAK-LIMK-Cofilina se ha propuesto como la vía de señalización que subyace estas funciones, debido a que la cofilina también conocida como el Factor despolimerizante de actina (ADF), es

inhibida al fosforilarse por esta vía que culmina en la polimerización de actina (Davis, 2010). Actualmente en *Drosophila* la participación de la proteína de andamio Scribble (reclutada por un receptor de dopamina) es capaz de reclutar y ensamblar el complejo Rac-PAK-Cofilina, cuando la expresión de esta proteína de andamio esta disminuida la memoria persiste (Cervantes-Sandoval et al., 2016). En mamíferos un estudio muestra datos consistentes con el papel conservado de Rac en el olvido, en donde ratones transgénicos con la proteína Rac constitutivamente activa produce un decaimiento acelerado en la prueba de reconocimiento de objetos, pero no en la prueba de condicionamiento contextual o condicional al miedo (Liu et al., 2016).

Otros trabajos indican que la vía de Rac/cofilina puede mediar el olvido activo y pasivo. En estos trabajos se ha observado que después del entrenamiento se activa la proteína Rac alcanzando su actividad máxima en una hora. Los autores sugirieron con esto, que el proceso de olvido es la vía favorecida (en lugar de la consolidación) después de un aprendizaje (Shuai et al., 2010). A su vez hay evidencia de que existen neuronas y circuitos específicos que se activan para estimular el olvido (Berry et al., 2012; 2015).

Otros mecanismos relacionados son la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo. Cuando se induce este proceso después de la formación de una memoria se promueve el olvido en ratones jóvenes y adultos (Frankland et al., 2013). La endocitosis de los receptores AMPA mencionada anteriormente, media de alguna forma la actividad de la PKM $\zeta$  para producir olvido (Migues et al., 2016). Otra pequeña Rho-GTPasa, Cdc42, también realiza cambios en el citoesqueleto correlacionándose con déficits en la plasticidad neuronal y el recuerdo de memorias remotas, solo cuando se realiza la delección postnatal de esta proteína (Davis y Zhong, 2017). En conjunto esta evidencia apunta a que el olvido puede utilizar varias vías de señalización y procesos celulares que pueden ser específicos para un tipo de memoria.

Debe de remarcar que los procesos moleculares de formación de memoria y de olvido son independientes y que el olvido no necesariamente implica revertir lo realizado por el aprendizaje. En consecuencia durante el proceso de aprendizaje se establece una competencia entre los mecanismos de consolidación y olvido, determinándose el ganador

por la magnitud y el curso temporal de sus fuerzas (*Davis y Zhong, 2017; Medina, 2018; Richards y Frankland, 2017*). Asimismo, es necesario enfatizar que el olvido es un fenómeno fisiológico y que la amnesia es un fenómeno disfuncional. En consecuencia la expresión de proteínas (transportadores) en distintas áreas cerebrales difieren en estos dos fenómenos, lo que indica que también tienen mecanismos moleculares diferentes (*Tellez et al., 2012*).

Recientemente se ha revelado el papel de la activación de la vía de las MAPKs en la memoria: estabilizando una memoria durante una ventana temporal de unas horas, permitiendo que se produzcan cambios morfológicos en las dendritas. Cuando esta vía está inhibida ocasiona una pérdida de la información que puede sumarse al olvido ocasionado por Rac1 (*Zhang et al., 2018*).

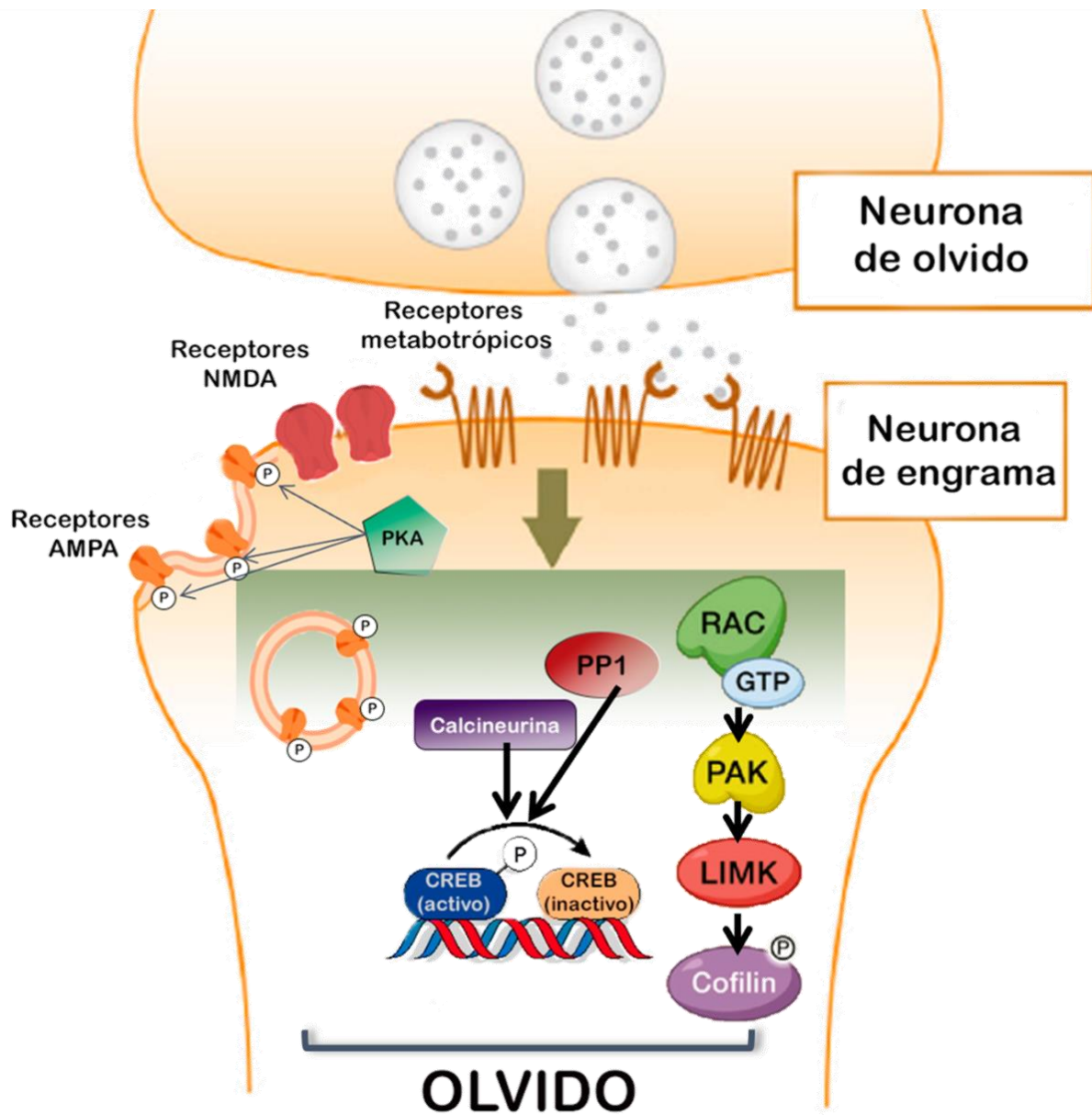


FIGURA 4. Mecanismos moleculares asociados al olvido.

Recopilada y adaptada de Davis y Zhong, 2017; Genoux et al., 2002; Sachser et al, 2016.

### **b.3 Áreas cerebrales asociadas al olvido**

Debido a la ausencia en la investigación de las bases neuroanatómicas del olvido, se desconoce aún en humanos la existencia de regiones cerebrales o circuitos neuronales específicos para eliminar memorias, como se ha demostrado en *Drosophila Melanogaster* (Berry et al., 2015; Cervantes-Sandoval et al., 2016).

En humanos, utilizando resonancia magnética funcional (fMRI), se han identificado áreas cerebrales relacionadas con el olvido intencional, observándose un incremento de la respuesta dependiente de oxígeno en el giro parahipocampal/hipocampo, el giro superior frontal, giro frontal medial, giro medial temporal y giro cingulado. Las regiones relacionadas con el olvido no intencional (debido a una mala codificación de la información) se encuentran en la corteza cingulada posterior y el lóbulo parietal inferior (Wyllie et al., 2008). Otros estudios indican que las instrucciones dadas al sujeto de prueba, que tipo de olvido se desea investigar, la tarea conductual y la técnica a usar, entre otros factores producen diferencias importantes en las áreas que se activan. Finalmente, algunos metaanálisis revelan que la corteza prefrontal (de humanos) es la región más relacionada al olvido (Blumenfeld, 2006).

### **b.4 La corteza prefrontal en los procesos de memoria y olvido**

La corteza prefrontal es la región cortical predominantemente durante el recuerdo y consolidación de la memoria (Shallice et al., 1994). Diversas pruebas en pacientes que presentan lesiones en esta corteza no muestran disminución de su desempeño al evaluar su memoria. Sin embargo, los déficits surgen cuando se les pide recordar información en condiciones de interferencia o distracción. Lo anterior sugiere que la corteza prefrontal controla el recuerdo de memorias al seleccionar la información relevante en un determinado contexto y suprime las memorias irrelevantes (Preston y Eichenbaum, 2013; Shimamura et al., 1995).

Una teoría indica que las interacciones entre la corteza prefrontal medial y el hipocampo durante el recuerdo y la consolidación de la memoria se debe a los siguientes procesos: la información del ambiente que fue procesada por varias vías sensoriales converge en

las cortezas de asociación para ser enviadas posteriormente al lóbulo medial temporal (en específico la corteza perirrinal y la corteza entorrinal lateral). La información espacial del contexto es procesada por la corteza parahipocampal y la entorrinal medial. Subsecuentemente la información procesada converge en el hipocampo, aquí se integra para crear memorias de eventos individuales en un contexto específico (*Davachi, 2006; Roy et al., 2017*). Posteriormente, las eferentes del hipocampo (hipocampo ventral en ratas; anterior en humanos), proyectan hacia la corteza prefrontal medial, en donde se acumula la información acerca del contexto de memorias interrelacionadas. Finalmente, durante el recuerdo de una memoria remota la información viaja por las eferentes de la corteza prefrontal medial hacia la corteza perirrinal, la corteza entorrinal lateral o a través del núcleo reuniens del tálamo directamente al hipocampo, indicando que la corteza prefrontal medial podría controlar la especificidad del recuerdo (*Davachi, 2006; Gilmartin y Helmstetter, 2010; Preston y Eichenbaum, 2013*)

### **c. Memoria, olvido y disfunciones cognitivas**

Los desórdenes psiquiátricos poseen síntomas cognitivos que afectan en gran medida la calidad de vida de los pacientes y son pobremente controlados debido a la ausencia de fármacos efectivos para estos síntomas (*Stewart et al., 2007*).

Debe mencionarse que la cognición se define como un conjunto complejo de actividades mentales conscientes e inconscientes interrelacionadas que incluyen la atención, el aprendizaje, la memoria, la creatividad y la metacognición (*Millan et al., 2012*).

#### **c.1 Disfunciones de la memoria y el olvido**

Los desórdenes cognitivos son déficits comunes en los trastornos psiquiátricos que debido a su complejidad afectan en gran medida la calidad de vida de los pacientes y dificultan el diseño de nuevas terapéuticas para su tratamiento. En general resulta complicado definir con precisión que alteraciones ocurren sobre la cognición en los desórdenes neurológicos y psiquiátricos, ya que diversas patologías presentan deficiencias cognitivas que implican una suma de patrones complejos de



hipofuncionalidad y/o hiperfuncionalidad entre diversas áreas cerebrales (*Millan et al., 2012; Stewart et al., 2007*).

Entre las principales causas que ocasionan un déficit en la memoria se encuentra predominantemente la amnesia, seguida de las demencias, posteriormente las diversas lesiones cerebrales, encefalitis, isquemias, aneurismas y finalmente se encuentran los tumores y el síndrome de Korsakoff (*Byrne, 2017; Della Sala, 2010*).

Una disfunción posible que puede representar una alteración al proceso de olvido sería la incapacidad de “inhibir o disminuir” un recuerdo no deseado (p. ej. estrés postraumático), produciendo de esta forma un estado de hipermemoria. De manera similar, las fobias o la ansiedad social presentan un proceso de extinción (proceso de aprendizaje que involucra la supresión de una memoria) defectivo (*Millan et al., 2012*). Debido a la pobre investigación del olvido en condiciones fisiológicas y de cómo el olvido contribuye en los diversos déficits cognitivos, se ha sugerido la evaluación de la prevención del olvido como un marcador de mayor confianza para determinar el potencial de los fármacos que mejoren la memoria humana (*Quartermain y Leo, 1988*).

**TABLA 1.** Disfunciones cognitivas relacionadas a la memoria en algunos trastornos psiquiátricos.

<b>Trastorno</b>	<b>Función ejecutiva</b>	<b>Memoria Episódica</b>	<b>Memoria semántica</b>	<b>Memoria implícita</b>	<b>Extinción al miedo</b>
<b>Depresión mayor</b>	++	++	+	+	0/+?
<b>Trastorno bipolar</b>	++	++	+	0	+?
<b>Esquizofrenia</b>	+++	+++	++	+	++
<b>TEA</b>	+++	++	+	0/+	++
<b>TADH</b>	+++	0/+	+	+	+
<b>TOC</b>	++	+	0/+	++	++
<b>EPT</b>	++	++	+	+++	0
<b>TP</b>	0/+	+	0/+	++	0
<b>TAG</b>	0	0	+	+	0
<b>EP</b>	++	+	0/+	+++	0?
<b>EA</b>	++	+++	+++	+	0?

**0=Ausente; 0/+ = ambiguo, leve o poco documentado; + = presente, pero no pronunciado; ++ = característica común y marcada; +++ = característica central y severa, casi universal; ? = característica no esclarecida.**

**TEA=Trastorno del espectro autista, TADH= Trastorno por déficit de atención e hiperactividad, TOC= Trastorno obsesivo compulsivo, EPT= Estrés post-traumático, TP= trastorno de pánico, TAG=Trastorno de ansiedad generalizada, EP=Enfermedad de Parkinson, EA= Enfermedad de Alzheimer.**

**(Tomada y adaptada de Millan et al., 2012)**

## **c.2 Amnesia**

Dentro de los trastornos principales de la memoria se encuentra la amnesia, definida como la incapacidad de conservar o recuperar información después de un fenómeno abrupto no natural que deteriora la memoria (por ej., la administración de un fármaco, un daño cerebral, una infección en el cerebro o algún traumatismo) (*Della Sala, 2010*).

La amnesia se clasifica de acuerdo con su cronología (anterógrada y retrógrada), o bien, por su etiología (causas orgánicas y afectivas). Al realizar la comparación entre amnesia y olvido, se debe destacar que las bases neuroanatómicas, farmacológicas y neurobiológicas del olvido, en contraste con la amnesia, se han estudiado poco (*Byrne, 2017*). Finalmente, se ha postulado que un olvido exacerbado (patológico) pudiera ser una forma de amnesia (*Izquierdo, 2015*).

### **d. Serotonina y memoria**

Evidencia creciente indica que el sistema serotoninérgico participa en los procesos cognitivos particularmente modulando el aprendizaje, la memoria a corto y a largo plazo, la consolidación y el olvido (*Schmidt et al., 2017; Štrac et al., 2016*). La posibilidad de poder desvelar los efectos de este sistema en la cognición, la memoria y el olvido podría ser útil para el desarrollo de nuevas terapéuticas o para su mejor entendimiento (*Meneses y Lij-Salmeron, 2012*). Se conoce que la 5-hidroxitriptamina (5-HT) tiene un papel en múltiples funciones fisiológicas y en diversas fisiopatologías, tales como el control de la temperatura, locomoción, apetito, sueño, agresividad, ansiedad, adicción, depresión, por mencionar algunos (*Meneses, 2002*). En este sistema de neurotransmisión, un aumento de su actividad ocasionada por administración de triptófano mejora la memoria en animales, ancianos y pacientes con Alzheimer (EA), Parkinson y esquizofrenia (*Haider et al., 2006*). También el sistema serotoninérgico presenta cambios en el envejecimiento y en patologías como la EA o la amnesia (*Meneses, 2002, 2016; Wirth et al., 2017*).

Este sistema de neurotransmisión se encuentra conformado por la más grande familia de receptores (15 receptores) pre- y/o postsinápticos, difiriendo en su localización y señalización. La 5-HT puede ejercer sus efectos de manera paracrina o de manera

sináptica, de esta manera se añade complejidad a la forma de modular diversos procesos cognitivos (*Meneses, 2017; Seyedabadi et al., 2014*).

Exceptuando al receptor 5-HT<sub>3</sub>, un receptor ionotrópico, los demás son receptores metabotrópicos, dividiéndose de la siguiente forma: el receptor 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>5</sub> se acoplan a la proteína G inhibitoria (G<sub>i</sub>), mientras que el 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> a la proteína G estimulante (G<sub>s</sub>) y el 5-HT<sub>2</sub> a la proteína G<sub>q/11</sub>. Debido a que la serotonina no atraviesa la barrera hematoencefálica, se sintetiza a partir de L-triptófano en los cuerpos celulares de las neuronas de los núcleos de rafe del tronco encefálico. Estos núcleos proyectan de manera descendente a la médula espinal y de manera ascendente hacia todo el cerebro (en particular los núcleos de rafe medial y dorsal). Existe una gran cantidad de proyecciones serotoninérgicas en el hipocampo, la corteza prefrontal y en otras regiones cerebrales asociadas al aprendizaje y la memoria (*Charnay y Léger, 2010*). El papel de estas proyecciones en el hipocampo está asociado a diferentes procesos de memoria, navegación espacial, toma de decisiones y relaciones sociales. En la corteza prefrontal este sistema participa en la memoria de trabajo, la atención, la toma de decisiones y el aprendizaje reverso (*Leiser et al., 2015*).

El efecto neto de la 5-HT en los procesos anteriores depende de los transportadores, la expresión del receptor, la acción de las enzimas del sistema, su localización, su señalización y de su interacción con otros sistemas de neurotransmisión (*Seyedabadi et al., 2014; Švob Štrac et al., 2016*).

TABLA 2. Propiedades de los receptores de serotonina.

Receptor	Mecanismos transduccionales	Afinidad de la 5-HT (pKi)	Formación de dímeros	Agonistas	Antagonistas
5-HT <sub>1A</sub>	<i>G<sub>i</sub> (αβγ)</i> <i>β-arrestina</i>	9.1 – 9.7	Heterodímeros (5-HT <sub>7</sub> )	S-14671; 8-OH-DPAT	WAY-100635; SB 649915
5-HT <sub>1B</sub>	<i>G<sub>i</sub> (αβγ)</i>	8.1	Heterodímeros (5-HT <sub>1D</sub> )	L-694,247	GR-55562
5-HT <sub>1D</sub>	<i>G<sub>i</sub> (αβγ)</i>	8.0 – 9.0	Heterodímeros (5-HT <sub>1B</sub> )	PNU109291	BRL 15572; SB 714786
5-HT <sub>1E</sub>	<i>G<sub>i</sub> (αβγ)</i>	8.0 – 8.2	---	BRL-54443	Metilergonovina
5-HT <sub>1F</sub>	<i>G<sub>i</sub> (αβγ)</i>	8.0	---	LY 344864; LY334370	Metisergida
5-HT <sub>2A</sub>	<i>G<sub>q/11</sub> (αβγ)</i> <i>β-arrestina</i>	8.9	Homo / Heterodímeros	2,5-dimetoxi-4- yodoamfetamina (DOI)	Asenapina
5-HT <sub>2B</sub>	<i>G<sub>q/11</sub> (αβγ)</i> <i>β-arrestina</i>	8.0	Homo / Heterodímeros	Metilergonovina; Ro 60-0175	BF-1
5-HT <sub>2C</sub>	<i>G<sub>q/11</sub> (αβγ)</i> <i>β-arrestina</i>	6.8 - 8.6	Homo / Heterodímeros	YM348; AL- 37350A	Sertindol; FR260010
5-HT <sub>3 (A, B)</sub>	Receptor Ionotrópico (Na <sup>+</sup> /Ca <sup>2+</sup> )	6.5 - 6.9	---	Quipazina; m- clorofenilbiguani da	Palonosetron; TMB-8
5-HT <sub>4</sub>	<i>Gα<sub>s</sub> (AC, βγ)</i> <i>Gα<sub>13</sub> (RhoA, ASK1)</i>	5.9 - 7.0	Posible (5-HT <sub>6</sub> ) <sup>a</sup>	PF-04995274	SB-207710
5-HT <sub>5</sub>	<i>Gα<sub>i</sub> (AC, βγ)</i> <i>Gα?</i>	5.9 - 6.9	---	5-HT; RU-2469	Metiotepina; SB-699551
5-HT <sub>6</sub>	<i>Gα<sub>s</sub> (ACI, ACIII)</i> <i>mTOR, Cdk5, Jab, Fyn</i>	6.6 - 7.9	Posible (5-HT <sub>4</sub> ) <sup>a</sup>	WAY-181187; WAY-208466	Interpiridina; Idalopiridina
5-HT <sub>7</sub>	<i>Gα<sub>s</sub> (AC, βγ)</i> <i>Gα<sub>12</sub> (mTOR, RhoA, Cdc42)</i>	8.1 - 9.6	Heterodímeros (5-HT <sub>1</sub> )	LP-12 ; LP-44 ; 5-CT	Lurasidona; pimozida
SERT	NA <sup>+</sup> K <sup>+</sup> /Cl <sup>-</sup>	--	---	Inhibidor: Paroxetina, fluoxetina	

<sup>a</sup>Resumen de congreso de Fongang B., 2019.

AC= Adenilato ciclase

Datos obtenidos de Meneses, 2017; Wirth et al., 2017; IUPHAR/BPS (08/07/19).

## **d.1 El receptor 5-HT<sub>6</sub>**

### *d.1.1 Características principales*

Debido a las características estructurales, farmacológicas y transduccionales peculiares de este receptor y a la información obtenida por el uso de oligonucleótidos antisentido, se ha identificado la participación del receptor en conductas como el bostezo, estiramiento, masticación (conductas dependientes de acetilcolina), funciones cognitivas y conductas alimenticias (*Borsini et al., 2011*).

#### *d.1.1.1 Propiedades estructurales*

El receptor 5-HT<sub>6</sub> identificado en 1993 pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs). El receptor se acopla de manera preferencial con la subunidad G<sub>αslo</sub>. El receptor 5-HT<sub>6</sub> en humanos y en ratones es una glicoproteína de 440 aa mientras que en ratas la proteína es de 438 aa. Ontogénicamente el mRNA de este receptor se expresa en el cerebro de la rata el día embrionario 12 coincidiendo con la aparición de las primeras neuronas serotoninérgicas. Debido a su temprana y progresiva expresión en el cerebro, se cree que estos receptores pueden ser importantes para el crecimiento axonal y su correcta orientación (*Borsini et al., 2011; Mosma et al., 1992*).

El primer receptor 5-HT<sub>6</sub> clonado fue obtenido del estriado de rata, denominado St-B17, posee un dominio III (DIII) citoplasmático relativamente corto de 57 residuos y un carboxilo terminal largo de 117 aa. Además, el receptor contiene un sitio potencial de N-glicosilación en la Asn-9 del N-Terminal, así como varios sitios posibles de fosforilación por la PKC o PKA en el asa III y en el carboxilo terminal (*Mosma et al., 1992*).

La caracterización farmacológica de este receptor determinó que los alcaloides del ergot, específicamente la ergolina y sus derivados como el LSD (dietilamida del ácido lisérgico) tenían la mayor afinidad por este receptor y aparentemente actúan como agonistas parciales, pero algunos antipsicóticos como la clozapina actúan como antagonistas. Al realizar mutagénesis sitio dirigida al carboxilo terminal del asa III, se demostró la presencia de un motivo estructural que le proporciona actividad constitutiva al receptor,

estudios posteriores demostraron que el receptor silvestre tiene una actividad constitutiva interna (Kohen *et al.*, 2001; 2002).

#### *d.1.1.2 Distribución del receptor 5-HT<sub>6</sub>*

Algunos estudios utilizando hibridación *in situ*, *northern blot* e inmunomarcaje indican que la expresión de este receptor se limita al SNC (Helboe *et al.*, 2015; Mosma *et al.*, 1992). Estudios con autoradiografía indican una expresión en múltiples áreas cerebrales que incluyen al estriado (núcleo accumbens), corteza, hipocampo, tálamo, amígdala, hipotálamo, cerebelo y bulbo olfatorio. A su vez, los estudios indican que su ubicación es postsináptica, principalmente en dendritas y cilios, con baja cantidad en el soma (Hirst *et al.*, 2000; Meneses *et al.*, 2007). La densidad de este receptor es particularmente alta en el estriado (caudado putamen (CPu), núcleo accumbens (NAc)) y el bulbo olfatorio de humanos y roedores. En otras áreas cerebrales, una expresión del mRNA similar a la del estriado se observa en la capa granular del giro dentado y CA del hipocampo; estudios de autoradiografía muestran niveles moderadamente altos en el hipocampo, neocorteza, algunos núcleos talámicos e hipotalámicos y en la habénula (Huerta-Rivas *et al.*, 2010). Además, el inmunomarcaje muestra bajos niveles en el cerebelo y una expresión nula del mRNA en tejidos periféricos (Mosma *et al.*, 1992; Roberts *et al.*, 2002; Roth *et al.*, 1994).

Dentro del subtipo neuronal se ha encontrado, mediante la técnica de doble hibridación *in situ*, que el receptor se coexpresa en neuronas piramidales con el transportador de glutamato, la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y con el receptor 5-HT<sub>3</sub>, esto en la corteza prefrontal y el hipocampo (Helboe *et al.*, 2015).

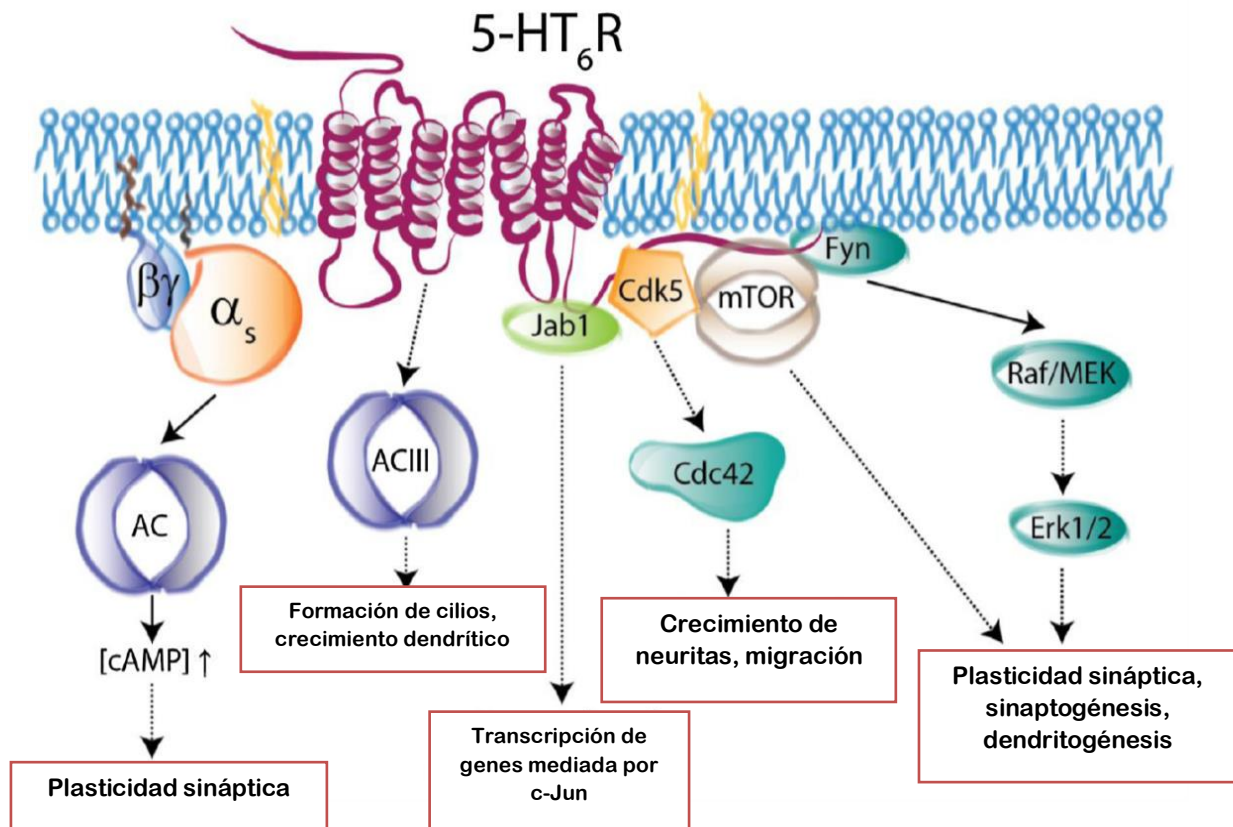
#### *d.1.1.3 Señalización del receptor 5-HT<sub>6</sub>*

Cuando el receptor se une a su ligando endógeno (serotonina) se produce un cambio conformacional que permite la disociación de la proteína G $\alpha$ s del complejo heterotrimérico. Esta subunidad induce la activación de la adenilato ciclasa (AC) para la producción de AMPc (segundo mensajero encargado de activar a la PKA), lo que posteriormente puede desencadenar una cascada de fosforilaciones para producir diferentes efectos en la memoria (Kandel, 2001; Mosma *et al.*, 1992).

Mediante los análisis proteómicos se puede predecir y posteriormente identificar a proteínas candidatas que posiblemente interactúan con un receptor específico (Duhr et al., 2014; Meffre et al., 2012). De esta forma se identificaron las primeras proteínas que interaccionan con el receptor 5-HT<sub>6</sub> (figura 5): Fyn y Jab. Yun y colaboradores reportaron que la cinasa Fyn presenta un dominio SH3 que posiblemente sea responsable de la unión al carboxilo terminal del receptor 5-HT<sub>6</sub>. La activación de este receptor induce la autofosforilación de Fyn en la Tyr-420 activando la vía ERK 1/2 (Yun et al., 2007). El receptor 5-HT<sub>6</sub> interactúa también con Jab1, ya que la activación de ambos produce a la fosforilación del factor de transcripción c-Jun (Yun, et al. 2010). Otro grupo ha reportado que la activación del receptor por el agonista LY-586713 aumenta la expresión de BDNF y de la proteína Arc en corteza e hipocampo además este efecto es contrarrestado por un antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> (de Foubert et al., 2007).

El receptor 5-HT<sub>6</sub> puede formar un complejo de señalización con mTOR (Meffre et al., 2012). Poco se sabe sobre sus mecanismos, pero hay evidencia de que mTOR puede fosforilar a Cdk5 (la cual posee actividad constitutiva al asociarse con el receptor 5-HT<sub>6</sub>) para iniciar el crecimiento de neuritas vía Cdc42, en cultivos de neuronas del hipocampo y del estriado (Duhr et al., 2014).





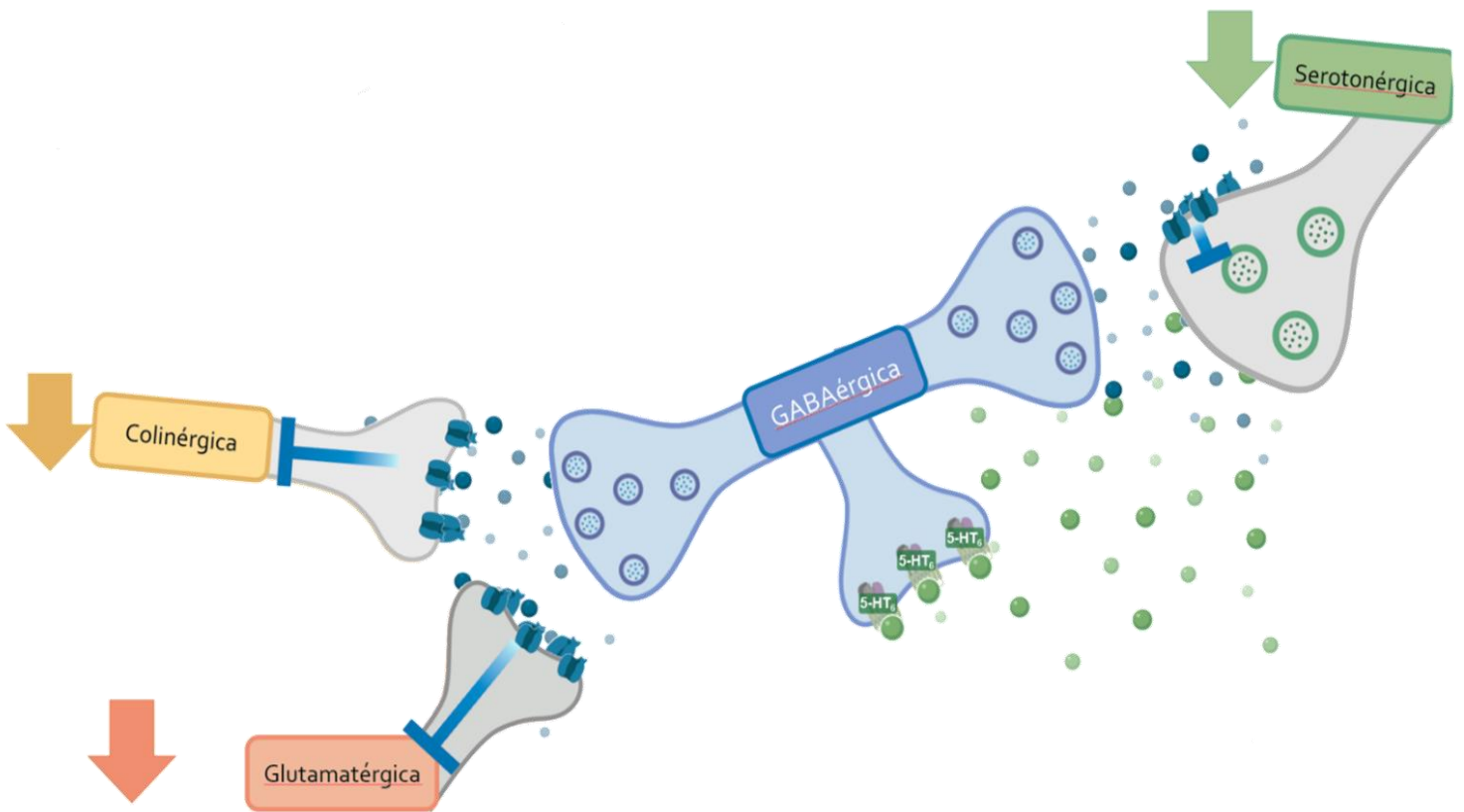
**FIGURA 5. Vías de señalización involucradas en algunos procesos neurobiológicos mediados por el receptor 5-HT<sub>6</sub>.**

(Adaptada de Wirth et al., 2017)

## **d.2 Farmacología del receptor 5-HT<sub>6</sub> en el proceso de memoria y olvido**

Existe evidencia de que los fármacos con afinidad al receptor 5-HT<sub>6</sub> modulan de alguna forma la memoria, aunque los mecanismos actualmente se desconocen (*Borsini et al., 2011; Meneses, 2017*). La mayoría de la evidencia sugiere que los antagonistas poseen efectos promnésicos y/o antiamnésicos al ser evaluados en diversas pruebas conductuales, empero, algunos autores no logran replicar estos resultados (*Kendall et al., 2011; Loiseau et al., 2008; Meneses et al., 2011; Woods et al., 2012*). En estudios de microdiálisis se ha demostrado que los antagonistas incrementan los niveles de glutamato, acetilcolina y catecolaminas en la corteza frontal e hipocampo, mientras que el agonismo incrementa la frecuencia de liberación espontánea de GABA (*Codony et al., 2011*). Algunos autores reportan que el uso de agonistas relativamente potentes producen efectos promnésicos en algunas pruebas conductuales (*Woods et al., 2012*), pero en otras pruebas crea déficits (*Liy-Salmeron y Meneses, 2008; Loiseau et al., 2008; Otto et al., 2011*). Con esta información es evidente que la actividad de estos receptores en los procesos cognitivos es más compleja de lo esperado (figura 6).

Existen varias interpretaciones para estos efectos, la más sencilla y ampliamente aceptada es explicada por la interacción del fármaco (ya sea por su afinidad, potencia, agonismo sesgado o agonismo inverso) al receptor. Esta interacción se ve afectada por el área cerebral, las diferentes vías de señalización que pueden activar, el tono serotoninérgico en el momento de evaluación de una conducta y la integración de los efectos producidos por los diferentes neurotransmisores en cada área cerebral (*Borsini et al., 2011*). En la tabla 2 se presentan las propiedades de algunos fármacos de interés para esta tesis. Y en la tabla 3 un resumen de la utilidad clínica de estos fármacos.



**FIGURA 6. Mecanismo de la regulación de algunos sistemas neuroquímicos del receptor 5-HT<sub>6</sub>.**

Muestra la regulación del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre otros sistemas de neurotransmisión (GABA, glutamato y acetilcolina) en condiciones fisiológicas, suponiendo una liberación tónica de serotonina hacia las interneuronas gabaérgicas.

**Adaptada de Kendall et al., 2011; Codony et al., 2011; Schechter et al., 2008 ; Woods et al., 2012.**

TABLA 3. Propiedades relevantes de algunos fármacos selectivos del receptor 5-HT<sub>6</sub> para este proyecto.

Fármaco	Afinidad por	Ki (nM)/pKi	Potencia (EC <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub> )	Constantes farmacocinéticas	Referencia
5-HT (Serotonina) Ligando endógeno	5-HT <sub>6</sub>	<b>12.5/7.9</b>	114± 10	---	(Boess et al., 1997)
WAY-181187 Agonista completo	5-HT <sub>6</sub> 5-HT <sub>2C</sub>	<b>2.0/8.7</b> 124/6.91	6.5± 0.5nM ----	t <sub>1/2</sub> =3.1 h; C <sub>max</sub> =0.049 µg/mL; t <sub>max</sub> =1.7h; Cl=7.4 L/h/Kg; V <sub>ss</sub> =24L/kg; F=23%	(Cole et al., 2007)
EMD-386088 <sup>d</sup> Agonista parcial	5-HT <sub>6</sub> 5-HT <sub>3</sub> DAT 5-HT <sub>1D</sub>	<b>7.4-7.9/ 8.1<sup>a</sup></b> 34/7.47 <sup>b</sup> 41/7.38 <sup>b</sup> 110 / 6.96 <sup>b</sup>	1 ± 0.4nM ---- ---- ----	t <sub>1/2</sub> =67 min; t <sub>max</sub> =5min; V <sub>d</sub> /F=102L; Cl/F=1038.8 mL/min/kg; B/P=4.5:1	(Jastrzêbska-Wiêsek et al., 2013; Mattsson et al., 2005)
SB-742457 (Interpirdina) “Agonista Inverso completo”	5-HT <sub>6</sub>	<b>0.28/9.6</b>	2.8% <sup>c</sup>	t <sub>1/2</sub> =3.0h; F=76%; B/P=0.5:1	(Krogsgaard-Larsen, et al., 2014; Upton et al., 2008; Vanda et al., 2018)
PZ-1444 <sup>e</sup> Agonista inverso parcial	5-HT <sub>6</sub> 5-HT <sub>2A</sub> 5-HT <sub>1A</sub>	<b>6/8.22</b> 441/6.35 2790/5.56	17.6 ± 3.1 nM ---- ----	t <sub>max</sub> = 15 min; C <sub>max</sub> = 139 ng/mL ; Cl <sub>int</sub> = 1.73 mL/min/Kg	(Vanda et al., 2018)

SB-399885 Antagonista	5-HT <sub>6</sub>	<b>1.5/8.8</b>	2% <sup>c</sup>	t <sub>1/2</sub> =1.7 h; F=52%; B/P=0.15 :1	(Hirst et al., 2006; Wesołowska y Nikiforuk, 2007)
CPPQ Antagonista	5-HT <sub>6</sub>	<b>3/8.5</b>	93% <sup>c</sup>	----	(Grychowska et al., 2016)

<sup>a</sup>Datos de desplazamiento (IC<sub>50</sub>) del [<sup>3</sup>H]-LSD unido al receptor 5-HT<sub>6</sub> en células HEK. <sup>b</sup> Datos obtenidos en el receptor 5-HT<sub>6</sub> humano en células CHO. <sup>c</sup> Porcentaje de inhibición de la respuesta por un agonista. <sup>d</sup> Datos obtenidos de un modelo de farmacocinética no compartimental. <sup>e</sup> Evaluación de estabilidad y farmacocinética preliminares, algunos datos son obtenidos *in vitro* con microsomas de hígado de rata.

DAT= Transportador de dopamina; t<sub>1/2</sub>= tiempo de vida media; t<sub>max</sub>=tiempo en alcanzar la máxima concentración en PLASMA; V<sub>d</sub>/F= Volumen de distribución aparente; B/P= Proporción de la concentración en cerebro sobre la concentración en plasma; F= Biodisponibilidad relativa; V<sub>ss</sub>= Volumen de distribución en la fase estacionaria; Cl/F= aclaramiento relativo; Cl<sub>int</sub>= aclaramiento intrínseco.

Fármaco	Trastornos	Blanco molecular	Tratamiento en otras patologías	Posibles efectos secundarios.	Evidencia clínica
<b>Antagonistas</b>	EQZ, TB, EA, TEA, SXF, ET	↓mTOR (CPF) ↑NCAM-PSA ↑oscilaciones γ (CPF) ↑ACh, Glu, DA (CPF, Hpc)	Ansiedad (Ansiolítico)  Depresión (Antidepresivo)  Obesidad (Disminuye apetito)  Epilepsia (Anticonvulsivo)	Posible interferencia con la cognición al reducir la activación de la vía CREB y ERK	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SGS518: ↑Cognición en EQZ</li> <li>• SB-742457: ↑Cognición en EA</li> <li>• PRX07034: ↑cognición en sujetos de prueba voluntarios.</li> </ul>
<b>Agonistas</b>	EA (?)	↑GABA (CPF, Hpc)	Ansiedad (Ansiolítico)  Depresión (Antidepresivo)	----	----

EQZ, Esquizofrenia; TB, Trastorno bipolar; EA, enfermedad de Alzheimer; TEA, Trastorno del espectro autista; SXF, síndrome del X frágil; ET, Esclerosis tuberosa.  
CPF, Corteza prefrontal; Str, Estriado; Hpc, Hipocampo.

**Recopilado de Millan, 2012; Karila et al., 2015 y Weston, 2012.**

## 2. Justificación

---

Debido a que los déficits cognitivos comprometen la calidad de vida de los pacientes y no poseen un tratamiento efectivo, el receptor 5-HT<sub>6</sub> ha mostrado ser un blanco terapéutico prometedor (*Dawson et al., 2011; Millan et al., 2012*). Además, aún se desconocen los sustratos moleculares del receptor asociados a los efectos positivos sobre la memoria (*Borsini et al., 2011; Hardt et al., 2013; Mitchell y Neumaier, 2005*). Por ende, el estudio farmacológico de los receptores 5-HT<sub>6</sub> y la forma en que pueden modular los procesos como el olvido y el recuerdo, son de utilidad para identificar los mecanismos moleculares y las áreas cerebrales diana donde producen sus efectos promnésicos.

## 3. Hipótesis

---

La administración de agonistas selectivos del receptor 5-HT<sub>6</sub> producirá olvido y una deficiencia en la recuperación de una memoria.

## 4. Objetivos generales

---

- Realizar una caracterización farmacológica del papel del receptor 5-HT<sub>6</sub> en dos etapas críticas para el proceso del olvido.

## 5. Objetivos específicos

---

- 1.1. Realizar una caracterización farmacológica del papel del receptor 5-HT<sub>6</sub> en dos etapas críticas para el proceso del olvido.
  - Durante la formación del olvido.
  - Al momento de recuperar la información almacenada.
  - En ambos momentos.
- 1.2. Evaluar el efecto de la coadministración del agonista inverso con el antagonista en distintos tiempos de administración.

## 6. Materiales y métodos

---

### 6.1 Sujetos de prueba

Para todos los experimentos se emplearon ratas macho de la cepa Wistar (de doce semanas de edad y con un peso de 300-400 g). Estos animales se separaron en cajas de acrílico (n=6-7) y se mantuvieron en un cuarto con temperatura constante de  $23 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$  y en un ciclo de luz/obscuridad de 12 h (las luces se encienden a las 7 a.m.). Los animales se sometieron a un periodo de restricción de alimento para reducir su peso al 85% respecto al peso inicial una semana antes de los experimentos. Al finalizar cada sesión de ensayos, los animales recibieron 30 minutos de acceso a comida para evitar una pérdida posterior de su peso.

En todos los procedimientos se siguieron los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y los establecidos en el proyecto CICUAL No. 0006-12.

### 6.2 Equipo y prueba conductal de automoldeamiento

El equipo de automodelamiento (Coulbourn Instruments, Lehigh Valley) combina el condicionamiento clásico e instrumental, permitiendo el moldeo de situaciones conductuales que asemejan una situación de autoaprendizaje, a través de la integración de información obtenida mediante una señal y una meta (p.ej. comida). Este equipo consiste en un marco de metal con paredes de aluminio y acrílico, de dimensiones 25x29x25 cm (ancho, largo y alto) y con un piso de barras de aluminio. Un orificio iluminable para la conducta de introducir la nariz (*nose-poke*), se localiza a 4 cm por encima del suelo y a 10 cm de la pared. Un comedero se coloca a 5 cm a la derecha del orificio (*nose-poke*) y a 3 cm encima del suelo. El comedero y el orificio (*nose-poke*) poseen una fotocelda que detecta los contactos que realice la rata. El equipo está completamente automatizado reduciendo la intervención humana.



### 6.2.1 Entrenamiento y ensayos de automoldeamiento

Para la sesión de entrenamiento las ratas con el 85% de su peso inicial se introdujeron en el equipo de automoldeamiento donde inicialmente tuvieron acceso a 50 *pellets* de comida de aproximadamente 45 mg (Bio-serv, Frenchtown). Una vez que la rata realizó 150 contactos al comedero y se comió todos los pellets, el programa inicia la sesión de entrenamiento.

Los ensayos consisten en pruebas discretas que inician con la presentación de un orificio iluminado durante 8 segundos (estímulo condicionado), seguido de la entrega de un *pellet* de comida (estímulo incondicionado), con un tiempo entre ensayos de 60 s. Cuando la rata introduce su nariz en el orificio iluminado, la luz del orificio se apaga e inmediatamente se entrega un *pellet* de comida. Si el animal acude por su recompensa al comedero esto es considerado como una respuesta condicionada. Posterior a esta serie de eventos el tiempo entre ensayos inicia (pareado instrumental respuesta-estímulo) y finaliza un ensayo. De esta manera, la sesión de entrenamiento consistió en 10 ensayos mientras que las sesiones para la evaluación de memoria a corto y largo plazo consistieron en 20 ensayos.

Para el protocolo de olvido, posterior al ensayo a las 48 horas, las ratas se sometieron a un período de interrupción de los ensayos de 7 días (168 h). Luego de este período se evaluó la retención de la información. El período de interrupción para el protocolo de olvido se basó en estudios que demuestran una disminución de las respuestas condicionadas después de siete días (*Meneses y Téllez, 2014*).

### 6.3 Fármacos

El Clorhidrato de 5-cloro-2-metil-3-(1,2,3,6-tetrahidro-4-piridinil)-1H-indol (EMD-386088) y el clorhidrato de N-[3,5-dicloro-2-(metoxi) fenil]-4-(metoxi)-3-(1-piperazinil) benceno sulfonamida (SB-399885) ambos de Tocris (Bioscience, Bristol, UK). El (S)-1-[(3-clorofenil)sulfonil]-4-(pirrolidina-3-il-amino)-1H-pirrolo[3,2-c]quinolina (CPPQ) y el Clorhidrato de 3-(3-fluorobenzil)-2-etil-7-(piperazin-1-il)-3H-imidazo [4,5-b]piridina (PZ-1444) fueron donados por el Dr. Pawel Zajdel, de la universidad Jagiellonian en Polonia para la realización de este proyecto.

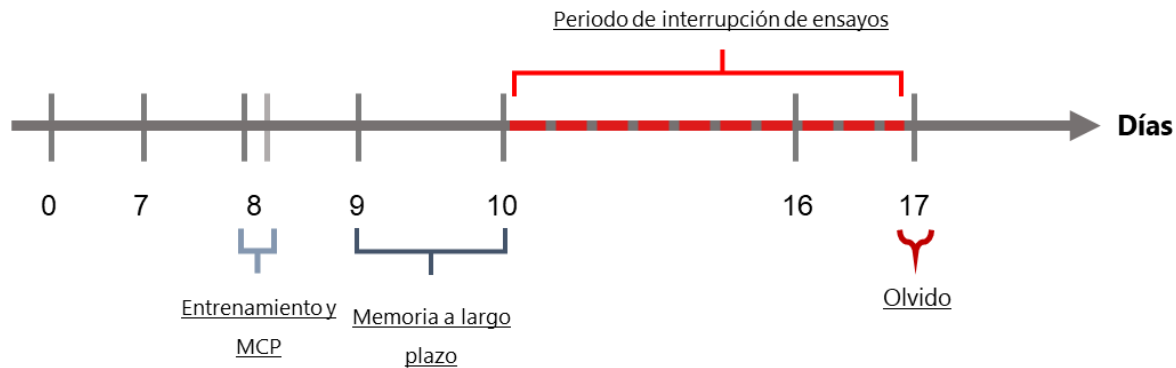
Para la administración sistémica las dosis de los fármacos y el vehículo se ajustaron de tal forma de que se administre un volumen de 1 mL/kg de peso. El EMD-386088, el CPPQ y el PZ-1444 se disolvieron en solución salina isotónica. El SB-399885 se suspendió en Tween 80 al 1%.

Todas las dosis probadas, se obtuvieron de diversos estudios que han demostrado tener un efecto concreto durante el aprendizaje, la consolidación o el recuerdo de una memoria en animales sin tratamiento, en modelos de déficits cognitivos y/o en animales envejecidos (*Grychowska et al., 2016; Hirst et al., 2006; King et al., 2004; Meffre et al., 2012; Meneses et al., 2008; Shortall et al., 2018; Vanda et al., 2018*).

## **6.4 Diseño experimental**

### *6.4.1 Protocolo de formación de memoria y olvido*

Después del periodo de restricción de alimento en el primer día de evaluación todas las ratas se sometieron a la sesión del entrenamiento, una hora y media después se evaluó la memoria a corto plazo. Luego de 24 y 48 horas del entrenamiento, se evaluó la memoria a largo plazo. Solo las ratas que cumplieron con el criterio de haber realizado por lo menos 4 respuestas condicionadas a las 48 h se sometieron al periodo de interrupción de ensayos y fueron llevadas al bioterio, donde tuvieron alimento y agua *ad libitum* durante seis días, en este sexto día se les retiró el alimento y regresaron al laboratorio para que en el séptimo día (168 h) fueron pesadas y evaluadas bajo las mismas condiciones que en el ensayo de la memoria a largo plazo (*Figura 7*). Se conoce que un periodo de interrupción de ensayos de una semana es un periodo suficiente para que ocurra el olvido de una memoria formada con la prueba conductual de automoldeamiento, conductualmente se expresa en una disminución de las respuestas condicionadas (*Meneses y Tellez, 2014*). Además, en este paradigma de olvido por decaimiento existen dos etapas relevantes que nos permiten modular a este proceso, cuando el olvido se está formando (p.ej. antes del periodo de interrupción de ensayos) y/o al momento de recuperar una memoria (p.ej. antes del ensayo a las 168 h). (*Tellez et al., 2012*).

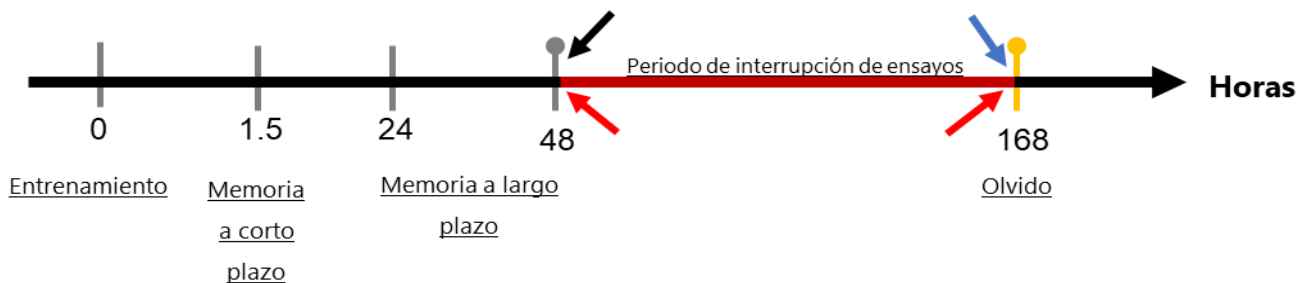


**FIGURA 7. Diseño experimental para el protocolo de formación de memoria y olvido.** Del día 0 a 7 los animales se someten a restricción de alimento, el día 8 se entrenan y se evalúa la memoria a corto plazo (MCP), mientras que en los días 9 y 10 se evalúa la memoria a largo plazo. Del día 10 a 16 los animales se encontrarán en el bioterio y regresan al laboratorio para ser evaluados en el día 17.

## 6.5 Diseño farmacológico

### 6.5.1 Administración sistémica

Los distintos fármacos utilizados se administraron vía intraperitoneal de acuerdo con la Figura 8.



**FIGURA 8. Diseño farmacológico para la evaluación del efecto del receptor 5-HT6 en el olvido.** Las flechas representan el tiempo de administración del fármaco o del vehículo, la flecha negra corresponde a la evaluación del efecto sobre la formación del olvido, la flecha azul al efecto sobre la recuperación de información y la roja a el efecto en ambas fases.

En el experimento de la coadministración del agonista inverso y el antagonista, se administró primero el agonista inverso y unos minutos después (5-10 min) se administró el antagonista.

## 6.6 Análisis estadístico

Para elaborar los cursos temporales de aprendizaje/olvido, las respuestas condicionadas se transformaron en porcentaje de acuerdo con el número total de ensayos para cada sesión. Este porcentaje de respuestas condicionadas se expresó como la media  $\pm$  e.e.m. cuyo posterior análisis con la prueba de análisis de varianza de dos vías seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

El análisis de la información perdida por el paso del tiempo (olvido) se realizó con una normalización de los datos. En esta normalización, el porcentaje de respuestas condicionadas obtenido a las 48 h por cada animal representa la cantidad máxima de información que cada animal puede aprender y éste corresponde a el 100% de información almacenada o a la máxima retención. Cuando se equipara el % de respuestas condicionadas, realizadas por cada animal, a las 168 h con el % obtenido a las 48 h, este valor representa la cantidad de información retenida, véase *ecuación 1*. Al restar 100% menos el % de la información retenida se obtuvo el porcentaje de información perdida.

$$\% \text{Información retenida} = \left( \frac{\% \text{ respuestas condicionadas (168 h)}}{\% \text{ respuestas condicionadas (48 h)}} \right) \times 100$$

***Ecuación 1.*** Normalización de los valores de las respuestas condicionadas para obtener el porcentaje de la información retenida a las 168 h.

Para estas gráficas el % de información retenida y el % de información perdida se expresaron como la media  $\pm$  e.e.m. Esta información se analizó con la prueba de análisis de varianza de dos vías seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

## 7. Resultados y Discusión

---

### 7.1 Experimentos conductuales y farmacológicos

En estos experimentos se busca realizar una caracterización de la participación del receptor 5-HT<sub>6</sub> en los procesos del olvido y del recuerdo, utilizando dosis establecidas en la literatura (como se mencionó en el apartado de fármacos) que pudiesen proteger contra el olvido o favorecerlo (*Grychowska et al., 2016; Meneses et al., 2008; Pérez-García y Meneses, 2005*). Para ello, se usaron fármacos con diferentes actividades intrínsecas: un agonista parcial (EMD-386088), un antagonista (SB-399885) y los fármacos donados por el Dr. Zajdel: el antagonista (CPPQ) y un agonista inverso parcial (PZ-1444).

#### 7.1.1 Evaluación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido

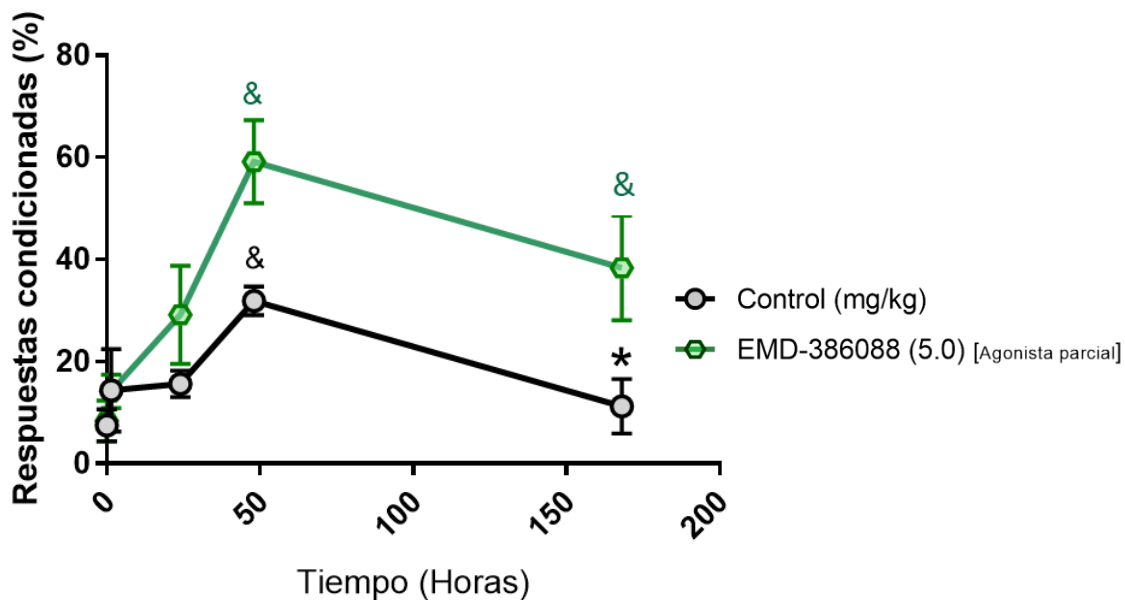
En las figuras siguientes se presenta el curso temporal de la formación de la memoria y su olvido; y el análisis de la retención entre las 48 h y las 168 h con los diversos tratamientos (figuras 9; 10; 11; 12). En cualquiera de los cursos temporales de estas figuras, los primeros tres puntos de cualquier tratamiento corresponden a la fase del aprendizaje y consolidación de la memoria. Esta fase es representada por un incremento gradual en el porcentaje de respuestas condicionadas hasta que se alcanza la máxima retención de cada animal en el ensayo de las 48 h. Posterior a este ensayo, se realizó la administración del vehículo o el fármaco para evaluar el papel del receptor en la formación del olvido. Luego, el animal se somete a una semana (168 h) de interrupción de ensayos.

El grupo tratado con el vehículo, después de esas 168 h, presenta una disminución del porcentaje de respuestas condicionadas con respecto a lo realizado en el ensayo de las 48 h (Figuras 9; 10; 11; 12), indicando que los animales tienen una disminución de la retención o un aumento en el olvido de la información almacenada previamente.

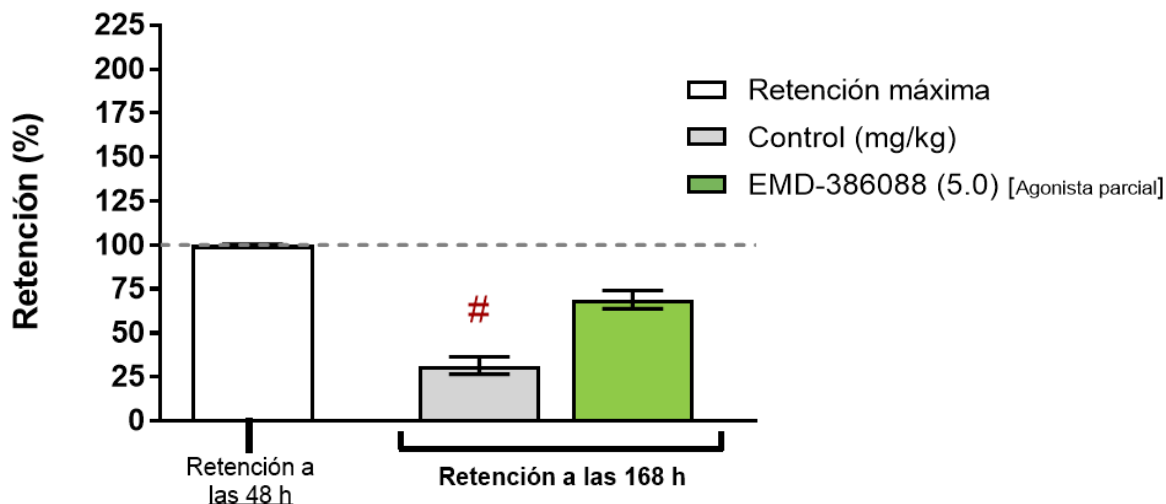
La figura 9a, muestra el curso temporal de la formación de la memoria y el efecto del EMD-386088 sobre el decaimiento de esa memoria, esta activación parcial de los receptores 5-HT<sub>6</sub> evita ligeramente el olvido ( $p=0.060$  vs ensayo de las 48 h). En contraste, los antagonistas (figura 10a y 12a) o el agonista inverso (figura 11a) mantienen la media de respuestas condicionadas después de las 168h.

Los datos anteriores sugieren que los animales presentan tasas de aprendizaje diferentes. Es decir, los animales producen niveles de respuestas condicionadas diferentes tanto en la evaluación de memoria a largo plazo (48 h) como después del periodo de interrupción de ensayos a las (168 h). Debido a esto cada animal posee una cantidad de retención o de olvido diferente. Por ende, en las figuras 9b; 10b; 11b y 12b muestran los datos del ensayo de la retención (168 h) normalizados respecto a las 48 h. Además, en estas figuras el grupo control disminuye hasta 68% su retención respecto a su retención máxima. Es decir, los animales del grupo control retienen solo un 32% de lo aprendido luego del periodo de interrupción de ensayos de 168 h. La prueba ANOVA de dos vías, nos indica que existe significancia en la interacción del tratamiento y la retención a las 168 h ( $F_{(7,99)} = 4.364$ ,  $p = 0.0003$ ) y en solo uno de los efectos principales, el tratamiento ( $F_{(7,99)} = 4.364$ ,  $p = 0.0003$ ). Las comparaciones múltiples nos indican que el PZ-1444 [3.0] y los antagonistas (SB-399885 y CPPQ [3.0]) presentan un efecto anti-olvido, con respecto al control, cuando son administrados antes del periodo de interrupción de ensayos. En contraste, el EMD-386088 ( $p = 0.8905$ ), el PZ-1444 [5.0] ( $p = 0.1881$ ) y CPPQ [5.0] ( $p = 0.6047$ ) presentan una tendencia a evitar el olvido, pero que no difiere de la retención del grupo control.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (D-48)



**b** Efecto del EMD-386088 en la retención de la información (D-48)

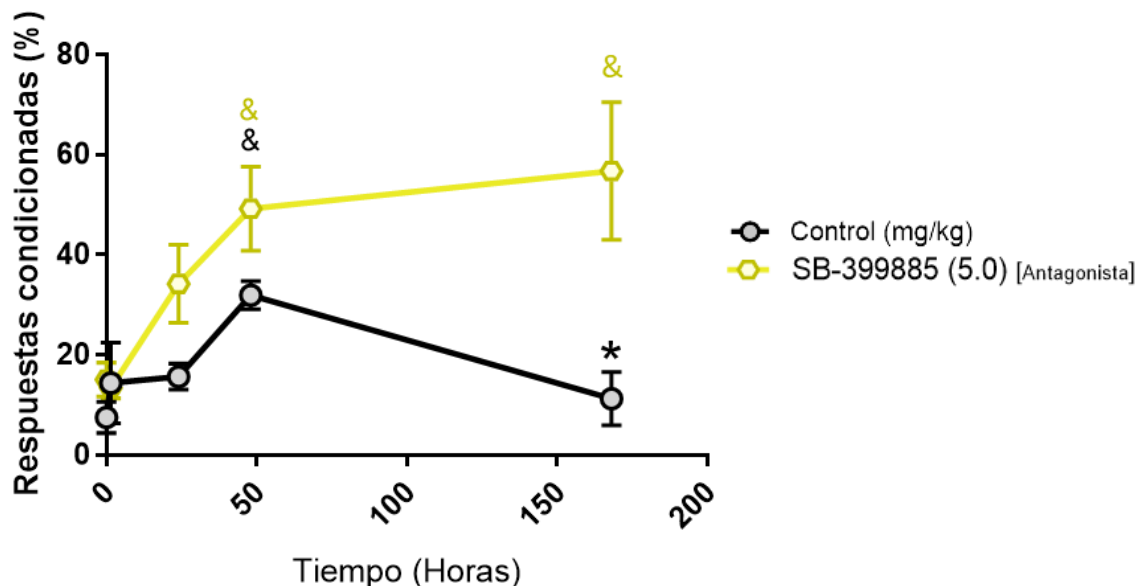


**FIGURA 9. Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el EMD-386088 sobre la formación del olvido.**

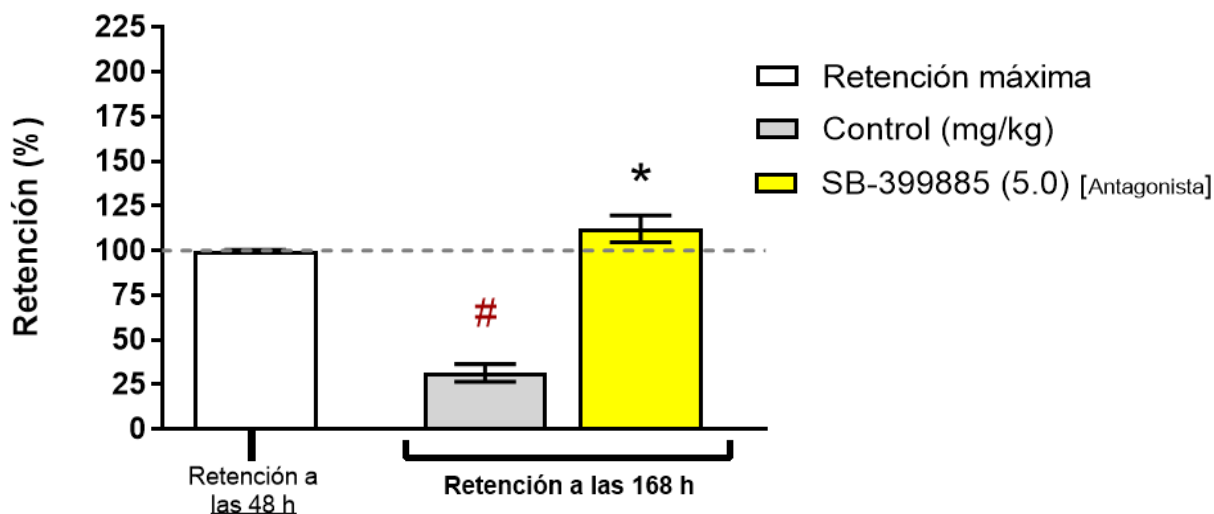
**a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con EMD-386088.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y se evalúa su efecto en el olvido después de 168h. Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.

**b) Evaluación de la retención de la información.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (D-48)



**b** Efecto del SB-399885 en la retención de la información (D-48)



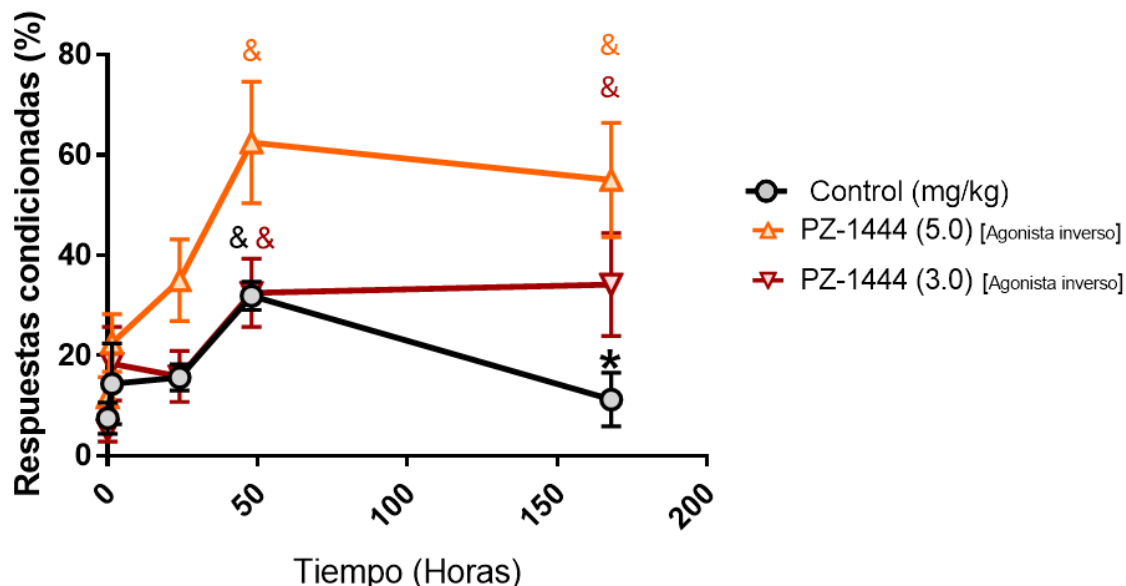
**FIGURA 10. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el SB-399885 sobre la formación del olvido.**

**a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con SB-399885.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y se evalúa su efecto en el olvido después de 168h. Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; &  $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.

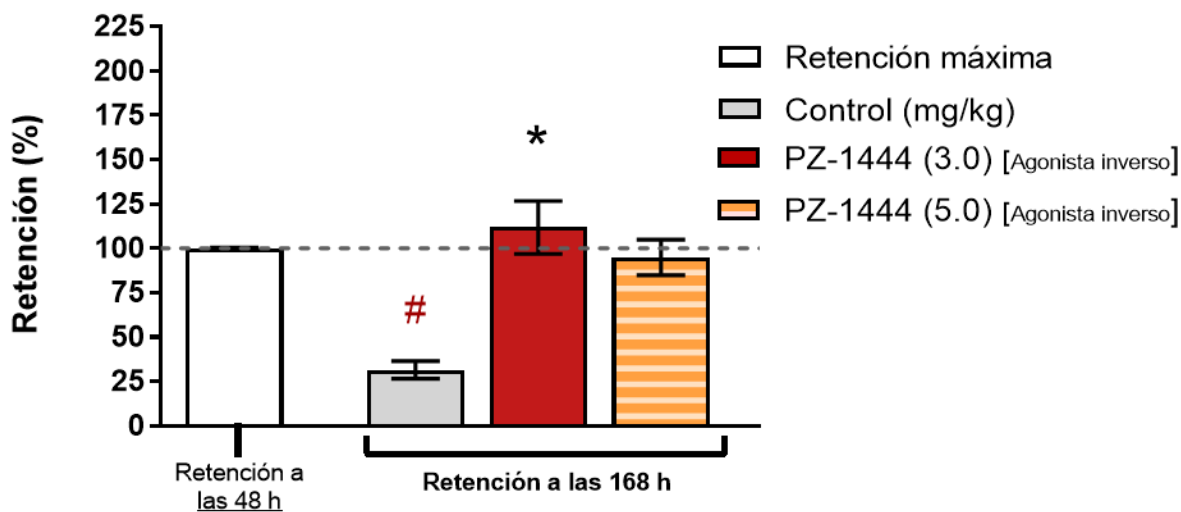
**b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \* $p < 0.05$  respecto al control.



**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (D-48)



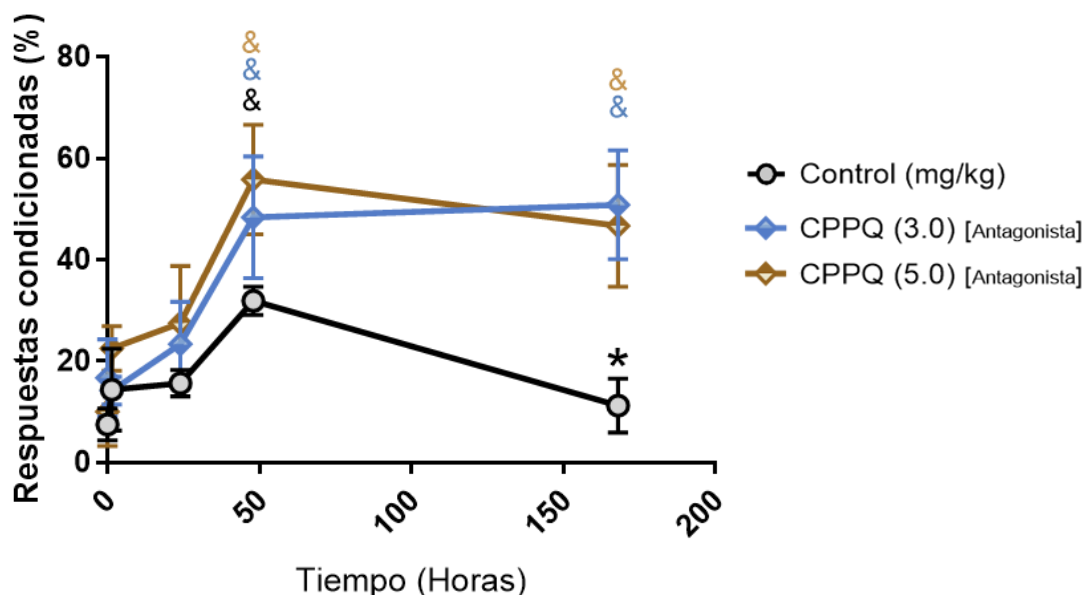
**b** Efecto del PZ-144 en la retención de la información (D-48)



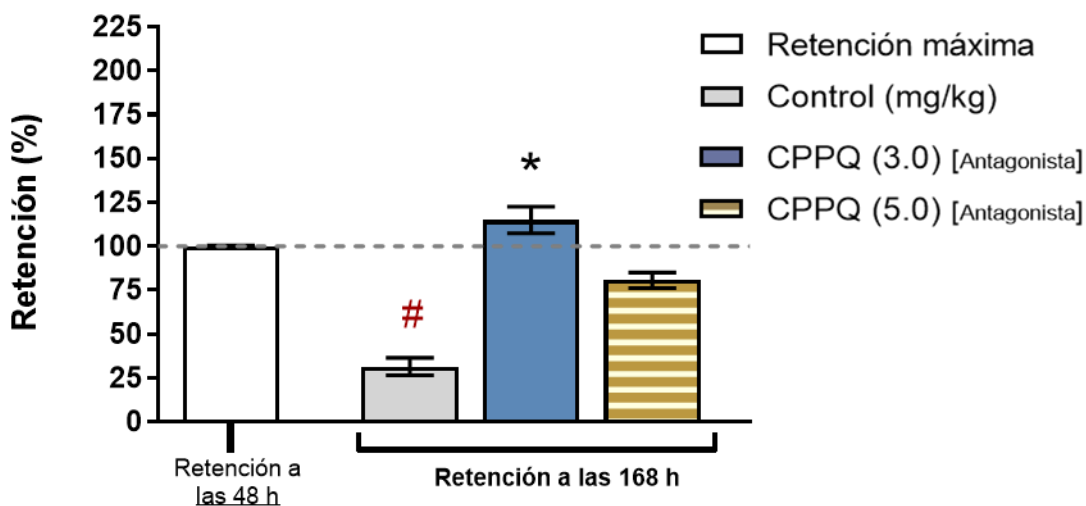
**FIGURA 11. Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el PZ-1444 sobre la formación del olvido.**

- c) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con PZ-1444.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y se evalúa su efecto en el olvido después de 168h. Media ± e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \*p<0.05 respecto al ensayo de las 48 h; &p < 0.001 respecto al entrenamiento.
- d) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media ± e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; # p<0.05 respecto a la retención máxima; \*p < 0.05 respecto al control.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (D-48)



**b** Efecto del CPPQ en la retención de la información (D-48)

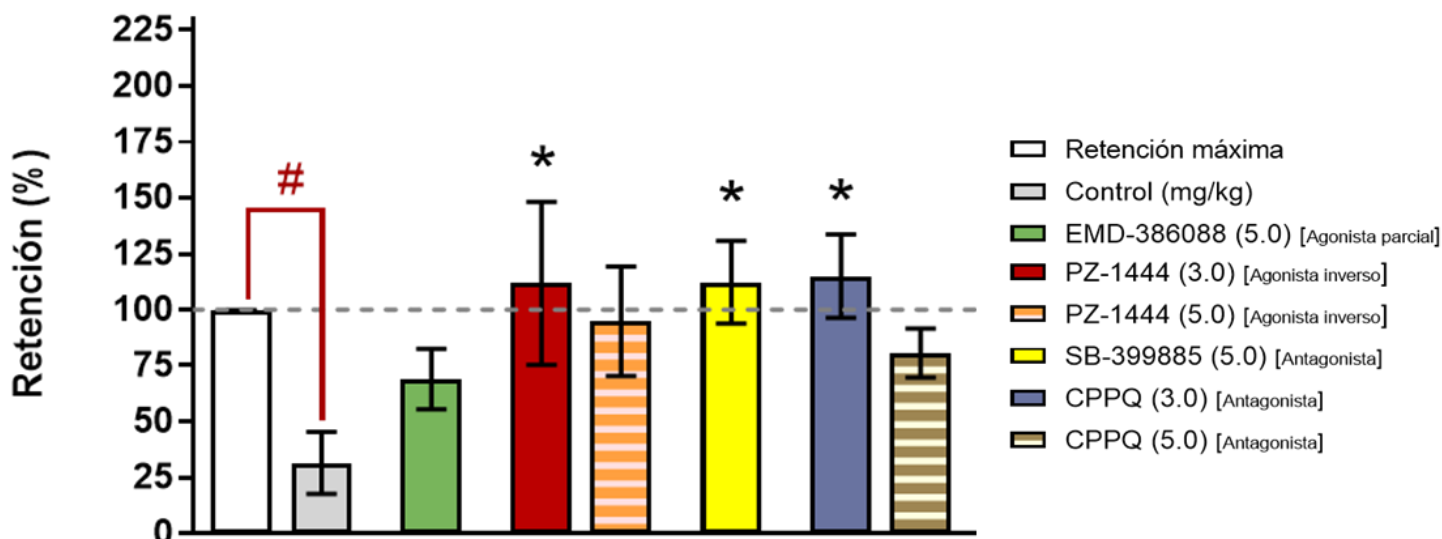


**FIGURA 12. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el CPPQ sobre la formación del olvido.**

**e) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con PZ-1444.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y se evalúa su efecto en el olvido después de 168h. Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.

**f) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \* $p < 0.05$  respecto al control.

## Papel del receptor 5-HT<sub>6</sub> en la retención de la información (D-48)



**FIGURA 13. Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido.**

**Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \* $p < 0.05$  respecto al control. #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima.

Por lo tanto, la inactivación (PZ-1444) o el bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> (SB-399885 o CPPQ [3]) tiene un efecto protector contra el olvido (Figura 13). Nuestros datos con el SB-399885, PZ-1444 y el CPPQ [3.0] concuerdan con el estudio realizado por Grychowska et al. en este estudio la administración de interpiridina (un agonista inverso *in vitro*) o el CPPQ [3.0] (un antagonista en comparación con la interpiridina) después del entrenamiento evita el olvido de una memoria episódica evaluada 24 h después de la administración del fármaco en la prueba de reconocimientos de objetos. Estos animales tratados con “antagonistas” demostraban un mayor tiempo de exploración del objeto novedoso y un mayor índice de discriminación, por lo que el tratamiento aumenta la capacidad de las ratas para retener la información del objeto familiar (Grychowska et al., 2016). Así mismo, King et al. usando el mismo paradigma conductual, pero otros antagonistas (Ro 04-6790 y SB-271046 [10 mg/Kg]), demuestran un efecto similar cuando se administran los fármacos inmediatamente después de la sesión de

entrenamiento y se evalúa su retención 4 h después (*King et al., 2004*). Estos efectos sugieren que se puede estar evitando el olvido o mejorando la consolidación, pero no alterando la retención, ya que son congruentes con los estudios previos del laboratorio, que reportan que Ro 04-6790 mejora la consolidación de la memoria cuando se administra después del entrenamiento (*Meneses, 2003*).

Con respecto a los agonistas, poco se ha investigado su participación en otras etapas fuera de la adquisición o consolidación de la memoria. Woods y colaboradores evaluaron el papel del EMD-386088 y el E-6801 en la prueba de condicionamiento de miedo al contexto, ellos reportan que los agonistas no presentan ningún efecto cuando se administra antes del entrenamiento, después del entrenamiento o antes de la sesión de retención (24 h) ya que no presentan diferencia con respecto al grupo control (*Woods et al., 2012*). Es importante hacer notar que el condicionamiento al miedo produce memorias que no son “olvidadas” con el paso del tiempo y cuya duración puede llegar hasta 16 meses en ratas (*Gale, 2004; Izquierdo, 2015*). Un fenómeno interesante, reportado por Schmidt y colaboradores, demuestra que el agonista completo WAY-208466 no afecta la consolidación de una memoria de miedo, pero si la reconsolidación, ya que produce un menor tiempo de congelamiento cuando se administra en el hipocampo 3 h después de reactivar una memoria (*Schmidt et al., 2017*). Esto sugiere que la activación de los receptores 5-HT<sub>6</sub> pueden alterar o producir una deficiencia para recuperar una memoria previamente almacenada.

De acuerdo con los datos reportados de microdiálisis existe un modelo teórico de los circuitos corticales que son modulados por los receptores 5-HT<sub>6</sub>. En este modelo como se comentó en la introducción (página 30) se postula que los agonistas incrementan los niveles extracelulares de GABA, pero no los niveles basales de glutamato, resultando en la inhibición de neuronas colinérgicas, glutamatérgicas, dopaminérgicas y serotoninérgicas (figura 6) (*Schechter et al., 2008*). Además, estos efectos originados por los agonistas se evitan con la administración previa de un antagonista. También, los antagonistas como el SB-399885 producen un incremento de la liberación de norepinefrina, dopamina y posiblemente glutamato de manera dosis dependiente en la

corteza prefrontal (*Hirst et al., 2006*). Se postula que este efecto se debe a la disminución de la liberación de GABA (*Dawson et al., 2011; King et al., 2004; Woolley et al., 2001*). Otra evidencia importante, se conoce que para mantener la potenciación a largo plazo en una neurona y/o algunos tipos de memorias, es necesario evitar la activación de los receptores NMDA mediante la administración crónica de antagonistas, es decir, que el olvido necesita de la activación de los receptores NMDA (*Hardt et al., 2013; Miguez et al., 2016; Sachser et al., 2016; Villarreal et al., 2002*). Aunado a lo anterior, es necesario resaltar que durante el aprendizaje y la consolidación de la memoria en la prueba conductual del automoldeamiento (ensayo de las 1.5 a las 48 h) hay una regulación a la baja en diversas áreas cerebrales del mRNA y posiblemente también de la proteína del receptor 5-HT<sub>6</sub> (*Huerta-Rivas et al., 2010; Marcos et al., 2010; Meneses et al., 2007*). Por consiguiente, durante los periodos de administración de los fármacos es importante considerar que estos receptores se encuentran regulados a la baja. Finalmente, la expresión de diversos transportadores después de evaluar la memoria de largo plazo (48 h), se encuentra una regulación al alta del transportador de GABA (GAT) en la corteza prefrontal y una disminución de GAT en el hipocampo y estriado; el transportador de aminoácidos excitatorios (EAAT1) aumenta en la corteza prefrontal y estriado, pero disminuye en el hipocampo; asimismo, el transportador de serotonina (SERT) disminuye en el hipocampo (*Tellez et al., 2012*).

Con todos estos antecedentes, se propone a continuación un modelo de la regulación del flujo de la información por los receptores 5-HT<sub>6</sub>, concretamente el modelo se centra en la corteza prefrontal, ya que es el área con mayor relación durante el recuerdo de memorias y su olvido (*Guise y Shapiro, 2017; Preston y Eichenbaum, 2013*).

En este contexto, el olvido de la información que se presenta en el grupo control se debe a las condiciones basales del sistema, donde la activación del receptor 5-HT<sub>6</sub> produce el incremento de la liberación de GABA, el aumento de GAT propicia la disminución de la cantidad de GABA extracelular, atenuando la inhibición de otros sistemas de neurotransmisión. Además, por la actividad constitutiva del receptor o por vía paracrina de la serotonina se activarían los receptores 5-HT<sub>6</sub> en neuronas glutamatérgicas

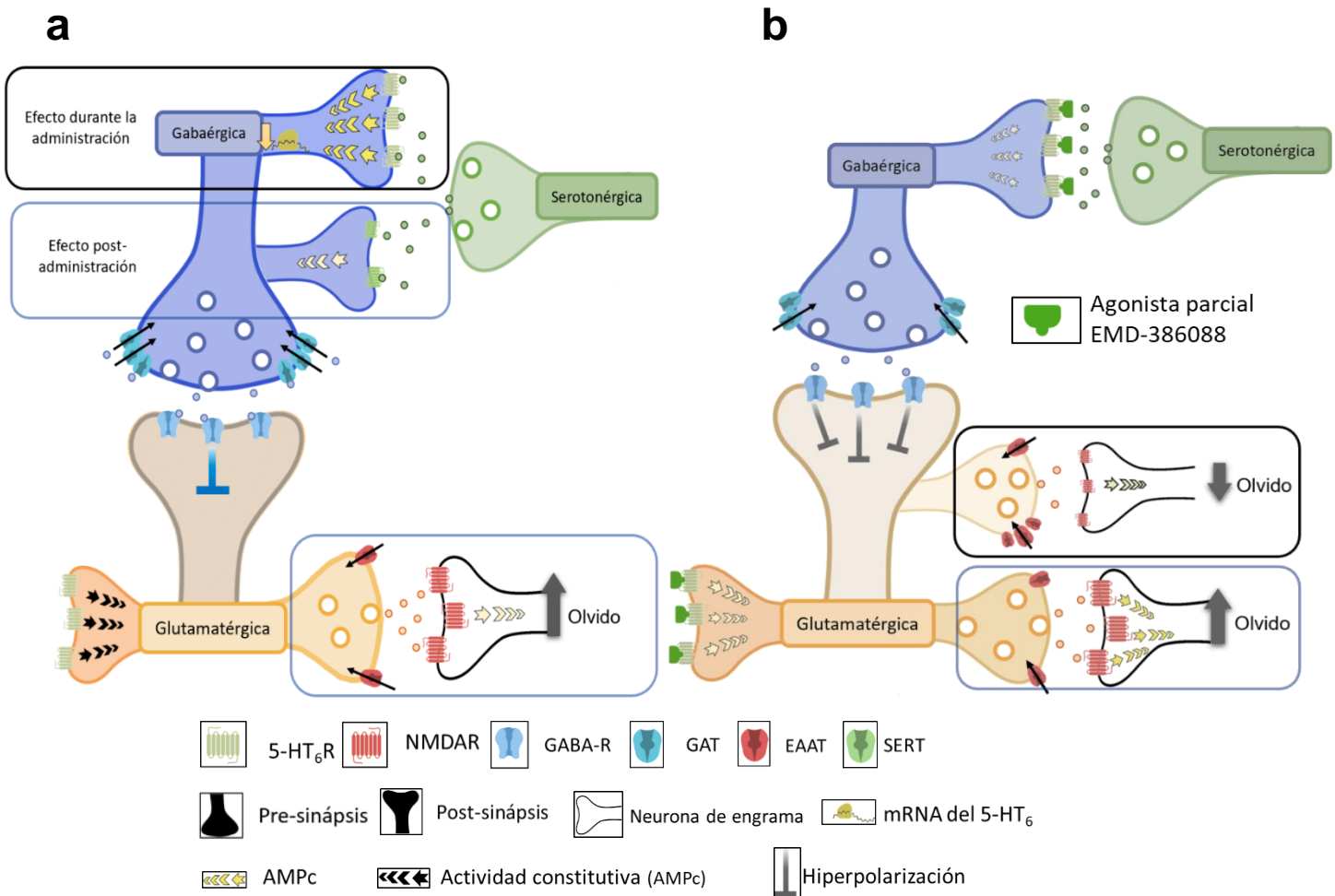
produciendo una liberación pequeña de glutamato, propiciando la activación frecuente de los receptores NMDA en neuronas que almacenan la información que denominaré “*neuronas de engrama*” (figura 14a). De esta forma, se desencadenan los mecanismos del olvido en las células de *engrama* como las fosfatasa PP1 y/o PP2A (véase pag.16). Esta idea concuerda con los datos de producción de AMPc de Pérez-García y Meneses, ellos reportan que la acumulación de AMPc en la corteza prefrontal de animales entrenados y sacrificados después del ensayo de las 48 h no difiere de los animales pasivos (no entrenados), aunque en el hipocampo si hay un aumento en el AMPc (Pérez-García y Meneses, 2008), sugiriendo que cuando se inicia el proceso de olvido, no hay un cambio neto en la excitabilidad neuronal de la corteza prefrontal, pero esto puede cambiar de alguna forma en función del tiempo.

De esta forma, se propone que el pequeño efecto antiolvido del agonista parcial se debe a su capacidad para evitar la activación de los receptores NMDA, este efecto se ve atenuado por el posible antagonismo al tono serotoninérgico. En consecuencia, el EMD-386088 activa parcialmente y al mismo tiempo antagoniza a los receptores 5-HT<sub>6</sub> de las neuronas glutamatérgicas y gabaérgicas, efecto al que se le adiciona la rápida recaptura de GABA por el aumento de GAT (figura 14b). Es así, que se retrasa la despolarización de las neuronas glutamatérgicas y la activación de los receptores NMDA, *ergo*, evitando parcialmente el olvido. En los datos no publicados de Pérez-García la administración (preentrenamiento) del EMD-386088 [5 mg/kg], aumentó ligeramente la producción de AMPc de manera no significativa respecto al grupo control, después del ensayo de las 48h (Pérez-García, 2010). Otra opción es que exista una potenciación del efecto de la serotonina sobre las neuronas gabaérgicas, ya que en estudios funcionales *in vitro*, se demuestra que con concentraciones bajas de serotonina el EMD-386088 produce una potenciación del efecto (aumento en la producción de AMPc), mientras que en concentraciones mayores empieza a antagonizar a la 5-HT (Jastrzębska-Wiêsek et al., 2013). Adicionalmente, se puede integrar la participación del receptor 5-HT<sub>3</sub> ya que el EMD-386088 posee una ligera afinidad por el receptor (pKi= 7.47) aunque se desconoce si este fármaco activa o bloquea al receptor (Jastrzębska-Wiêsek et al., 2018). Posiblemente un agonista completo podría favorecer el olvido, ya que el agonista WAY-

181187 produce deficiencias en la consolidación de la memoria en un paradigma de memoria social. Además, un posible sinergismo de estos déficits se presenta al coadministrar dosis inactivas del agonista con escopolamina (amnesia farmacológica), efectos que son revertidos por los antagonistas del 5-HT<sub>6</sub> (*Loiseau et al., 2008*).

Las ideas anteriores no serían aplicables para el caso de los antagonistas ya que los estudios de microdiálisis reportan que estas sustancias incrementan los niveles extracelulares de glutamato y acetilcolina, exclusivamente en el hipocampo y corteza frontal (*Dawson et al., 2000; Hirst et al., 2006*). En consecuencia, el incremento de glutamato debería activar los receptores NMDA y producir olvido (*Sachser et al., 2016*), efecto que no sucede en nuestros datos. La hipótesis propuesta por Woods y colaboradores que pudiese explicar estos posibles efectos paradójicos, indica que los antagonistas actúan solamente sobre las neuronas gabaérgicas (página 32).

Mientras que los agonistas actúan solamente sobre el receptor 5-HT<sub>6</sub> de las neuronas glutamatérgicas, que bajo condiciones basales reciben un tono serotoninérgico pequeño (*Woods et al., 2012*). Aunado a lo anterior, el antagonista SB-399885 se ha asociado con una mejoría en la consolidación de la memoria y una reversión de la amnesia farmacológica al regular al alza el mRNA del receptor 5-HT<sub>6</sub> (*Huerta-Rivas et al., 2010*). Estas evidencias se ajustan a los datos no publicados de producción de AMPc de Pérez-García, donde la dosis de 10 mg/Kg del SB-399885 (administrado preentrenamiento) aumenta de manera significativa los niveles de AMPc en la corteza prefrontal después del ensayo de las 48 respecto al grupo control (*Pérez-García, 2010*). Posiblemente, durante los 7 días de formación del olvido, exista un aumento similar o mayor en la producción de AMPc en las neuronas gabaérgicas ocasionado por este aumento de los receptores 5-HT<sub>6</sub> (ocasionado por los antagonistas), manteniendo inhibidas a las neuronas glutamatérgicas por periodos más largos y así evitando el olvido (Figura 14c).



**FIGURA 14. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal.**

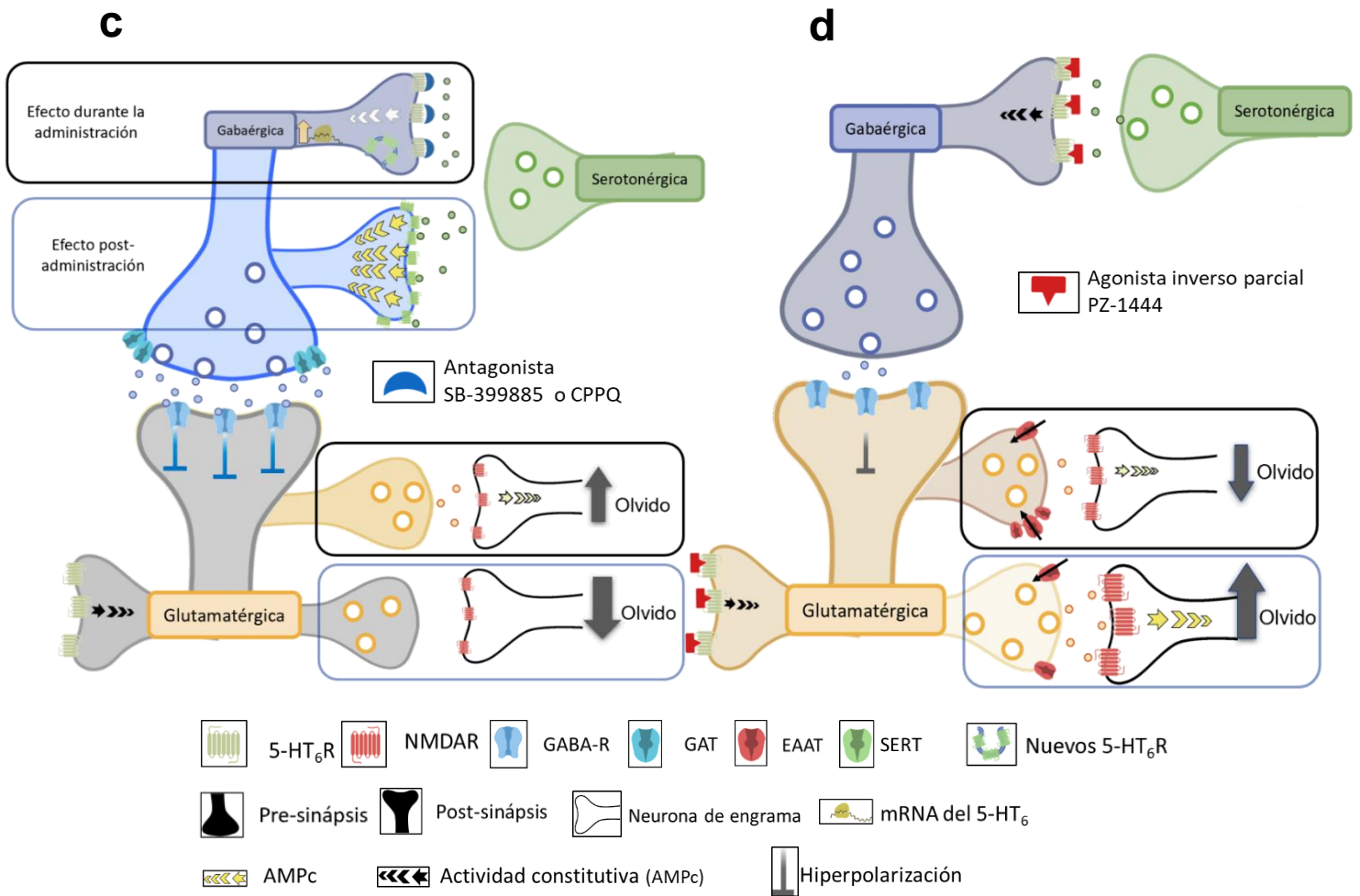
- a) **Grupo control.** Posterior a la evaluación de la memoria a largo plazo, hay una regulación a la baja del receptor 5-HT<sub>6</sub> y un aumento de GAT; así durante los siete días de olvido, hay una disminución de la inhibición a las neuronas glutamatergicas, favoreciendo la liberación de glutamato a las neuronas de engrama originando el olvido de la información.
- b) **Grupo con el agonista parcial.** Con este grupo el EMD-386088, activa parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, mientras que en las neuronas gabaérgicas antagoniza el efecto de la serotonina, en las glutamatergicas se debe de integrar el efecto de hiperpolarizante de los receptores activados por GABA y la despolarización por el 5-HT<sub>6</sub>R, permitiendo que las neuronas glutamatergicas retarden su despolarización, evitando parcialmente el olvido.

*Los rectángulos negros corresponden al efecto durante la administración del vehículo o fármaco. Los rectángulos azules al efecto posterior a la administración.*



En el caso del agonista inverso sucedería un efecto similar al inactivar parcialmente a los receptores 5-HT<sub>6</sub> (independientemente de su expresión) tanto en neuronas gabaérgicas como glutamatérgicas, se aumenta ligeramente los niveles de GABA y glutamato hasta que el fármaco es eliminado, al parecer permanece hasta por 5 h en el cerebro (*Vanda et al., 2018*). Posteriormente, se regresarían a las condiciones basales donde predominaría el tono gabaérgico, produciendo un efecto antiolvido muy similar al obtenido con el antagonista. Respecto a mecanismos moleculares posiblemente el fármaco inactive a las vías de señalización no canónicas del receptor (Figura 14d).

Los enunciados anteriores sugieren que la inactivación o el bloqueo de los receptores 5-HT<sub>6</sub> es importante para evitar el decaimiento de una memoria, aunque el mecanismo por lo cual sucede sigue sin ser claro.



**FIGURA 14. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal (Continuación).**

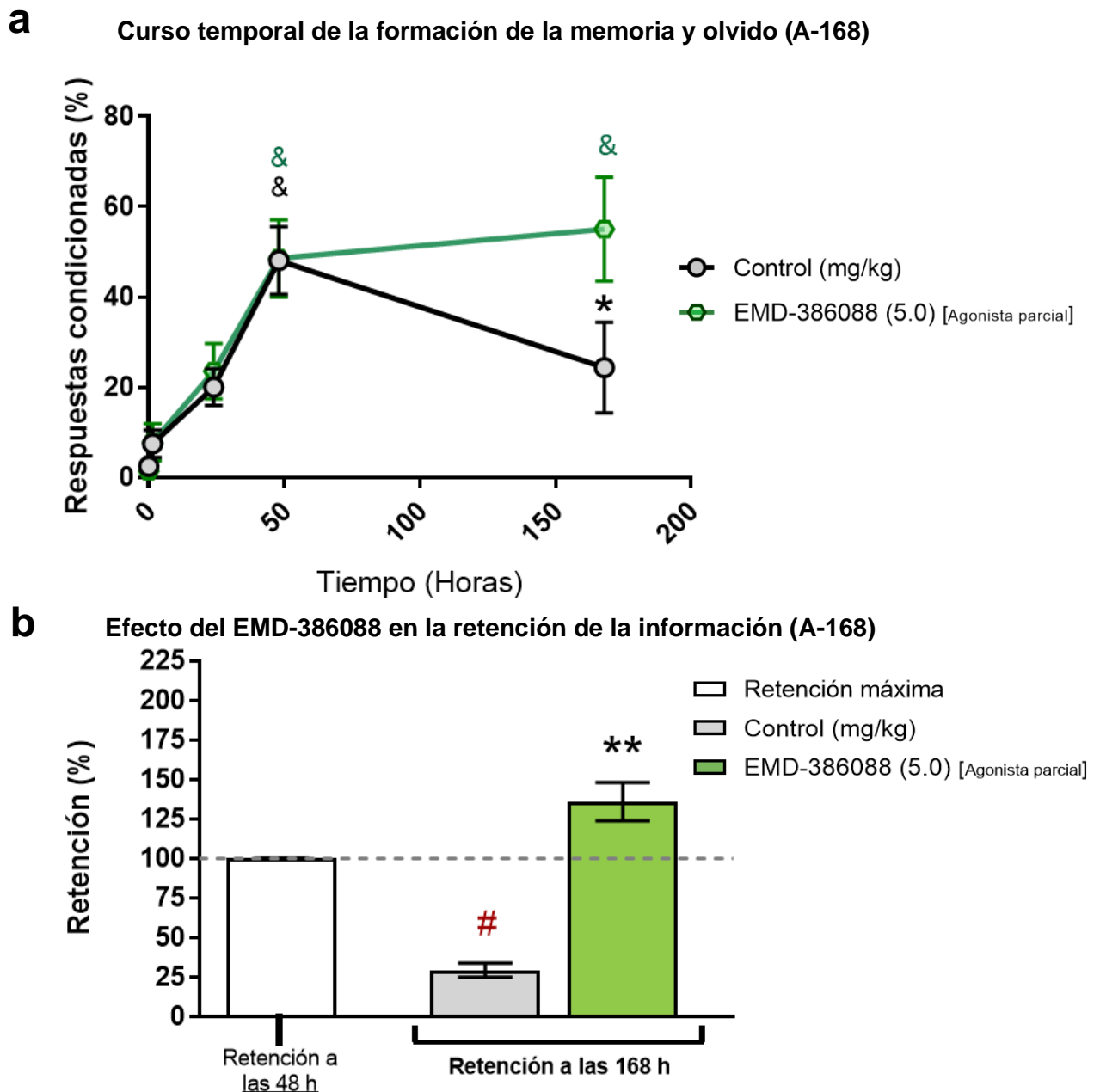
- c) **Grupo con el antagonista.** Después de la evaluación de la memoria a largo plazo y administración del fármaco, hay una regulación al alta del receptor 5-HT<sub>6</sub>. Durante los siete días de olvido el incremento de los receptores 5-HT<sub>6</sub> permiten la inhibición a las neuronas glutamatérgicas, evitando la liberación de glutamato hacia las neuronas de engrama y por ende el olvido de la información.
- d) **Grupo con el agonista inverso parcial.** En el caso de este fármaco inactiva parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, tanto en neuronas glutamatérgicas como en las neuronas gabaérgicas. Disminuyendo la liberación de GABA y glutamato la despolarización por el 5-HT<sub>6</sub>R, evitando temporalmente el olvido.

Los rectángulos negros corresponden al efecto durante la administración del vehículo o fármaco. Los rectángulos azules al efecto posterior a la administración.

### 7.1.2 Evaluación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la recuperación de la memoria

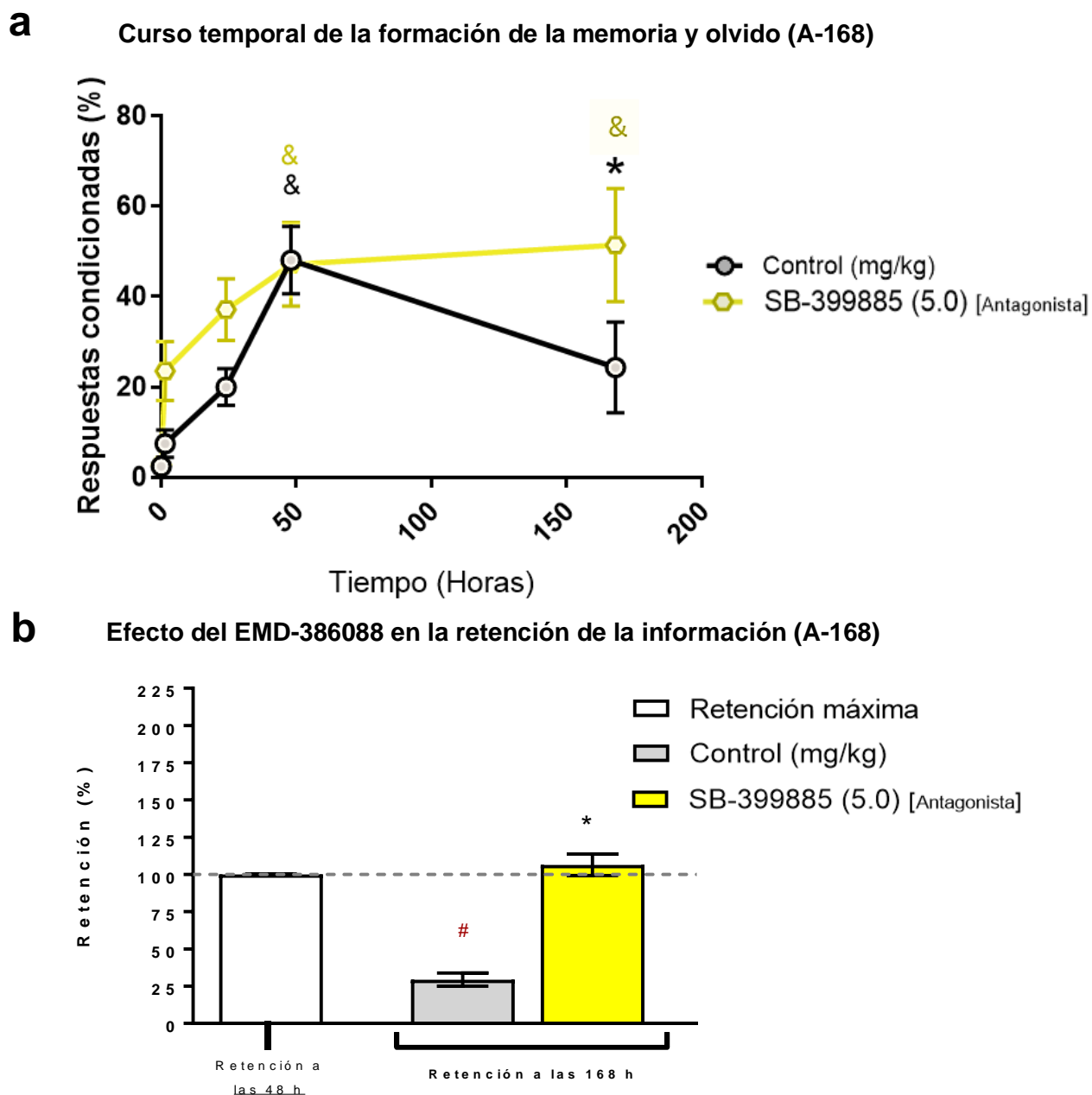
De manera similar a lo comentado en la administración posterior a las 48 h, los primeros tres puntos de los cursos temporales en cualquier tratamiento corresponden a la formación de una memoria. Después del periodo de interrupción de ensayos en el grupo control los animales olvidan la información almacenada previamente. El curso temporal (figuras 15a; 16a; 17a y 18a) muestra que todos los fármacos facilitan la recuperación de una memoria, protegiendo del olvido, manteniendo una proporción similar de las respuestas condicionadas al ensayo de las 48 h. Excepto el CPPQ [5.0], quien no difiere del grupo control. Además, el PZ-1444 [3.0] muestra un facilitamiento de la recuperación de la información, ocasionando que los animales realicen más respuestas condicionadas.

En el caso del análisis de la retención de la información, el análisis de varianza muestra significancia en el efecto del tratamiento ( $F_{(7,98)} = 4.225$ ,  $p=0.0004$ ) y la interacción del tratamiento y la retención ( $F_{(7,98)} = 4.225$ ,  $p=0.0004$ ). En las figuras 15b; 16b; 17b y 18b, que corresponde al análisis de la retención, se puede apreciar que todos los tratamientos facilitan el recuerdo evitando la pérdida de la información, exceptuando al control, el PZ-1444 [5.0] y el CPPQ [5.0] quienes no difieren del control ( $p=0.1413$  y  $0.9997$  respectivamente). Además, la figura 18b muestra que al incrementar la dosis del CPPQ existe una tendencia a favorecer el olvido. Asimismo, con la normalización de los datos es contundente que el agonista inverso posee un efecto promnésico (figura 17b). Por ende, hay un aumento de la retención en los animales por encima de la retención máxima ( $p=0.0451$ ).



**FIGURA 15. Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el EMD-386088 sobre la recuperación de la información.**

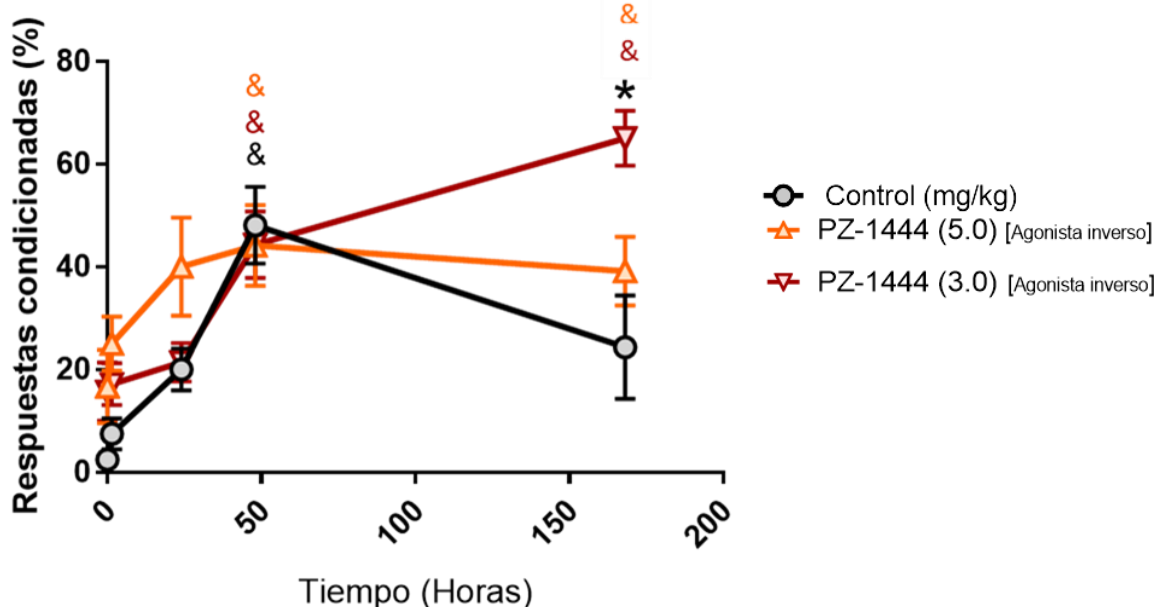
- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con EMD-386088.** La administración del fármaco se realiza 30 min antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima. \*\*  $p < 0.001$  respecto al control.



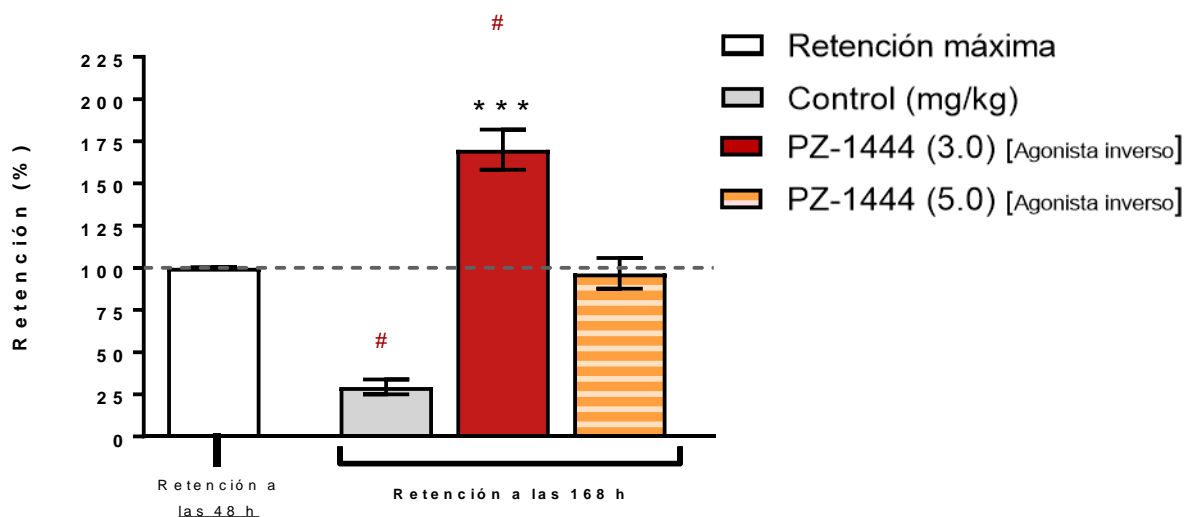
**FIGURA 16. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el SB-399885 sobre la recuperación de la información.**

- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con SB-399885.** La administración del fármaco se realiza 30 min antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; &  $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima. \* $p < 0.05$  respecto al control.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (D-48.)

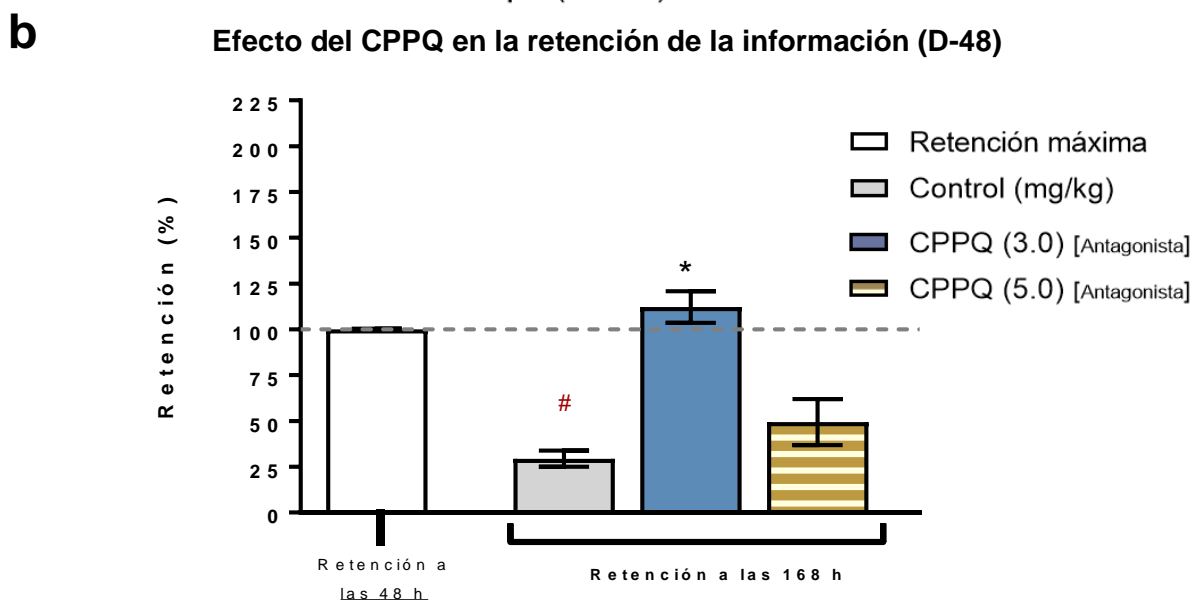
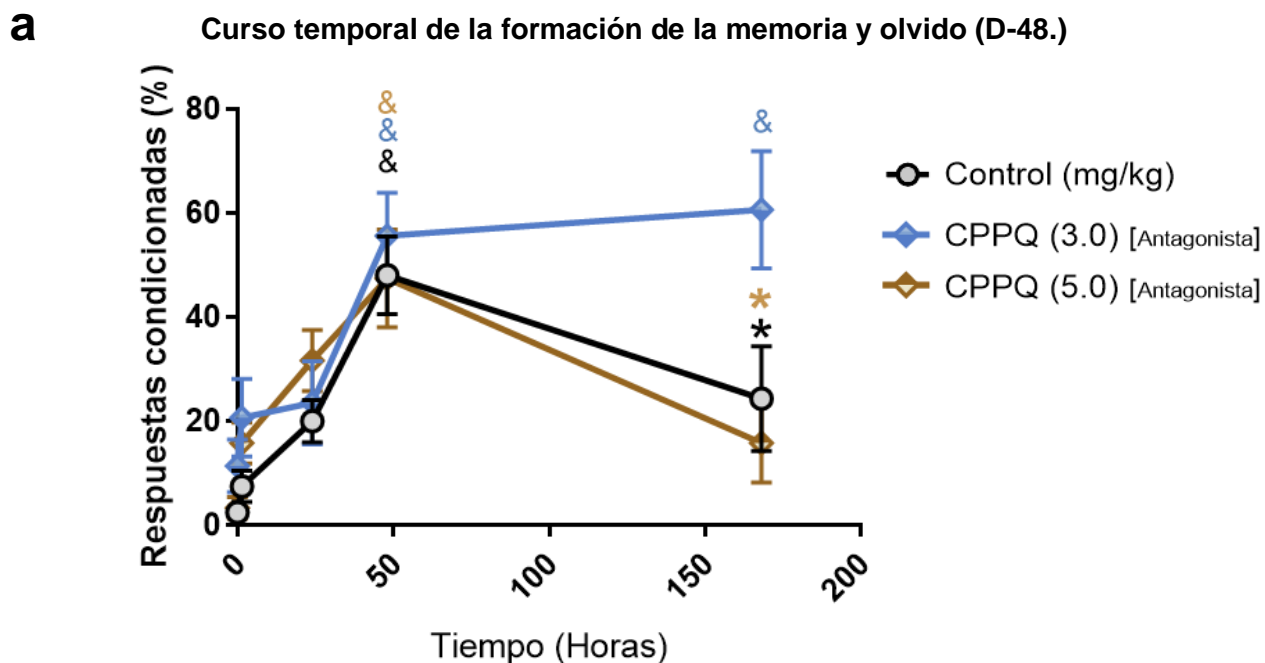


**b** Efecto del PZ-144 en la retención de la información (D-48)



**FIGURA 17. Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el PZ-1444 sobre la recuperación de la información.**

- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con PZ-1444.** La administración del fármaco se realiza 30 min antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \*\*\* $p < 0.0001$  respecto al control.



**FIGURA 18. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el CPPQ sobre la formación del olvido.**

- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con CPPQ.** La administración del fármaco se realiza 30 min antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \* $p < 0.05$  respecto al control.

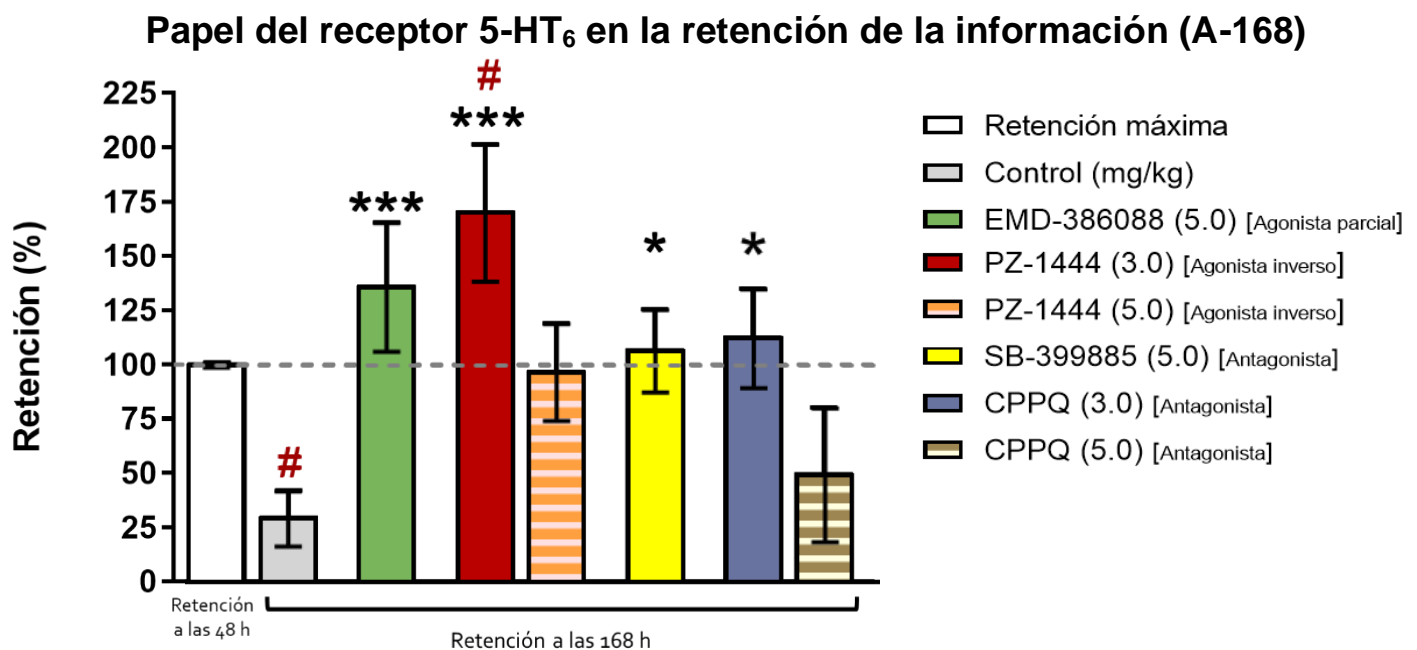
Poca investigación se ha realizado en otras etapas de la memoria aparte de la consolidación o la adquisición. En el caso de la recuperación de una memoria, el equipo de Da Silva Costa-Aze, evaluó en la prueba de evitación pasiva y en el laberinto en T, la administración del antagonista SB-271046 [3, 10, 30 mg/Kg] solo o en combinación con escopolamina 60 minutos antes del ensayo de la recuperación de la memoria. Ellos reportan que el antagonista por sí solo no posee efecto (no existe diferencia respecto al grupo control), pero cuando se presenta amnesia farmacológica solo las dosis de 10 y 30 son capaces de revertirla (*Da Silva Costa-Aze et al., 2012*). Aunado a lo anterior, la administración de los antagonistas (Ro 04-6790 y SB-271046 [10 mg/Kg]), 20 minutos antes de la prueba de retención (en el paradigma de reconocimiento de objetos) no tienen efecto, haciendo que los animales pasen el mismo tiempo explorando ambos objetos (familiar y el novedoso), es importante remarcar que el SB-271046 disminuyó de manera significativa el tiempo de exploración durante el entrenamiento en ambos objetos (*King et al., 2004*), aunque los autores no proveen una explicación para esto, se podría sugerir que los animales retienen la información del objeto familiar y al mismo tiempo se facilita el reconocimiento del objeto novedoso o podría ser parte del efecto ansiolítico de estos fármacos (*Nikiforuk et al., 2011*).

Los datos obtenidos muestran que la administración de dos antagonistas diferentes (SB-399885 y el CPPQ), previo a la evaluación la retención, favorecen el recuerdo de información y que la inactivación parcial (PZ-1444) del receptor facilita el recuerdo y mejora la eficiencia conductual de los animales. Estos efectos pueden deberse al aumento de glutamato al momento de disminuir la actividad de las interneuronas gabaérgicas, ya que se conoce que dentro de los mecanismos moleculares involucrados en el recuerdo de memorias “episódicas” están implicados el neurotransmisor glutamato y su señalización río abajo. En los experimentos de Barros et al., se administraron diferentes fármacos en distintas áreas cerebrales y se identificó: que la administración de antagonistas a los receptores AMPA, mGluR o los inhibidores de la PKA o MAPK en el hipocampo, la corteza entorrinal, parietal o anterior cingulada (10 minutos antes de la sesión de la recuperación de la información) producían deficiencias en el recuerdo (*Barros et al., 2000*).



Por lo tanto, se propone para caso de los antagonistas: un aumento en los niveles de glutamato, después de su administración, que posteriormente activa a los receptores NMDA y AMPA favoreciendo así el recuerdo (figura 20c). Este efecto coincide con lo reportado por King et al. donde los procognitivos del receptor 5-HT<sub>6</sub>, ocasionados por el aumento en los niveles de glutamato, son sensibles al bloqueo de los receptores NMDA por un antagonista no competitivo (MK-801) (King et al., 2004).

Un efecto interesante es que los agonistas también hayan favorecido el recuerdo de la información, ya que si tomamos en consideración que incrementan los niveles de GABA, contradice diversos estudios donde se provocan deficiencias en el recuerdo al inactivar diferentes áreas cerebrales con muscimol antes de la recuperación de una memoria (Holt y Maren, 2018; Moser y Moser, 2018; Peters et al., 2013). Asimismo, se ha reportado que el antagonismo de los receptores GABA<sub>A</sub> con picrotoxina facilita el recuerdo (McGaugh et al., 1990).

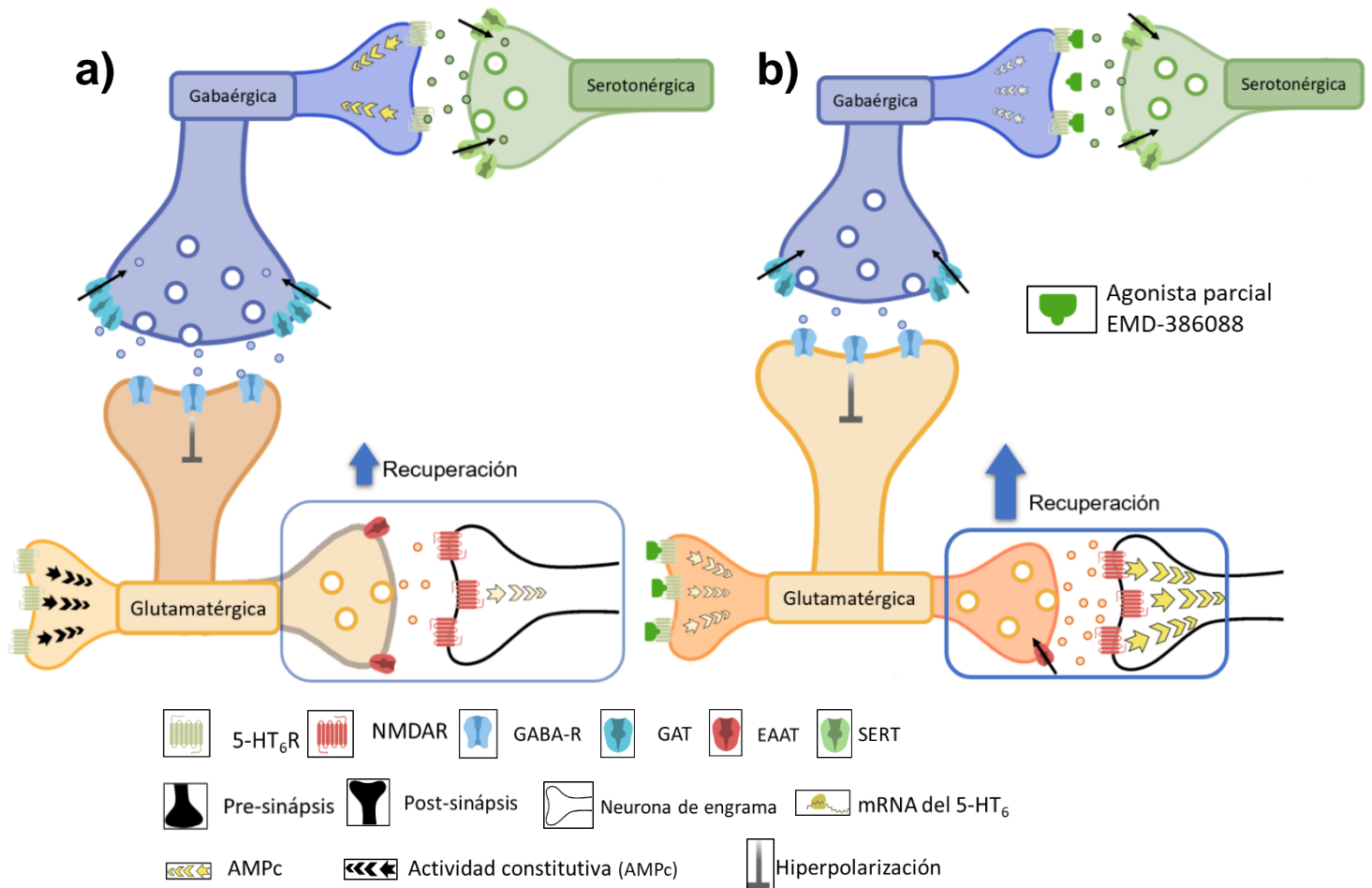


**FIGURA 19. Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la recuperación de una memoria.**

**Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media ± e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \*p<0.05; \*\* p<0.001; \*\*\* p<0.0001 respecto al control. # p<0.05 respecto a la retención máxima.

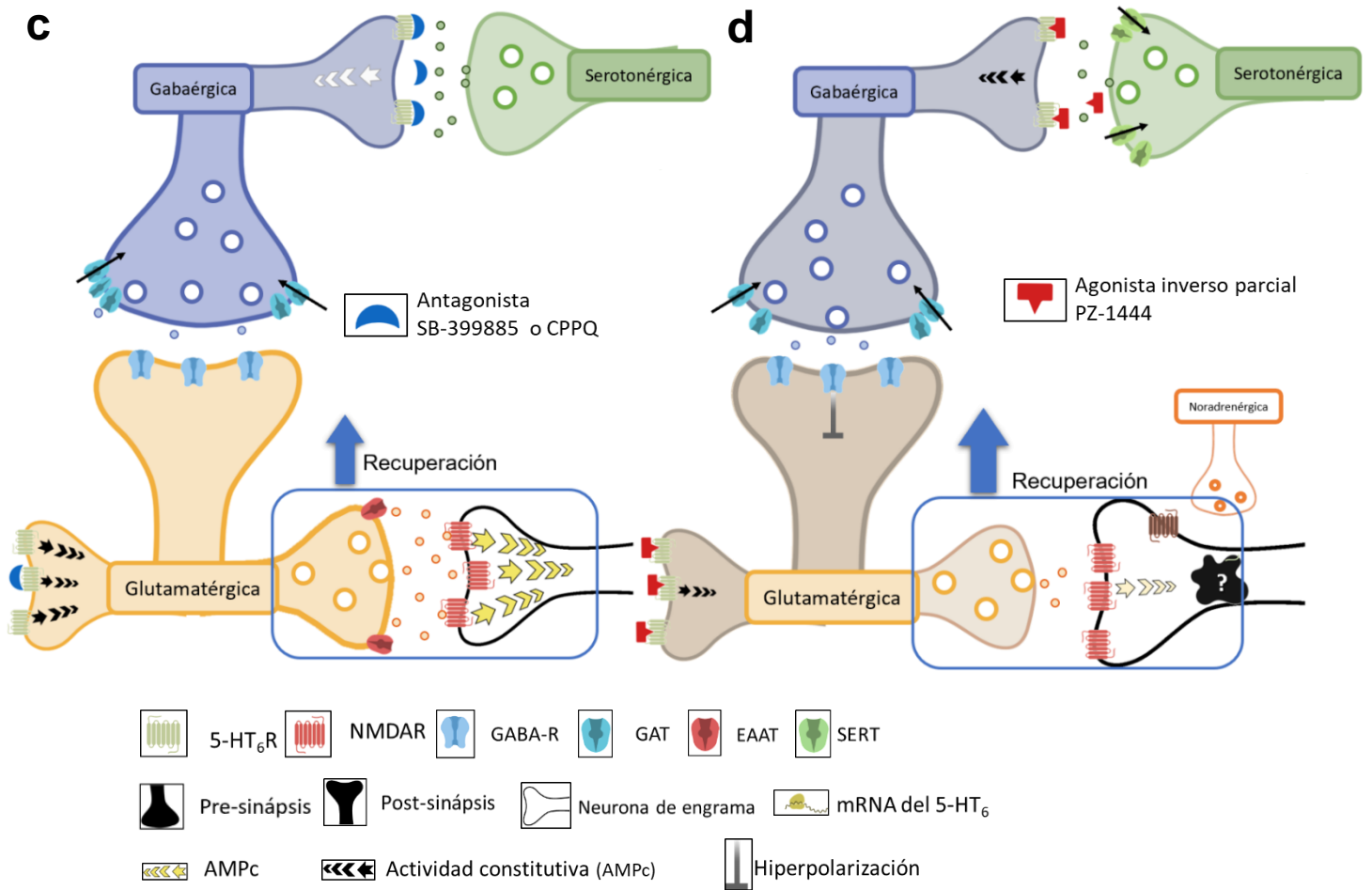
Posiblemente estos efectos se relacionen con la expresión de los transportadores, Téllez y colaboradores demuestran, utilizando el mismo paradigma de olvido, que los animales que olvidan (a las 168 h) incrementaron la expresión de GAT en el hipocampo, el estriado y la corteza prefrontal, y el SERT y DAT aumentan solamente en la corteza prefrontal (Tellez *et al.*, 2012). De esta forma, aun cuando se incremente parcialmente la liberación de GABA por el EMD-386088, el aumento en la expresión de GAT y SERT (por el fenómeno del olvido) permitiría la disminución de GABA y 5-HT extracelular permitiendo que las neuronas glutamatérgicas se despolaricen y por lo tanto favoreciendo la recuperación de la información (figura 20b). Es importante no perder de vista que el agonista parcial también puede estar antagonizado el tono serotoninérgico y/o activando a los receptores 5-HT<sub>6</sub> en las neuronas glutamatérgicas potenciando la liberación de glutamato, lo que explicaría el incremento de la información recuperada respecto al grupo control.

En el caso del grupo control, se presenta un efecto similar al de las 48 h, hay un aumento de la liberación de GABA que es recapturado rápidamente, además, el aumento de SERT contribuye a la disminución de la liberación de GABA al disminuir la estimulación de los 5-HT<sub>6</sub>. En consecuencia, se incrementa la liberación de glutamato, permitiéndole al animal recuperar la poca información que no fue olvidada (figura 20a). Finalmente, en el caso del agonista inverso se presentaría el mismo efecto de inactivación parcial de los receptores 5-HT<sub>6</sub>. Sin embargo, esto causaría una reducción de glutamato liberado hacia las neuronas de engrama, causando deficiencias en el recuerdo, efecto contrario al observado donde se facilita el recuerdo a tal punto que mejora el rendimiento conductual del animal. Estos efectos facilitadores de la memoria pudiesen ser producidos al activarse algún sistema de neurotransmisión o mecanismo molecular que es inhibido por GABA y glutamato durante el recuerdo pero que al mismo tiempo es modulado por el receptor 5-HT<sub>6</sub>. Es de especial interés el sistema noradrenérgico, ya que es el único sistema que incrementa sus niveles al dejar de ser inhibido por GABA y sus niveles basales no se afectan por los agonistas 5-HT<sub>6</sub>, además se ha reportado que la activación de este sistema mejora la recuperación de la información (figura 20d) (Hirst *et al.*, 2000; McGaugh, 2013; Schechter *et al.*, 2008).



**FIGURA 20. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> al momento de recuperar información en la corteza prefrontal.**

- a) Grupo control.** Después de la formación de una memoria hay una regulación a la baja del receptor 5-HT<sub>6</sub> y un aumento de GAT. Durante los siete días de olvido, hay una disminución de la inhibición a las neuronas glutamatérgicas, favoreciendo la liberación de glutamato a las neuronas de engrama originando el olvido de la información. Finalmente, a las 168 h, se libera la cantidad suficiente de glutamato, sobre las neuronas de engrama permitiendo recordar una memoria.
- b) Grupo con el agonista parcial.** El EMD-386088 activa parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub> tanto en neuronas glutamatérgicas como en las neuronas gabaérgicas. Junto a GAT disminuye la liberación de GABA. Permitiendo un incremento de los niveles de glutamato, favoreciendo la recuperación de la memoria.



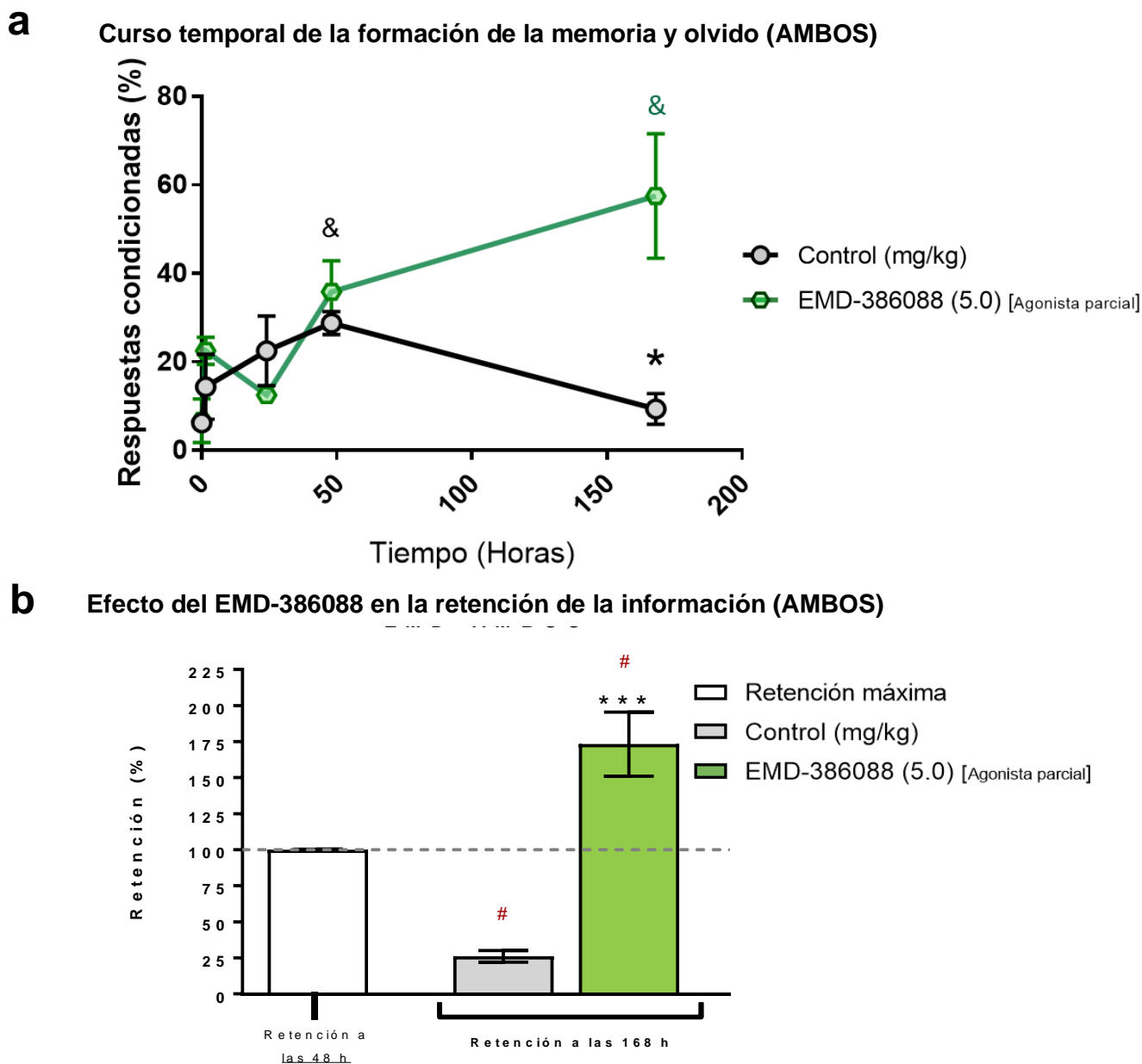
**FIGURA 20. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido en la corteza prefrontal (*Continuación*).**

- c) Grupo con el antagonista.** Después de la administración del fármaco, los antagonistas evitan la activación de los receptores 5-HT<sub>6</sub>. Lo que conlleva a la disminución de GABA y en consecuencia produce el aumento de la liberación de glutamato y el facilitamiento de la recuperación.
- d) Grupo con el agonista inverso parcial.** En el caso de este fármaco inactiva parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, tanto en neuronas glutamatérgicas como en las neuronas gabaérgicas, disminuyendo la liberación de GABA y glutamato. Posiblemente el efecto promnesico sea producto de la inhibición de algún mecanismo molecular del 5-HT<sub>6</sub> o por efecto de la norepinefrina.

### 7.1.3 Evaluación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de la memoria

Cuando se administraron los fármacos en ambas etapas, se observó de manera afín con los otros tiempos de administración, que en los cursos temporales (figuras 22a; 23a; 24a y 25a), el grupo control pierde la información previamente almacenada después de 168 h de interrupción de ensayos. Todos los demás tratamientos no muestran diferencia en la cantidad de respuestas condicionadas entre el ensayo de las 48 h y el de las 168 h. Excepto el CPPQ [3.0] quien disminuye su efecto antiolvido (figura 25a).

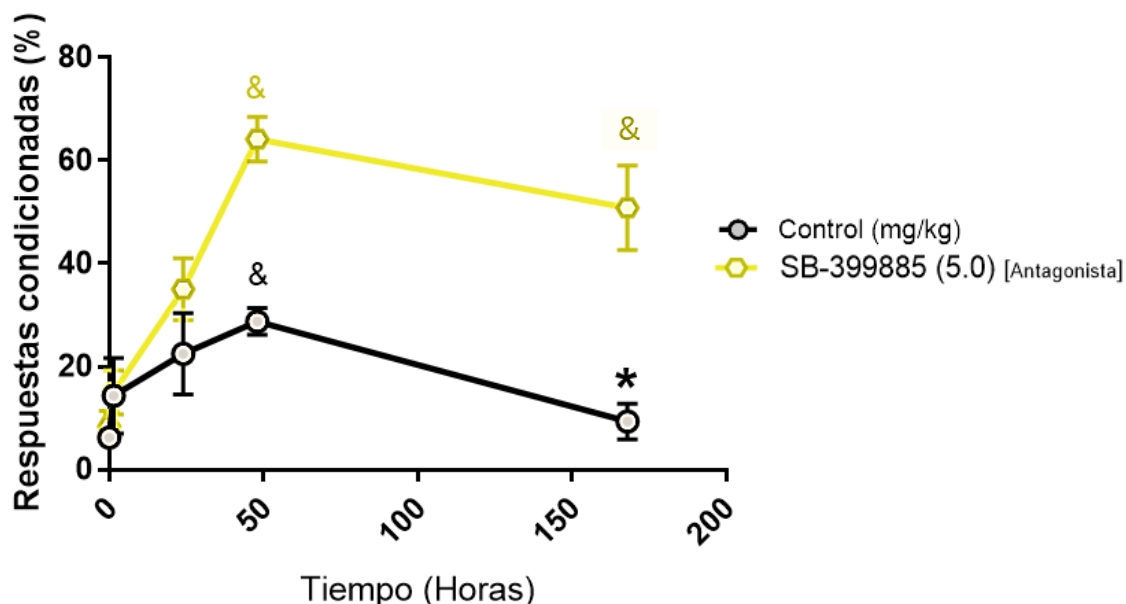
Respecto al análisis de la retención, el ANOVA nos indica la existencia de significancia en el efecto del tratamiento ( $F_{(7,99)}=4.636$ ;  $p=0.0002$ ) y la interacción (tratamiento y retención) ( $F_{(7,99)}=4.636$ ;  $p=0.0002$ ). De esta manera en el análisis de la retención el grupo control olvida ( $p=0.0454$ ) con respecto a la máxima retención de los animales a las 48 h (Figuras b). El agonista parcial y el inverso [3.0] producen un efecto anti-olvido ( $p<0.0003$  respecto al control), pero solamente el agonista parcial presenta un efecto promnésico ( $p=0.0479$  respecto a la retención máxima). En el caso del PZ-1444 (figura 24b) se produce una menor facilitación del recuerdo al administrarse en ambas etapas que cuando se realiza una sola administración (A-168), incluso una dosis mayor [5.0] produce una disminución de su efecto. Respecto al EMD-386088 (figura 22b) es el único fármaco que cuando se administra dos veces mejora la recuperación de la información causando un efecto promnésico. Finalmente, los antagonistas al administrarse en las dos etapas tienden a perder su capacidad de evitar el olvido ( $p>0.48$  respecto al control) (figuras 23b y 25b).



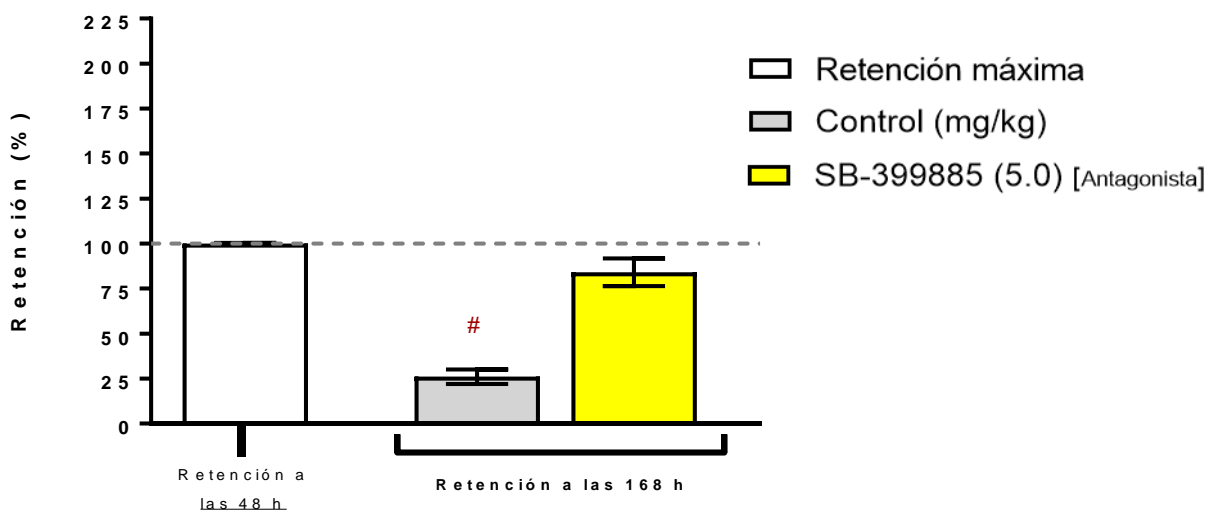
**FIGURA 21. Efecto de la activación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el EMD-386088 en la formación del olvido y la recuperación de la información.**

- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con EMD-386088.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y 30 min. antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; # $p < 0.05$  respecto a la retención máxima. \*\*\* $p < 0.0001$  respecto al control.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (AMBOS)



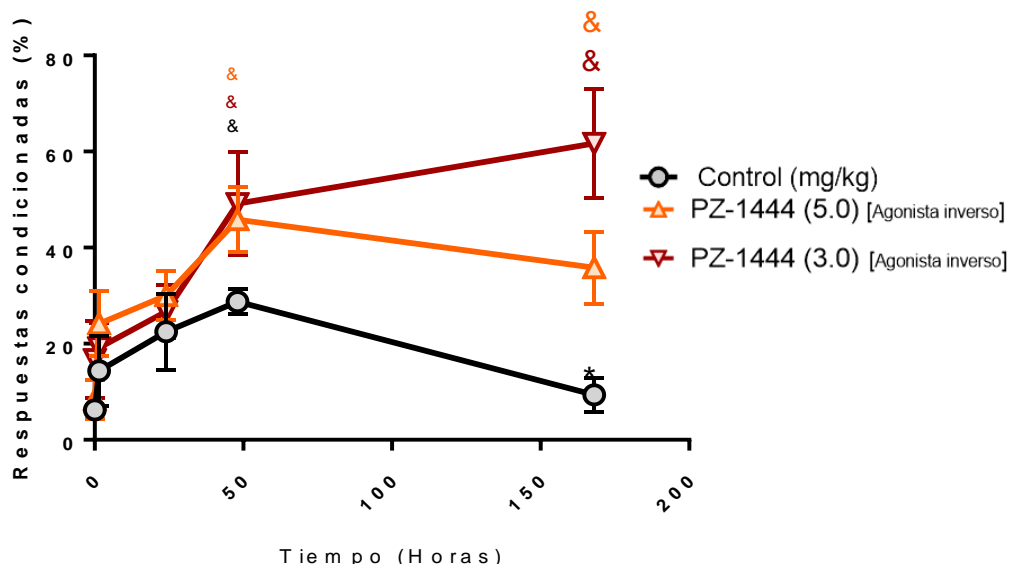
**b** Efecto del SB-399885 en la retención de la información (AMBOS)



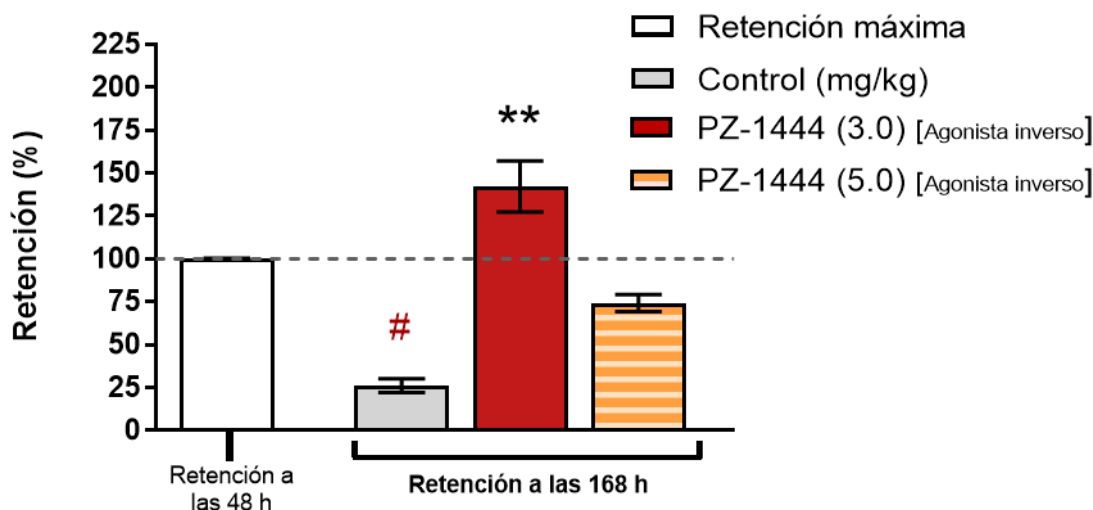
**FIGURA 22. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el SB-399885 en la formación del olvido y la recuperación de la información.**

- a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con SB-399885.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y 30 min. antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; &p < 0.001 respecto al entrenamiento.
- b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \* $p < 0.05$  respecto al control.

**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (AMBOS)



**b** Efecto del PZ-144 en la retención de la información (AMBOS)



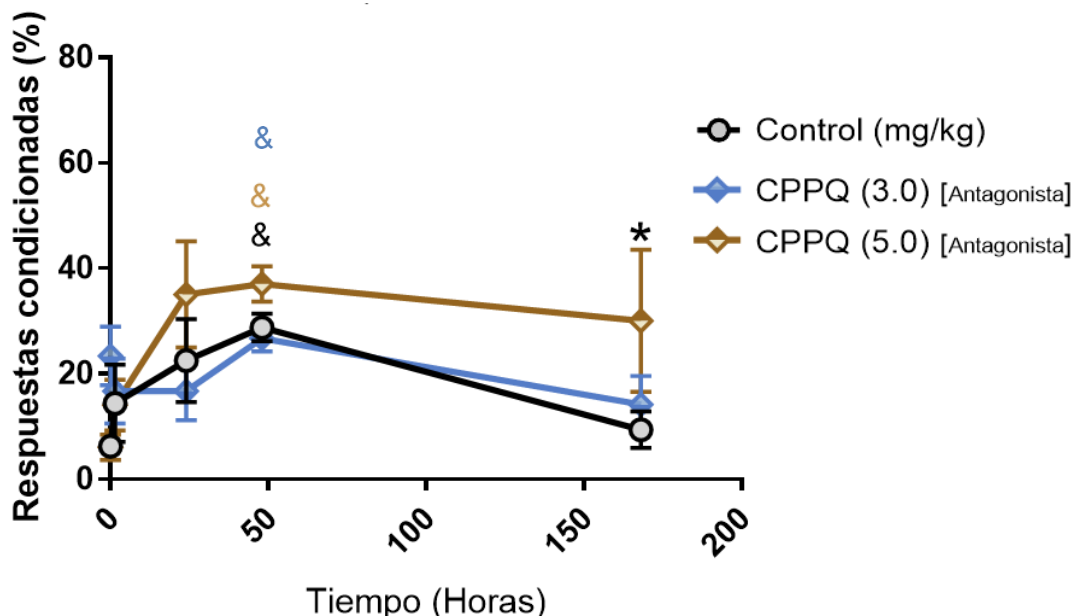
**FIGURA 23. Efecto de la inactivación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el PZ-1444 en la formación del olvido y la recuperación de la información.**

**a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con PZ-1444.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y 30 min. antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; &p < 0.001 respecto al entrenamiento.

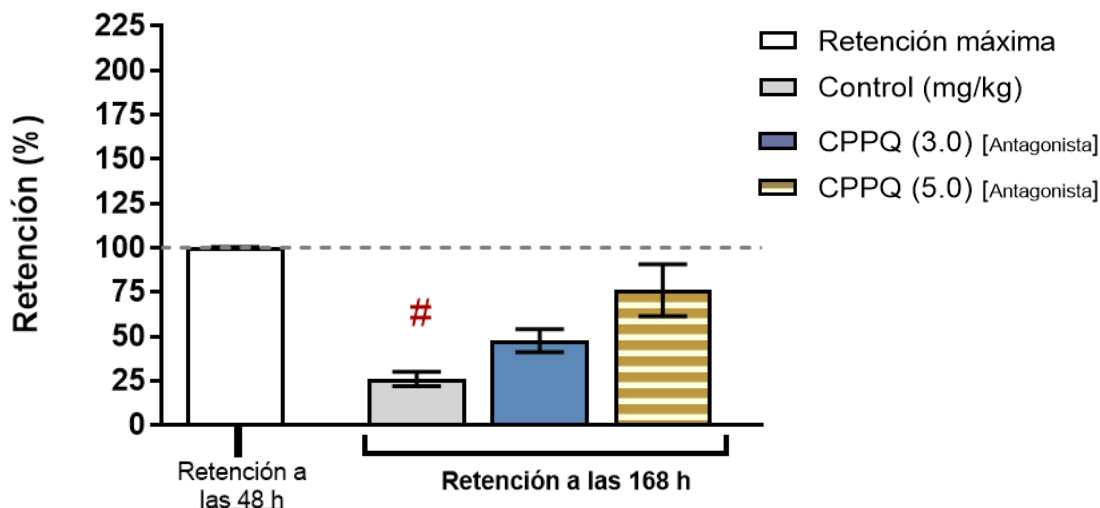
**b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima; \*\* $p < 0.001$  respecto al control.



**a** Curso temporal de la formación de la memoria y olvido (AMBOS)



**b** Efecto del CPPQ en la retención de la información (AMBOS)

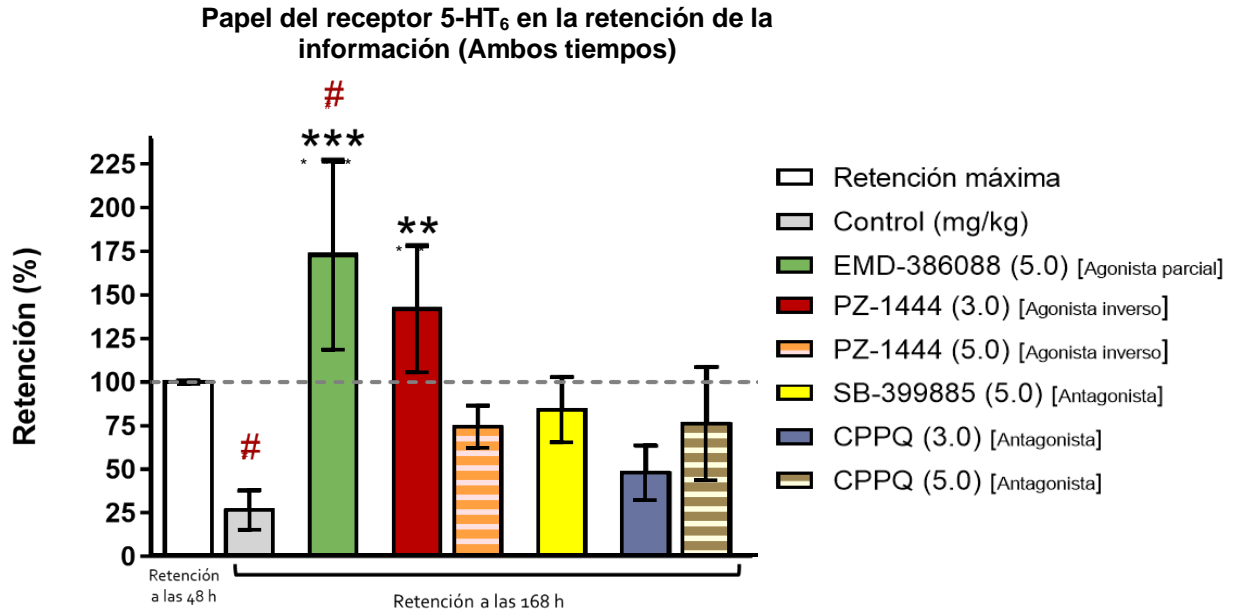


**FIGURA 24. Efecto del bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> con el CPPQ en la formación del olvido y la recuperación de la información.**

**a) Curso temporal de la formación de la memoria y el olvido por decaimiento en el grupo tratado con CPPQ.** La administración del fármaco se realiza después del ensayo de las 48 h (D-48) y 30 min. antes del ensayo de las 168 h (A-168). Media  $\pm$  e.e.m del %RC. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey. \* $p < 0.05$  respecto al ensayo de las 48 h; & $p < 0.001$  respecto al entrenamiento.

**b) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima.

Hasta la fecha no existe ningún estudio que haya hecho esta caracterización farmacológica evaluando el efecto de algún fármaco durante la formación del olvido y en el recuerdo de una memoria de manera aguda, lo más cercano a este diseño experimental podrían ser las administraciones crónicas de agonistas o antagonistas. En estos estudios se ha observado que un agonista completo, WAY-208466 (10 mg/kg, s.c.), administrado por 14 días no produce desensibilización del receptor, sino que una tendencia a sensibilizar a los receptores 5-HT<sub>6</sub>, ya que en la última administración del fármaco se incrementan los niveles de GABA en la corteza frontal (800%) respecto a los niveles basales, un efecto mayor al que es producido por un tratamiento agudo (350%) (Schechter *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha reportado que la serotonina produce una rápida desensibilización del receptor 5-HT<sub>6</sub> humano en líneas celulares (Max *et al.*, 1995), aunque este último estudio no se ha reproducido. Respecto a los estudios farmacológicos *in vivo*, la administración por 14 días de EMD-386088 (2.5 mg/Kg, i.p.), disminuye de manera significativa el número de ensayos requeridos para aprender la prueba de evitación pasiva en ratas sin el bulbo olfatorio (Jastrzębska-Więsek *et al.*, 2015). Por otra parte, la administración crónica (7 días, 1 – 30 mg/Kg, p.o.) de los antagonistas SB-399885 o SB-357134, mejora la consolidación de la memoria o revierte la amnesia causada por la escopolamina o dizocilpina (Pérez-García *et al.*, 2005). Estos datos, sugieren que la administración crónica de agonistas o antagonistas pudiesen sensibilizar a los receptores o que los fármacos inducen cambios en la regulación del mRNA o de la proteína del receptor, como se comentó anteriormente: el aprendizaje regula a la baja el mRNA y la proteína del receptor 5-HT<sub>6</sub>, mientras que la administración de los antagonistas regula al alta el mRNA del receptor durante el aprendizaje manteniendo los mismos niveles de expresión que el grupo control. Además, la administración de los antagonistas en animales no entrenados produce una regulación a la baja la expresión del gen (Huerta-Rivas *et al.*, 2010; Meneses *et al.*, 2007). Marcos y colaboradores confirman que hay una regulación a la baja del receptor durante el aprendizaje y sugieren que esto puede ser ocasionado por que el receptor 5-HT<sub>6</sub> influye negativamente durante el aprendizaje y el almacenamiento de una memoria (Marcos *et al.*, 2010).



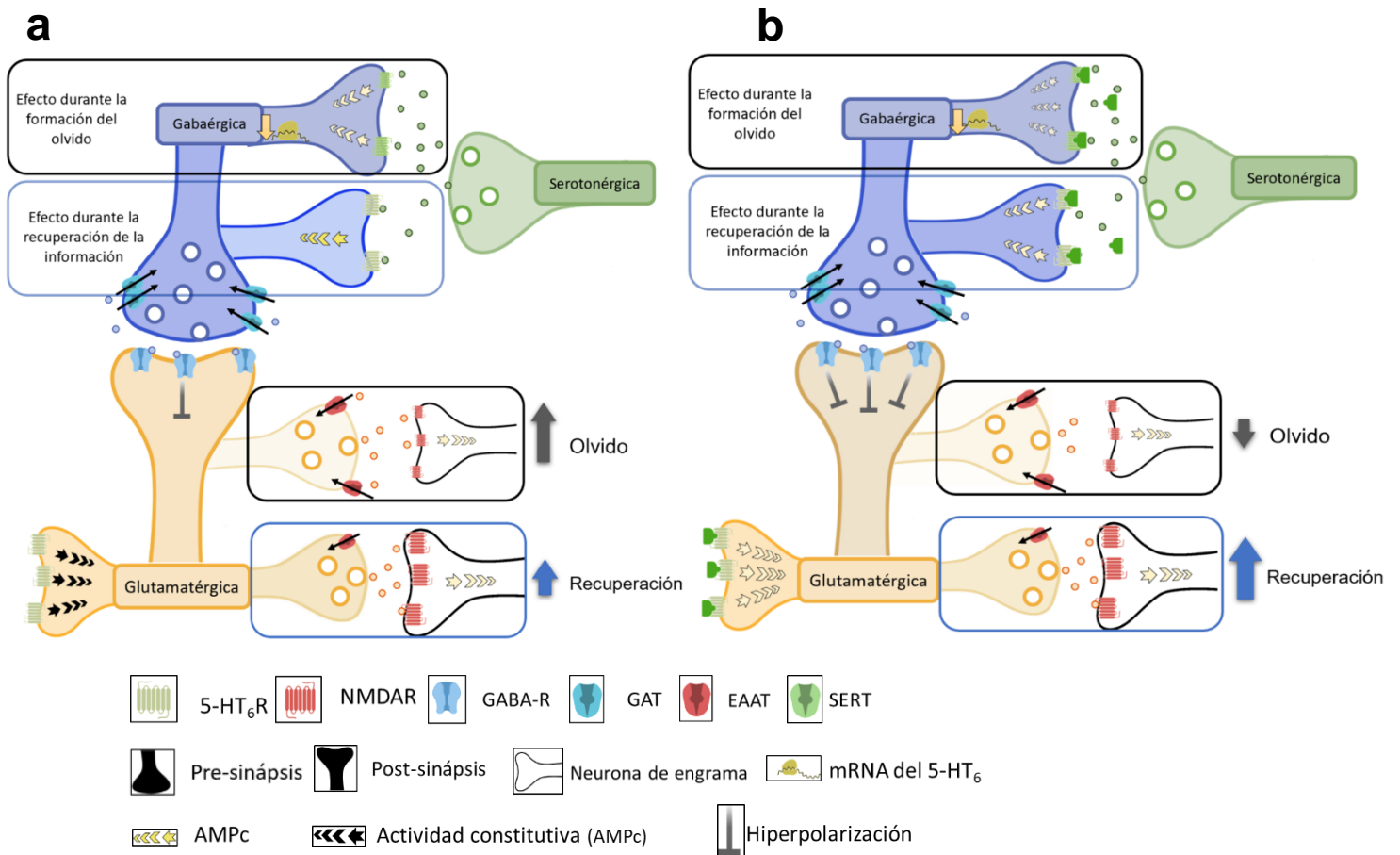
**FIGURA 25. Efecto de la manipulación farmacológica del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de una memoria.**

**Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media ± e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \*\*p<0.001; \*\*\* p<0.0001 respecto al control. # p<0.05 respecto a la retención máxima.

En consecuencia, el efecto neto que observamos en estos grupos proviene de los cambios generados al administrar durante la formación del olvido, reflejados cuando se vuelve a administrar antes de recordar. La figura 26a muestra que el grupo control olvida por el decremento en la liberación de GABA, ocasionando una liberación pequeña de glutamato, propiciando la activación frecuente de los receptores NMDA en neuronas del engrama. Durante la recuperación de la información, la disminución de los receptores 5-HT<sub>6</sub> por el aprendizaje y el aumento de GAT por el olvido, produce un incremento en la liberación de glutamato, permitiéndole al animal recuperar la poca información que no fue olvidada. La administración del EMD-386088, activa parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, retardando la liberación de glutamato, y evitando el olvido. Cuando se administra antes de las 168 h se favorece la recuperación de estas memorias no olvidadas, produciendo un efecto promnésico. Es decir, la activación parcial del receptor en ambas etapas produce memorias “fuertes” que posteriormente son recuperadas con mayor facilidad (figura 26b).

A nuestro conocimiento, no se ha reportado en ningún estudio que los antagonistas disminuyan su efecto procognitivo con 2 o más administraciones. Con nuestros datos se propone que la regulación al alta del receptor 5-HT<sub>6</sub> ocasionada por el antagonista (SB-399885) posterior a su administración se mantiene durante la recuperación de la información, esto ocasiona que no todos los receptores sean bloqueados por el antagonista, haciendo que haya un incremento en la liberación de GABA e inhibiendo al sistema glutamatérgico. Esto se traduce en la disminución de la habilidad de recuperar información (figura 26c). Esta propuesta concuerda en parte con lo reportado por Mitchell et al., quienes por transferencia viral de genes sobreexpresaron los receptores 5-HT<sub>6</sub> en el estriado, produciendo deficiencias en la adquisición de un aprendizaje instrumental, pero no en un aprendizaje espacial (que depende del hipocampo). Aunado a lo anterior, estas deficiencias son revertidas por la administración de un antagonista [SB-258585 (5.0 mg/kg)] antes de cada ensayo o en ratas que ya aprendieron (sobrentrenadas), por lo que la sobreexpresión del receptor en el estriado no afecta la recuperación de la información (*Mitchell et al., 2007*). Los datos anteriores sugieren que los cambios en la expresión del receptor 5-HT<sub>6</sub> en áreas específicas del cerebro desempeña un papel importante para regular la adquisición o el recuerdo de memorias, caso que se presenta en patologías como el Alzheimer (*revisado en Khoury et al., 2018*).

Finalmente, en el caso del agonista inverso como se comenta en las páginas 56 y 67, la primera administración del agonista inverso produce un efecto antiolvido al evitar la liberación de glutamato. En la segunda administración, se produce el mismo efecto, disminuyendo en menor medida la recuperación de la información (figura 26d).

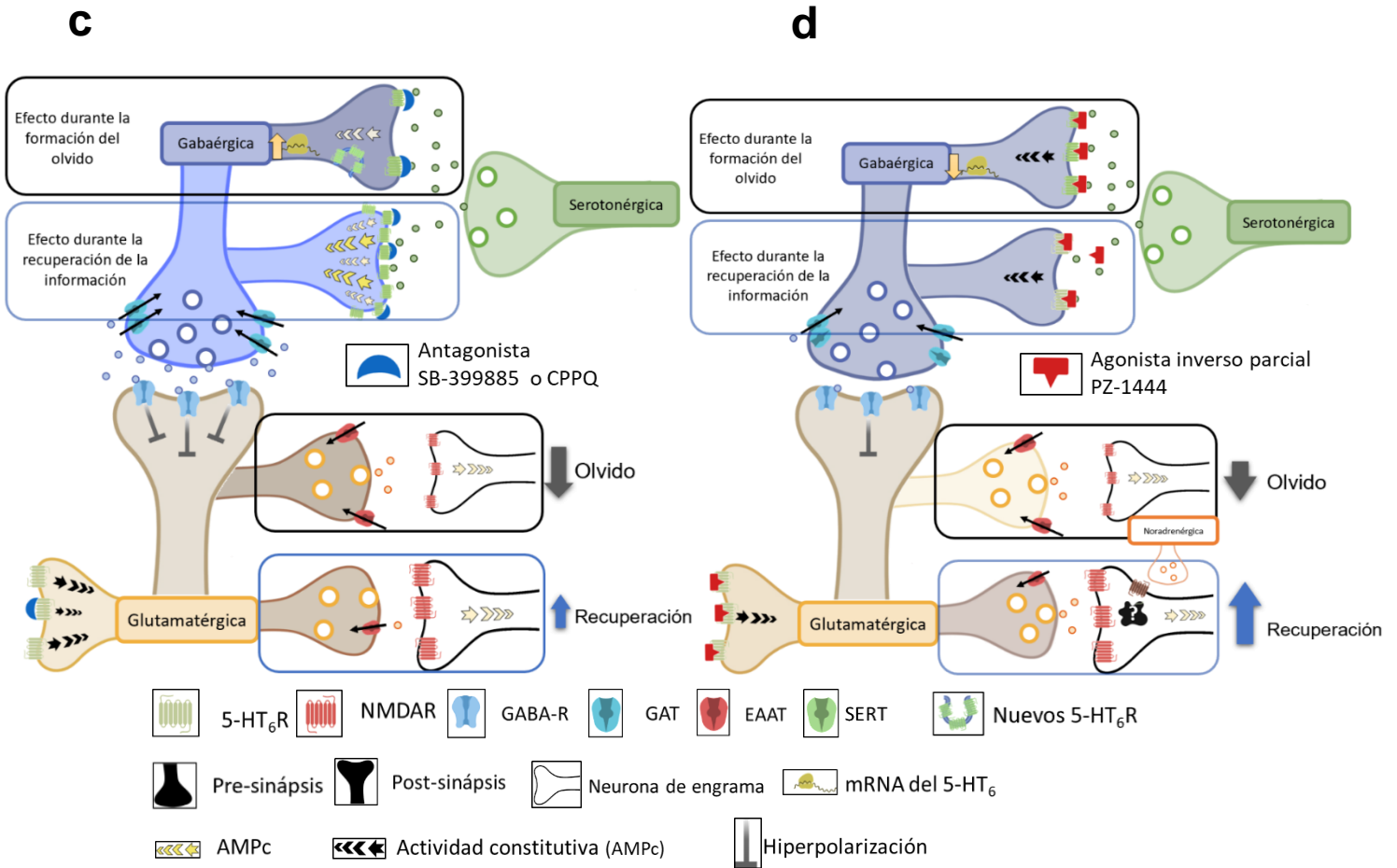


**FIGURA 26. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido y la recuperación de la información en la corteza prefrontal.**

**a) Grupo control.** Posterior a la evaluación de la memoria a largo plazo, hay una regulación a la baja del receptor 5-HT<sub>6</sub> y un aumento de GAT; así durante los siete días de olvido, hay una disminución de la inhibición a las neuronas glutamatérgicas, favoreciendo la liberación de glutamato a las neuronas de engrama originando el olvido de la información. Mientras que a las 168h se libera la cantidad suficiente de glutamato para recordar lo que no fue olvidado.

**b) Grupo con el agonista parcial.** La administración del EMD-386088, activa parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, retardando la liberación de glutamato, y evitando el olvido. Cuando se administra antes de las 168 h se favorece la recuperación de estas memorias no olvidadas, produciendo un efecto promnésico.

*Los rectángulos negros corresponden al efecto posterior de la administración D-48 h del vehículo o fármaco. Los rectángulos azules al efecto del tratamiento antes de la recuperación de la información.*



**FIGURA 26. Propuesta de los posibles mecanismos neuroquímicos asociados al receptor 5-HT<sub>6</sub> durante la formación del olvido y la recuperación de la información en la corteza prefrontal (Continuación).**

**c) Grupo con el antagonista.** Después de la administración(D-48), hay una regulación a la alta del receptor 5-HT<sub>6</sub>. Durante los siete días de olvido, el incremento de los receptores 5-HT<sub>6</sub> evitan la liberación de glutamato y el olvido. Este aumento de receptores, durante la recuperación de la información, ocasiona que no todos los receptores sean bloqueados por los antagonistas. Luego, hay un aumento en la liberación de GABA y una reducción de glutamato, por lo que los agonistas disminuyen su efecto antiolvido y facilitador del recuerdo.

**d) Grupo con el agonista inverso parcial.** En cualquier tiempo de administración, este fármaco inactiva parcialmente al receptor 5-HT<sub>6</sub>, tanto en neuronas glutamatérgicas como en las neuronas gabaérgicas. Disminuyendo la liberación de GABA y glutamato evitando el olvido y facilitando la recuperación de la información. Posiblemente, la disminución de su efecto se relacione con la disminución de los receptores 5-HT<sub>6</sub>.

*Los rectángulos negros corresponden al efecto durante la administración del vehículo o fármaco. Los rectángulos azules al efecto posterior a la administración.*

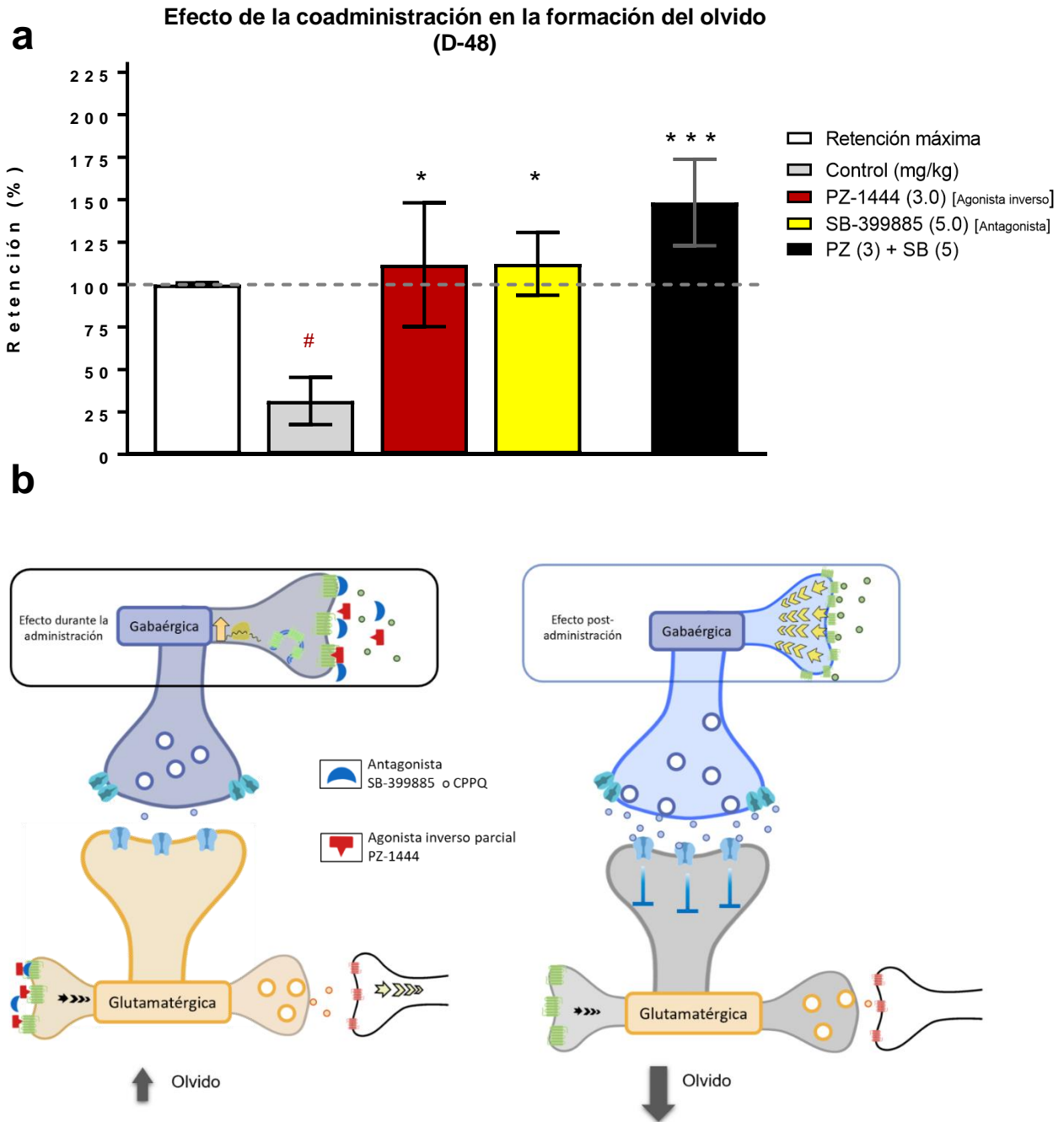
#### **7.1.4 Análisis de la coadministración del agonista inverso con el antagonista**

Una manera de confirmar que los efectos conductuales observados corresponden *per se* a la actividad intrínseca de un fármaco es mediante la administración de un agonista y posteriormente observar cómo se revierte o se altera el efecto con la administración de un antagonista (*Borsini et al., 2011*).

##### *7.1.4.1 Efecto de la coadministración en la formación del olvido*

En este experimento se realiza la coadministración del PZ-1444 [3.0] y el SB-399985 [5.0] después del ensayo de las 48 h, la prueba ANOVA nos indica que hay significancia en la interacción del tratamiento y la retención ( $F_{(7,102)} = 3.298, p=0.0033$ ). En la figura 27 se observa que la media de la retención de los animales que reciben la coadministración es ligeramente mayor que en los mismos tratamientos por separado, haciendo que este tratamiento posea un efecto anti-olvido mayor al de cualquiera de los otros tratamientos cuando se administra durante la formación del olvido (figura 26a). Lo anterior sugiere dos cosas: la primera es que existe una potenciación (ya sea sinergismo o sumación) del efecto antiolvido con ambos fármacos. Existe evidencia donde la coadministración de dosis inactivas de un agonista (completo o parcial) con dosis activas del antagonista producen un efecto (antiamnésico o promnesico) mayor o similar al de la administración individual (*Aparicio-Nava et al., 2019; Kendall et al., 2011*). La segunda es que no podemos dejar de lado que este antagonismo e inactivación de los receptores 5-HT<sub>6</sub> puede hacer que la serotonina active a cualquiera de los otros 14 receptores serotoninérgicos quienes también modulan los procesos de la memoria y el olvido (*revisado en detalle en Meneses, 2017*).

Por ende, durante la formación del olvido el agonista inverso parcial no evita completamente el olvido (activación de los receptores glutamatérgicos) y junto a las modificaciones posteriores que realiza el antagonista (incremento del mRNA del receptor 5-HT<sub>6</sub>) se protege a la memoria del olvido por el paso del tiempo (figura 27b).



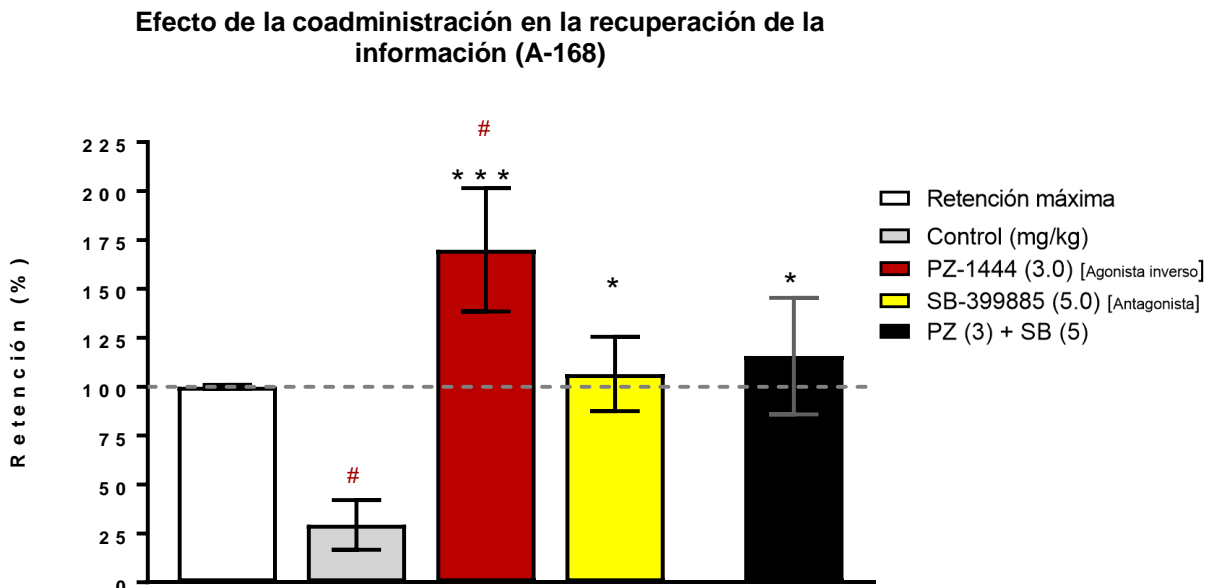
**FIGURA 27. Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido.**

- a) Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \* $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.0001$  respecto al control. #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima.
- b) Posible mecanismo neuroquímico asociado al efecto de la coadministración.**



#### 7.1.4.2 Efecto de la coadministración en la recuperación de la información

Al realizar la coadministración del PZ-1444 [3.0] y el SB-399985 [5.0] antes del ensayo de las 168 h, la prueba ANOVA nos indica que hay significancia en la interacción del tratamiento y la retención ( $F_{(7,102)} = 4.502$ ,  $p=0.0002$ ). En la figura 28 la administración del antagonista de los fármacos produce que se reviertan los efectos promnésicos del agonista inverso, manteniendo el efecto facilitador de la recuperación del antagonista. Esto nos indica claramente que la inactivación del receptor 5-HT<sub>6</sub> y su señalización río abajo son necesarios para producir los efectos promnésicos observados.



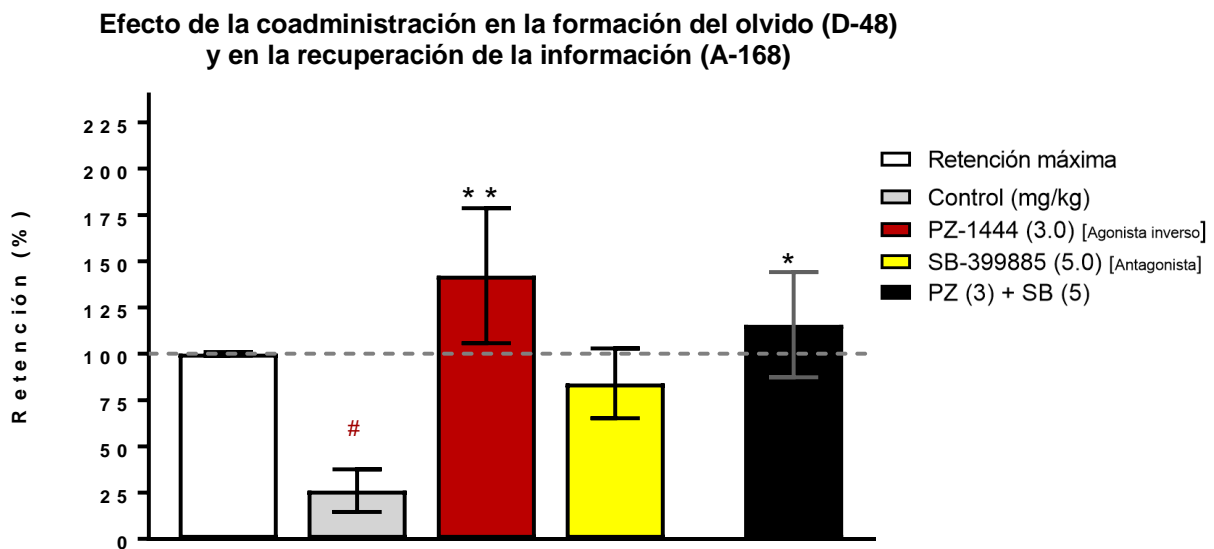
**FIGURA 28. Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la recuperación de la información.**

**Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La coadministración se realizó 30 minutos antes de la sesión de 168 h (A-168) con un intervalo de aproximadamente 5 min. entre fármacos. La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \* $p<0.05$ ; \*\*\*  $p<0.0001$  respecto al control. #  $p<0.05$  respecto a la retención máxima.

### 7.1.4.3 Efecto de la coadministración en la formación del olvido y la recuperación de la información.

Respecto al análisis de la retención de este grupo, el ANOVA nos indica la existencia de significancia en la interacción (tratamiento y retención) ( $F_{(7,100)} = 4.500$ ;  $p = 0.0002$ ). La figura 29 muestra que la coadministración revierte el efecto facilitador de la recuperación de la información, manteniendo el efecto antiolvido. De manera similar a los datos anteriores, la inactivación del receptor es necesaria para facilitar la recuperación de la información. De tal forma, que el antagonista recupera su efecto antiolvido cuando es administrado en ambas fases.

Finalmente, los datos anteriores de coadministración nos indican que los efectos observados son modulados por el receptor 5-HT<sub>6</sub>, que son necesarios mayores estudios para determinar los mecanismos neurobiológicos de estos efectos y cómo se podrían regular para poder diseñar una terapéutica eficaz para tratar los diferentes síntomas cognitivos o simplemente mejorar la cognición en condiciones fisiológicas.



**FIGURA 29. Efecto de la coadministración del agonista inverso y el antagonista del receptor 5-HT<sub>6</sub> sobre la formación del olvido y la recuperación de la información.**

**Evaluación de la retención de la información para cada tratamiento.** La coadministración se realizó después del ensayo de las 48 h (D-48) y 30 minutos antes de la sesión de 168 h (A-168) con un intervalo de aproximadamente 5 min. entre fármacos. La línea punteada corresponde a la retención máxima. Media  $\pm$  e.e.m. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey; \* $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$  respecto al control. #  $p < 0.05$  respecto a la retención máxima.

## 8. Conclusiones

---

### 8.1 Conclusiones particulares

- La inactivación o el bloqueo del receptor 5-HT<sub>6</sub> evita el olvido cuando se administra después del ensayo de las 48 h.
- La activación parcial o el antagonismo del 5-HT<sub>6</sub> favorece la recuperación de una información previamente almacenada, efecto que posiblemente este mediado por el incremento en los niveles de glutamato.
- La inactivación del receptor 5-HT<sub>6</sub> produce un efecto promnésico cuando se administra antes de la recuperación de una memoria.
- La activación parcial del receptor 5-HT<sub>6</sub> en ambas fases produce una sumación de su efecto, haciendo memorias resistentes al olvido y facilitando su recuperación. Efectos posiblemente explicados por su capacidad de antagonizar a la serotonina.
- En cualquier etapa evaluada, el incremento en las dosis de los antagonistas o el agonista inverso hace que disminuyan los efectos correspondientes.
- Los antagonistas son capaces de revertir el efecto promnésico de los agonistas inversos lo que indica que esos efectos son producidos por la inactivación del receptor o su señalización río abajo.

### 8.2 Conclusión general

La disminución de la actividad del receptor 5-HT<sub>6</sub> es capaz de modular el proceso de olvido o de recuperación de una memoria.

## 9. Perspectivas

---

- Determinar si la corteza prefrontal es el sitio de acción de los fármacos para producir su efecto antiolvido o facilitador de la recuperación.
- Evaluar, la participación de la vía de señalización 5-HT<sub>6</sub>/mTOR mediante la administración de activadores o inhibidores de la cinasa mTOR en coadministración con agonistas o antagonistas del receptor 5-HT<sub>6</sub>.
- Analizar, cambios en la expresión del mRNA o de la proteína del receptor 5-HT<sub>6</sub> producidos por la administración de los fármacos en diversas áreas cerebrales, durante la formación del olvido o durante la recuperación de la información.
- Determinar la participación de las diferentes vías de señalización asociadas al receptor 5-HT<sub>6</sub> en los diferentes subtipos neuronales donde se expresa el receptor, posiblemente mediante electrofisiología, PCR de célula única o doble hibridación *in situ*.
- Comparar los efectos de la sobreexpresión y la supresión de la expresión del receptor 5-HT<sub>6</sub> en diferentes áreas, para conocer la influencia del tono serotoninérgico en el olvido y la recuperación de la memoria.

## 10. Referencias

---

- Alberini, C. M. (2005). Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends in Neurosciences*, 28(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.11.001>
- Albo, Z., & Gräff, J. (2018). The mysteries of remote memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1742), 20170029. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0029>
- Anderson, M. C., & Hanslmayr, S. (2014). Neural mechanism of motivated forgetting. *Trends in Cognitive Sciences*, 18, Issue:(1879307X), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2014.03.002>
- Aparicio-Nava, L., Tellez, R., Gonzalez, R., Liy-Salmeron, G., & Meneses, A. (2019). Intrahippocampal administration of 5-HT<sub>6</sub> receptor drugs on memory consolidation and amnesia protocols. *Behavioural Brain Research*, 359, 378–385. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.021>
- Barros, D. M., Izquierdo, L. A., Mello E Souza, T., Ardenghi, P. G., Pereira, P., Medina, J. H., & Izquierdo, I. (2000). Molecular signalling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 114(1–2), 183–192. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(00\)00226-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(00)00226-6)
- Berg, K. A., & Clarke, W. P. (2018). Making sense of pharmacology: inverse agonism and functional selectivity. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 21(10), 962–977.
- Bekinschtein, P., Katche, C., Slipczuk, L., Gonzalez, C., Dorman, G., Cammarota, M., ... Medina, J. H. (2010). Persistence of long-term memory storage: New insights into its molecular signatures in the hippocampus and related structures. *Neurotoxicity Research*, 18(3–4), 377–385. <https://doi.org/10.1007/s12640-010-9155-5>
- Berry, J. A., Cervantes-Sandoval, I., Chakraborty, M., & Davis, R. L. (2015). Sleep facilitates memory by blocking dopamine neuron-mediated forgetting. *Cell*, 161(7), 1656–1667. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.027>
- Berry, J. A., Cervantes-sandoval, I., Nicholas, E. P., & Davis, R. L. (2012). Dopamine is required for learning and forgetting in *Drosophila*. *Neuron*, 74(3), 530–542. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.007>
- Blumenfeld, R. S. (2006). Dorsolateral prefrontal cortex promotes long-term memory formation through its role in working memory organization. *Journal of Neuroscience*, 26(3), 916–925. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2353-05.2006>
- Boess, F. G., Mosma, F. J., Carol, C., Meyer, V., Rudler, A., Zwingelstein, C., & Sleight, A. J. (1997). Functional and radioligand binding characterization of rat 5-HT<sub>6</sub> receptors stably expressed in HEK293 cells. *Neuropharmacology*, 36(4–5), 713–720. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(97\)00019-1](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(97)00019-1)
- Borsini, F., Bordi, F., & Riccioni, T. (2011). 5-HT<sub>6</sub> pharmacology inconsistencies. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 98(2), 169–172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.12.021>
- Bussey, T. J., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1997). Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel pavlovian autoshaping procedure for the rat: Implications for the neurobiology of emotion. *Behavioral Neuroscience*, 111(5), 908–919. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.111.5.908>
- Byrne, J. H. (2017). *Learning and memory: A comprehensive reference* (Second Edition). Elsevier.
- Cervantes-Sandoval, I., Chakraborty, M., MacMullen, C., & Davis, R. L. (2016). Scribble scaffolds a signalosome for active forgetting. *Neuron*, 90(6), 1230–1242. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.010>
- Charnay, Y., & Léger, L. (2010). Brain serotonergic circuitries. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12(4), 471–487.

- Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic plasticity: Multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18–41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- Clark, R. E., & Martin, S. J. (2018). Behavioral neuroscience of learning and memory. Springer International Publishing. <https://doi.org/978-3-319-78757-2>
- Clopath, C. (2012). Synaptic consolidation: An approach to long-term learning. *Cognitive Neurodynamics*, 6(3), 251–257. <https://doi.org/10.1007/s11571-011-9177-6>
- Codony, X., Vela, J. M., & Ramírez, M. J. (2011). 5-HT<sub>6</sub> receptor and cognition. *Current Opinion in Pharmacology*, 11(1), 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.01.004>
- Cole, D. C., Stock, J. R., Lennox, W. J., Bernotas, R. C., Ellingboe, J. W., Boikess, S., ... Schechter, L. E. (2007). Discovery of N1-(6-Chloroimidazo[2,1-b][1,3]-thiazole-5-sulfonyl)tryptamine as a potent, selective, and orally active 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(23), 5535–5538. <https://doi.org/10.1021/jm070521y>
- Da Silva Costa-Aze, V., Quiedeville, A., Boulouard, M., & Dauphin, F. (2012). 5-HT<sub>6</sub> receptor blockade differentially affects scopolamine-induced deficits of working memory, recognition memory and aversive learning in mice. *Psychopharmacology*, 222(1), 99–115. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2627-3>
- Davachi, L. (2006). Item, context and relational episodic encoding in humans. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(6), 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.10.012>
- Davis, R. L. (2010). Rac in the act of forgetting. *Cell*, 140(4), 456–458. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.004>
- Davis, R. L., & Zhong, Y. (2017). The Biology of forgetting—a perspective. *Neuron*, 95(3), 490–503. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.05.039>
- Dawson, L A, Nguyen, H. Q., & Li, P. (2000). In vivo effects of the 5-HT<sub>6</sub> antagonist SB-271046 on striatal and frontal cortex extracellular concentrations of noradrenaline, dopamine, 5-HT, glutamate and aspartate. *British Journal of Pharmacology*, 130(1), 23–26. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703288>
- Dawson, Lee A., Otto, L., Štrac, D. Š., Pivac, N., Mück-Šeler, D., Borsini, F., ... Herrick-Davis, K. (2011). The central role of 5-HT<sub>6</sub> receptors in modulating brain neurochemistry. In *Behavioural Brain Research* (Vol. 96, pp. 1–26). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00001-2>
- Della Sala, S. (2010). Forgetting. (R. Logie, Ed.), *Current issues in memory* (First edition). Psychology Press.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55(1), 51–86. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>
- Dudai, Y. (2012). The restless engram: Consolidations never end. *Annual Review of Neuroscience*, 35(1), 227–247. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150500>
- Dudai, Y., Karni, A., & Born, J. (2015). The consolidation and transformation of memory. *Neuron*, 88(1), 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.004>
- Duhr, F., Déléris, P., Raynaud, F., Séveno, M., Morisset-Lopez, S., Mannoury La Cour, C., ... Chaumont-Dubel, S. (2014). Cdk5 induces constitutive activation of 5-HT<sub>6</sub> receptors to promote neurite growth. *Nature Chemical Biology*, 10(7), 590–597. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1547>
- Fawcett, J. M., Lawrence, M. A., & Taylor, T. L. (2016). The representational consequences of intentional forgetting: Impairments to both the probability and fidelity of long-term memory. *Journal of Experimental Psychology: General*, 145(1), 56–81. <https://doi.org/10.1037/xge0000128>
- Fawcett, J. M., & Taylor, T. L. (2012). The control of working memory resources in intentional forgetting: Evidence from incidental probe word recognition. *Acta Psychologica*, 139(1), 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.actpsy.2011.10.001>

- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(2), 119–130. <https://doi.org/10.1038/nrn1607>
- Frankland, P. W., Köhler, S., Josselyn, S. A., Ko, S., & Josselyn, S. A. (2013). Hippocampal neurogenesis and forgetting. *Trends in Neurosciences*, 36(9), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.05.002>
- Gale, G. D. (2004). Role of the Basolateral Amygdala in the Storage of Fear Memories across the Adult Lifetime of Rats. *Journal of Neuroscience*, 24(15), 3810–3815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4100-03.2004>
- Geng, F., Tian, J., Wu, J. L., Luo, Y., Zou, W. J., Peng, C., & Lu, G. F. (2018). Dorsomedial prefrontal cortex 5-HT<sub>6</sub> receptors regulate anxiety-like behavior. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 18(1), 1–10. <https://doi.org/10.3758/s13415-017-0552-6>
- Genoux, D., Haditsch, et al., (2002). Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature*, 418(August), 970–975. <https://doi.org/10.1038/nature01008>. Published
- Gilmartin, M. R., & Helmstetter, F. J. (2010). Trace and contextual fear conditioning require neural activity and cortex Trace and contextual fear conditioning require neural activity and NMDA receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex, 289–296. <https://doi.org/10.1101/lm.1597410>
- Grychowska, K., Satała, G., Kos, T., Partyka, A., Colacino, E., Chaumont-Dubel, S., ... Zajdel, P. (2016). Novel 1 H -Pyrrolo[3,2- c ]quinoline based 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists with potential application for the treatment of cognitive disorders associated with alzheimer's disease. *ACS Chemical Neuroscience*, 7(7), 972–983. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.6b00090>
- Guise, K. G., & Shapiro, M. L. (2017). Medial prefrontal cortex reduces memory interference by modifying hippocampal encoding. *Neuron*, 94(1), 183-192.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.011>
- Haider, S., Khaliq, S., Ahmed, S. P., & Haleem, D. J. (2006). Long-term tryptophan administration enhances cognitive performance and increases 5HT metabolism in the hippocampus of female rats. *Amino Acids*, 31(4), 421–425. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0310-x>
- Hardt, O., Nader, K., & Nadel, L. (2013). Decay happens: The role of active forgetting in memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(3), 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2013.01.001>
- Hawkins, R. D., Kandel, E. R., & Bailey, C. H. (2006). Molecular mechanisms of memory storage in *Aplysia*. *Biological Bulletin*, 210(3), 174–191. <https://doi.org/10.2307/4134556>
- Helboe, L., Egebjerg, J., de Jong, I. E. M., Jong, I. E. M. D. E., & de Jong, I. E. M. (2015). Distribution of serotonin receptor 5-HT<sub>6</sub> mRNA in rat neuronal subpopulations: A double in situ hybridization study. *Neuroscience*, 310, 442–454. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.064>
- Hirst, W. D., Minton, J. A. L., Bromidge, S. M., Moss, S. F., Latter, A. J., Riley, G., ... Price, G. W. (2000). Characterization of [125I]-SB-258585 binding to human recombinant and native 5-HT<sub>6</sub> receptors in rat, pig and human brain tissue. *British Journal of Pharmacology*, 130(7), 1597–1605. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703458>
- Hirst, W. D., Stean, T. O., Rogers, D. C., Sunter, D., Pugh, P., Moss, S. F., ... Upton, N. (2006). SB-399885 is a potent, selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. *European Journal of Pharmacology*, 553(1–3), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.09.049>
- Holt, W., & Maren, S. (2018). Muscimol Inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *The Journal of Neuroscience*, 38(20), 9054–9062. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-20-09054.1999>
- Huerta-Rivas, A., Pérez-García, G., González-Espinosa, C., & Meneses, A. (2010). Time-course of 5-HT<sub>6</sub> receptor mRNA expression during memory consolidation and amnesia. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(1), 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.08.009>

- Izquierdo, I. (2015). *The Art of Forgetting*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06716-2>
- Izquierdo, I., Cammarota, M., & Medina, J. H. (2010). Long-term memory persistence. *Future Neurology*, 5(6), 911–917. <https://doi.org/10.2217/fnl.10.60>
- Jastrzębska-Więsek, M., Siwek, A., Kazek, G., Nawieoński, B., Partyka, A., Marcinkowska, M., ... Wesolowska, A. (2013). Partial agonist efficacy of EMD-386088, a 5-HT<sub>6</sub> receptor ligand, in functional in vitro assays. *Pharmacological Reports*, 65(4), 998–1005. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71081-8](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71081-8)
- Jastrzębska-Więsek, M., Siwek, A., Partyka, A., Kołaczkowski, M., Walczak, M., Smolik, M., ... Wesolowska, A. (2018). Study on the effect of EMD-386088, a 5-HT<sub>6</sub> receptor partial agonist, in enhancing the anti-immobility action of some antidepressants in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 391(1), 37–49. <https://doi.org/10.1007/s00210-017-1431-y>
- Jastrzębska-Więsek, M., Siwek, A., Partyka, A., Szewczyk, B., Sowa-Kućma, M., Wasik, A., ... Wesolowska, A. (2015). Antidepressant-like activity of EMD-386088, a 5-HT<sub>6</sub> receptor partial agonist, following systemic acute and chronic administration to rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 388(10), 1079–1088. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1141-2>
- Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: A dialogue between gene and synapses. *Science*, 294(5544), 1030–1038. <https://doi.org/10.1126/science.1067020>
- Kandel, Eric R., Dudai, Y., & Mayford, M. R. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), 163–186. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001>
- Kenakin T (2013) New concepts in pharmacological efficacy at 7TM receptors: IUPHAR review 2. *Br J Pharmacol* 168:554–575
- Kenakin, T. (2008). Receptor theory. *Current protocols in pharmacology*, 41(1), 1-2.
- Kenakin, T. (2019). *A Pharmacology Primer: Techniques for More Effective and Strategic Drug Discovery*. London, UK: Academic Press.
- Kendall, I., Sloten, H. A., Codony, X., Burgueño, J., Pauwels, P. J., Vela, J. M., & Fone, K. C. F. (2011). E-6801, a 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist, improves recognition memory by combined modulation of cholinergic and glutamatergic neurotransmission in the rat. *Psychopharmacology*, 213(2–3), 413–430. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-1854-3>
- Khoury, R., Grysman, N., Gold, J., Patel, K., & Grossberg, G. T. (2018). The role of 5-HT<sub>6</sub>-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 27(6), 523–533. <https://doi.org/10.1080/13543784.2018.1483334>
- King, M. V., Sleight, A. J., Woolley, M. L., Topham, I. A., Marsden, C. A., & Fone, K. C. F. (2004). 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists reverse delay-dependent deficits in novel object discrimination by enhancing consolidation - An effect sensitive to NMDA receptor antagonism. *Neuropharmacology*, 47(2), 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.03.012>
- Kohen, R., Fashingbauer, L. A., Heidmann, D. E. A., Guthrie, C. R., & Hamblin, M. W. (2001). Cloning of the mouse 5-HT<sub>6</sub> serotonin receptor and mutagenesis studies of the third cytoplasmic loop. *Molecular Brain Research*, 90(2), 110–117. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(01\)00090-0](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00090-0)
- Kohen, R., Metcalf, M. A., Khan, N., Druck, T., Huebner, K., Lachowicz, J. E., ... Hamblin, M. W. (2002). Cloning, characterization, and chromosomal localization of a human 5-HT<sub>6</sub> serotonin receptor. *Journal of Neurochemistry*, 66(1), 47–56. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66010047.x>
- Korte, M., & Schmitz, D. (2016). Cellular and system biology of memory: Timing, molecules, and beyond. *Physiological Reviews*, 96(2), 647–693. <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2015>
- Krogsgaard-Larsen, N., Jensen, A. A., Schrøder, T. J., Christoffersen, C. T., & Kehler, J. (2014). Novel Aza-analogous ergoline derived scaffolds as potent serotonin 5-HT<sub>6</sub> and dopamine D2



- receptor ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(13), 5823–5828. <https://doi.org/10.1021/jm5003759>
- Ledergerber, D., & Moser, E. I. (2017). Memory retrieval: taking the route via subiculum. *Current Biology*, 27(22), R1225–R1227. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.042>
- Leiser, S. C., Li, Y., Pehrson, A. L., Dale, E., Smagin, G., & Sanchez, C. (2015). Serotonergic regulation of prefrontal cortical circuitries involved in cognitive processing: A review of individual 5-HT<sub>2</sub> receptor mechanisms and concerted effects of 5-HT<sub>2</sub> receptors exemplified by the multimodal antidepressant vortioxetine. *ACS Chemical Neuroscience*, 6(7), 970–986. <https://doi.org/10.1021/cn500340j>
- Liu, Y., Du, S., Lv, L., Lei, B., Shi, W., Tang, Y., ... Zhong, Y. (2016). Hippocampal activation of Rac1 regulates the forgetting of object recognition memory. *Current Biology*, 26(17), 2351–2357. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.056>
- Liy-Salmeron, G., & Meneses, A. (2008). Effects of 5-HT drugs in prefrontal cortex during memory formation and the ketamine amnesia-model. *Hippocampus*, 18(9), 965–974. <https://doi.org/10.1002/hipo.20459>
- Loiseau, F., Dekeyne, A., & Millan, M. J. (2008). Pro-cognitive effects of 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists in the social recognition procedure in rats: Implication of the frontal cortex. *Psychopharmacology*, 196(1), 93–104. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0934-5>
- Marcos, B., Cabero, M., Solas, M., Aisa, B., & Ramirez, M. J. (2010). Signalling pathways associated with 5-HT<sub>6</sub> receptors: Relevance for cognitive effects. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 13(6), 775–784. <https://doi.org/10.1017/S146114570999054X>
- Mattsson, C., Sonesson, C., Sandahl, A., Greiner, H. E., Gassen, M., Plaschke, J., ... Böttcher, H. (2005). 2-Alkyl-3-(1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl)-1H-indoles as novel 5-HT<sub>6</sub> receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(19), 4230–4234. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.06.067>
- McGaugh, J. L. (2000). Neuroscience - Memory - a century of consolidation. *Science*, 287(5451), 248–251. <https://doi.org/10.1126/science.287.5451.248>
- McGaugh, J. L. (2013). Making lasting memories: Remembering the significant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(Supplement\_2), 10402–10407. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301209110>
- McGaugh, J. L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 153(3742), 1351–1358. <https://doi.org/10.1126/science.153.3742.1351>
- McGaugh, J. L., Castellano, C., & Brioni, J. (1990). Picrotoxin enhances latent extinction of conditioned fear. *Behavioral Neuroscience*, 104(2), 264–267. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.104.2.264>
- McKenzie, S., & Eichenbaum, H. (2011). Consolidation and reconsolidation: Two lives of memories? *Neuron*, 71(2), 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.06.037>
- Medina, J. H. (2018). Neural, cellular and molecular mechanisms of active forgetting. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 12(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2018.00003>
- Meffre, J., Chaumont-Dubel, S., Mannoury la Cour, C., Loiseau, F., Watson, D. J. G., Dekeyne, A., ... Marin, P. (2012). 5-HT<sub>6</sub> receptor recruitment of mTOR as a mechanism for perturbed cognition in schizophrenia. *EMBO Molecular Medicine*, 4(10), 1043–1056. <https://doi.org/10.1002/emmm.201201410>
- Meneses, A., Manuel-Apolinar, L., Castillo, C., & Castillo, E. (2007). Memory consolidation and amnesia modify 5-HT<sub>6</sub> receptors expression in rat brain: An autoradiographic study. *Behavioural Brain Research*, 178(1), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.11.048>
- Meneses, A., Perez-Garcia, G., Liy-Salmeron, G., Flores-Galvez, D., Castillo, C., & Castillo, E. (2008). The effects of the 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist EMD and the 5-HT<sub>7</sub> receptor agonist AS19 on memory formation. *Behavioural Brain Research*, 195(1), 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.11.023>

- Meneses, A. (2002). Tianeptine: 5-HT uptake sites and 5-HT  $1 \pm 7$  receptors modulate memory formation in an autoshaping Pavlovian / instrumental task, 26.
- Meneses, A. (2003). A pharmacological analysis of an associative learning task: 5-HT  $1$  to 5-HT  $7$  receptor subtypes function on a pavlovian/instrumental autoshaped memory. *Learning & Memory*, 10(5), 363–372. <https://doi.org/10.1101/lm.60503.10>
- Meneses, A. (2016). Neural activity, memory, and dementias: Serotonergic markers. *Behavioural Pharmacology*, 28(2-3 Special Issue), 132–141. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000279>
- Meneses, A. (2017). Frameworking memory and serotonergic markers. *Reviews in the Neurosciences*, 28(5), 455–497. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2016-0079>
- Meneses, A. & Liy-Salmeron, G. (2012). Serotonin and emotion, learning and memory. *Reviews in the Neurosciences*, 23(5–6), 543–553. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0060>
- Meneses, A. Pérez-García, G., Ponce-Lopez, T., & Castillo, C. (2011). 5-HT<sub>6</sub> receptor memory and amnesia: Behavioral Pharmacology - Learning and Memory Processes. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 96, pp. 27–47). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00002-4>
- Meneses, A. & Tellez, R. (2014). Autoshaping memory formation and retention loss: Are serotonin and other neurotransmitter transporters involved? In W. Blenau & A. Baumann (Eds.), *Serotonin Receptor Technologies* (Vol. 95, pp. 1–245). <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2187-4>
- Migues, P. V., Liu, L., Archbold, G. E. B., Einarsson, E. O., Wong, J., Bonasia, K., ... Hardt, O. (2016). Blocking synaptic removal of GluA2-Containing AMPA receptors prevents the natural forgetting of long-term memories. *Journal of Neuroscience*, 36(12), 3481–3494. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3333-15.2016>
- Millan, M. J., Agid, Y., Brüne, M., Bullmore, E. T., Carter, C. S., Clayton, N. S., ... Young, L. J. (2012). Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: Characteristics, causes and the quest for improved therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 11(2), 141–168. <https://doi.org/10.1038/nrd3628>
- Mitchell, E. S., & Neumaier, J. F. (2005). 5-HT<sub>6</sub> receptors: A novel target for cognitive enhancement. *Pharmacology and Therapeutics*, 108(3), 320–333. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.05.001>
- Mitchell, E. S., Sexton, T., & Neumaier, J. F. (2007). Increased expression of 5-HT<sub>6</sub> receptors in the rat dorsomedial striatum impairs instrumental learning. *Neuropsychopharmacology*, 32(7), 1520–1530. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301284>
- Mohamed, M., & Ghoneim, M. (2004). Drugs and Human Memory. *Anesthesiology*, 100(4), 987–1002.
- Moser, M.-B., & Moser, E. I. (2018). Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 38(18), 7535–7542. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.18-18-07535.1998>
- Mosma Jr., F. J., Shen, Y., Ward, R., Hamblin, M. W., & Sibley, D. R. (1992). Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Molecular Pharmacology*, 43, 320–327.
- Nikiforuk, A., Kos, T., & Wesolowska, A. (2011). The 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist EMD 386088 produces antidepressant and anxiolytic effects in rats after intrahippocampal administration. *Psychopharmacology*, 217(3), 411–418. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2297-1>
- Parkinson, J. a, Olmstead, M. C., Burns, L. H., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1999). Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *The Journal of Neuroscience*, 19(6), 2401–2411. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-06-02401.1999>

- Perez-García, G., & Meneses, A. (2008). Ex vivo study of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptor agonists and antagonists on cAMP accumulation during memory formation and amnesia. *Behavioural Brain Research*, 195(1), 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.07.033>
- Perez-García, G. & Meneses, A. (2005). Oral administration of the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists SB-357134 and SB-399885 improves memory formation in an autoshaping learning task. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81(3), 673–682. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.05.005>
- Peters, G. J., David, C. N., Marcus, M. D., & Smith, D. M. (2013). The medial prefrontal cortex is critical for memory retrieval and resolving interference. *Learning and Memory*, 20(4), 201–209. <https://doi.org/10.1101/lm.029249.112>
- Preston, A. R., & Eichenbaum, H. (2013). Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*, 23(17), R764–R773. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.041>
- Quartermain, D., & Leo, P. (1988). Strength of scopolamine-induced amnesia as a function of time between training and testing. *Behavioral and Neural Biology*, 50(3), 300–310. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(88\)90986-7](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(88)90986-7)
- Richards, B. A., & Frankland, P. W. (2017). The persistence and transience of memory. *Neuron*, 94(6), 1071–1084. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.037>
- Roberts, J. C., Reavill, C., East, S. Z., Harrison, P. J., Patel, S., Routledge, C., & Leslie, R. A. (2002). The distribution of 5-HT<sub>6</sub> receptors in rat brain: An autoradiographic binding study using the radiolabelled 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist [<sup>125</sup>I]SB-258585. *Brain Research*, 934(1), 49–57. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02360-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02360-0)
- Roth, B. L., Craigo, S. C., Choudhary, M. S., Uluer, A., Monsma Jr., F. J., Shen, Y., ... Sibley, D. R. (1994). Binding of typical and atypical antipsychotic agents to 5-hydroxytryptamine-6 and 5-hydroxytryptamine-7 receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 268(3), 1403–1410. <https://doi.org/10.1110/ps.0227403>
- Roy, D. S., Kitamura, T., Okuyama, T., Ogawa, S. K., Sun, C., Obata, Y., ... Tonegawa, S. (2017). Distinct neural circuits for the formation and retrieval of episodic memories. *Cell*, 170(5), 1000-1012.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.013>
- Sachser, R. M., Santana, F., Crestani, A. P., Lunardi, P., Pedraza, L. K., Quillfeldt, J. A., ... De Oliveira Alvares, L. (2016). Forgetting of long-term memory requires activation of NMDA receptors, L-type voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels, and calcineurin. *Scientific Reports*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep22771>
- Schechter, L. E., Lin, Q., Smith, D. L., Zhang, G., Shan, Q., Platt, B., ... Beyer, C. E. (2008). Neuropharmacological profile of novel and selective 5-HT<sub>6</sub> receptor agonists: WAY-181187 and WAY-208466. *Neuropsychopharmacology*, 33(6), 1323–1335. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301503>
- Schmidt, S. D., Furini, C. R. G., Zinn, C. G., Cavalcante, L. E., Ferreira, F., Behling, J. A. K., ... Izquierdo, I. (2017). Modulation of the consolidation and reconsolidation of fear memory by three different serotonin receptors in hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 142, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.12.017>
- Seyedabadi, M., Fakhfour, G., Ramezani, V., Mehr, S. E., & Rahimian, R. (2014). The role of serotonin in memory: interactions with neurotransmitters and downstream signaling. *Experimental Brain Research*, 232(3), 723–738. <https://doi.org/10.1007/s00221-013-3818-4>
- Shallice, T., Fletcher, P., Frith, C. D., Grasby, P., Frackowiak, R. S. J., & Dolan, R. J. (1994). Brain regions associated with acquisition and retrieval of verbal episodic memory. *Nature*, 368(6472), 633–635. <https://doi.org/10.1038/368633a0>
- Shimamura, A. P., Jurica, P. J., Mangels, J. A., Gershberg, F. B., & Knight, R. T. (1995). Susceptibility to memory interference effects following frontal lobe damage: Findings from tests of paired-associate learning. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 7(2), 144–152. <https://doi.org/10.1162/jocn.1995.7.2.144>

- Shortall, S. E., Negm, O. H., Fowler, M., Fairclough, L. C., Tighe, P. J., Wigmore, P. M., ... King, M. V. (2018). Characterization of behavioral, signaling and cytokine alterations in a rat neurodevelopmental model for schizophrenia, and their reversal by the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist SB-399885. *Molecular Neurobiology*, 55(9), 7413–7430. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0940-0>
- Shuai, Y., Lu, B., Hu, Y., Wang, L., Sun, K., & Zhong, Y. (2010). Forgetting is regulated through Rac activity in *Drosophila*. *Cell*, 140(4), 579–589. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.12.044>
- Silva, A. J., & Josselyn, S. A. (2002). The molecules of forgetfulness. *Nature*, 418(6901), 929–930. <https://doi.org/10.1038/418929a>
- Squire, L.R., & Zola-Morgan, J. T. (2011). The cognitive neuroscience of human memory since H.M. *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), 259–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113720>
- Squire, L. R. (1982). The neuropsychology of human memory. *Annual Review of Neuroscience*, 5(1), 241–273. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.05.030182.001325>
- Squire, Larry R. (2009). Memory and brain systems: 1969-2009. *Journal of Neuroscience*, 29(41), 12711–12716. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3575-09.2009>
- Stevens, C. F. (1994). CREB and memory consolidation Minireview. *Cell*, 13, 769–770.
- Stewart, A. J., Fox, A., Morimoto, B. H., & Gozes, I. (2007). Looking for novel ways to treat the hallmarks of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 16(8), 1183–1196. <https://doi.org/10.1517/13543784.16.8.1183>
- Storm, B. C., Bjork, E. L., & Bjork, R. A. (2008). Accelerated relearning after retrieval-induced forgetting: The benefit of being forgotten. *Journal of Experimental Psychology: Learning Memory and Cognition*, 34(1), 230–236. <https://doi.org/10.1037/0278-7393.34.1.230>
- Sutton, M. A., & Carew, T. J. (2002). Behavioral, cellular, and molecular analysis of memory in *Aplysia* I: Intermediate-Term Memory. *Integ. and Comp. Biol*, 42, 725–735. <https://doi.org/10.1093/icb/42.4.725>
- Švob Štrac, D., Pivac, N., Mück-Šeler, D., Štrac, D. Š., Pivac, N., & Mück-Šeler, D. (2016). The serotonergic system and cognitive function. *Translational Neuroscience*, 7(1), 35–49. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2016-0007>
- Sweatt, J. D. (2010). *Mechanisms of Memory* (Second edition). Elsevier Inc.
- Tellez, R., Gómez-Viquez, L., Liy-Salmeron, G., & Meneses, A. (2012). GABA, glutamate, dopamine and serotonin transporters expression on forgetting. *Neurobiology of Learning and Memory*, 98(1), 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.05.001>
- Thomas, K. L., & Everitt, B. J. (2001). Limbic-cortical-ventral striatal activation during retrieval of a discrete cocaine-associated stimulus: a cellular imaging study with gamma protein kinase C expression. *The Journal of Neuroscience*, 21(7), 2526–2535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2177-01.2001> [pii]
- Tonegawa, S., Liu, X., Ramirez, S., & Redondo, R. (2015). Memory engram cells have come of age. *Neuron*, 87(5), 918–931. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.08.002>
- Tulving, E. (2007). Are There 256 Different Kinds? The foundations of remembering: Essays in Honor of Henry L. Roediger III, i, 39–52.
- Upton, N., Chuang, T. T., Hunter, A. J., & Virley, D. J. (2008). 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists as novel cognitive enhancing agents for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, 5(3), 458–469. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2008.05.008>
- Vanda, D., Soural, M., Canale, V., Chaumont-Dubel, S., Satała, G., Kos, T., ... Zajdel, P. (2018). Novel non-sulfonamide 5-HT<sub>6</sub> receptor partial inverse agonist in a group of imidazo[4,5-b]pyridines with cognition enhancing properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144, 716–729. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.12.053>
- Villarrreal, D. M., Do, V., Haddad, E., & Derrick, B. E. (2002). NMDA receptor antagonists sustain LTP and spatial memory: Active processes mediate LTP decay. *Nature Neuroscience*, 5(1), 48–52. <https://doi.org/10.1038/nn776>

- Wesołowska, A., & Nikiforuk, A. (2007). Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist SB-399885 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology*, 52(5), 1274–1283. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.01.007>
- Wirth, A., Holst, K., & Ponimaskin, E. (2017). How serotonin receptors regulate morphogenic signalling in neurons. *Progress in Neurobiology*, 151, 35–56. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.03.007>
- Wixted, J. T. (2004). The psychology and neuroscience of forgetting. *Annual Review of Psychology*, 55(1), 235–269. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.141555>
- Woods, S., Clarke, N. N., Layfield, R., & Fone, K. C. F. (2012). 5-HT<sub>6</sub> receptor agonists and antagonists enhance learning and memory in a conditioned emotion response paradigm by modulation of cholinergic and glutamatergic mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, 167(2), 436–449. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02022.x>
- Woolley, M. L., Bentley, J. C., Sleight, A. J., Marsden, C. A., & Fone, K. C. F. (2001). A role for 5-HT<sub>6</sub> receptors in retention of spatial learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology*, 41(2), 210–219. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(01\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(01)00056-9)
- Wylie, G. R., Foxe, J. J., & Taylor, T. L. (2008). Forgetting as an active process: An fMRI investigation of item-method-directed forgetting. *Cerebral Cortex*, 18(3), 670–682. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm101>
- Yun, H.-M., Baik, J.-H., Kang, I., Jin, C., & Rhim, H. (2010). Physical interaction of Jab1 with Human Serotonin 6 G-protein-coupled receptor and their possible roles in cell survival. *Journal of Biological Chemistry*, 285(13), 10016–10029. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.068759>
- Yun, H.-M., Kim, S., Kim, H.-J., Kostenis, E., Kim, J. II, Seong, J. Y., ... Rhim, H. (2007). The novel cellular mechanism of human 5-HT<sub>6</sub> receptor through an interaction with Fyn. *Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5496–5505. <https://doi.org/10.1074/jbc.M606215200>
- Zhang, X., Li, Q., Wang, L., Liu, Z. J., & Zhong, Y. (2018). Active protection: Learning-activated Raf/MAPK activity protects labile memory from Rac1-Independent forgetting. *Neuron*, 98(1), 142–155.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.02.025>

# APÉNDICE I

---

## Terminología farmacológica de utilidad para este proyecto.

El efecto de cualquier fármaco resulta de su interacción con su receptor, postulándose varias teorías y modelos que intentan explicar estos fenómenos (*Berg y Clarke, 2018*). La teoría clásica del fármaco-receptor se fue desarrollando gradualmente desde 1935 a 1965 por el trabajo realizado por Clark, Ariens, Stephenson y Furchgott. En este sentido la teoría clásica es una mezcla de ideas que explica los efectos de los fármacos en tejidos aislados y extrapolada para explicar la fisiología (*Kenakin, 2019*).

### Teoría clásica.

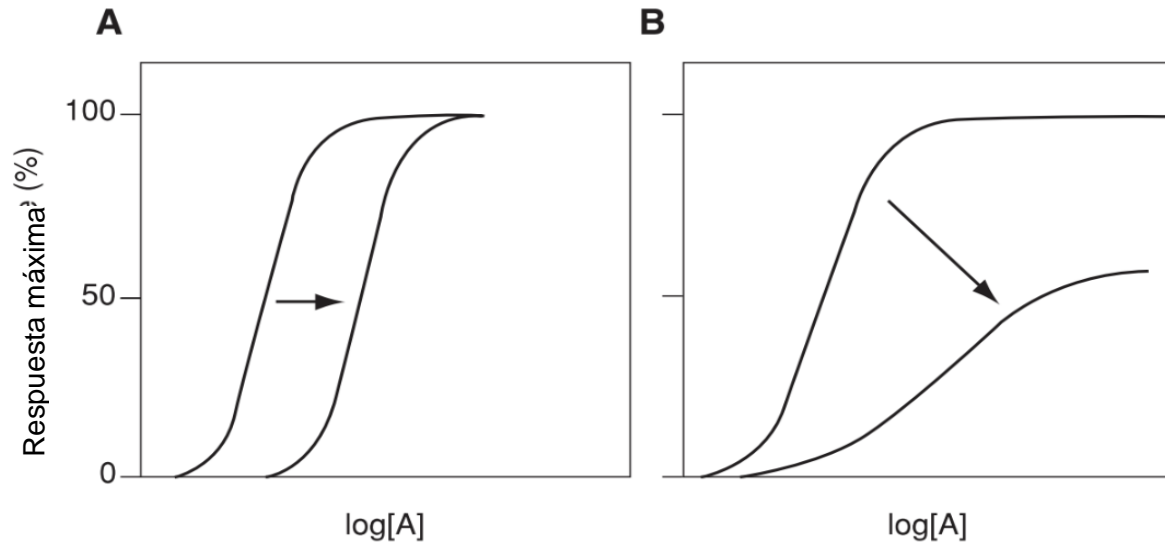
De acuerdo con Clark, la unión de un fármaco [A] a su receptor sigue la ley de acción de masas de esta forma se establece un equilibrio químico que converge en la constante de afinidad para un fármaco y su receptor. Ariens introduce el término de actividad intrínseca ( $\alpha$  en su terminología) para explicar que diferentes fármacos estimulan a un receptor de diferente forma. La actividad intrínseca es la respuesta máxima de un agonista, expresado como una fracción de la respuesta máxima para un tejido determinado (p.ej.  $\alpha = 1$  indica que el agonista produce la máxima respuesta). Posteriormente Stephenson introduce el término de eficacia ( $e$ ) como la magnitud de activación de un receptor por la unión de un agonista en un tejido específico. Luego, Furchgott separa los componentes del agonista y del tejido de la eficacia al definir la eficacia intrínseca ( $\epsilon$ ), definido como el estímulo mínimo de activación producido por un agonista unido a un solo receptor (revisado en *Kenanki 2008; 2013; 2019*).

### **Definiciones:**

Dentro del contexto anterior, los fármacos pueden comportarse como agonistas si poseen afinidad al receptor, una eficacia intrínseca y actividad intrínseca positiva. Los agonistas estimulan a los receptores al interactuar con ellos, produciendo una respuesta (eficacia). Si los agonistas son capaces de producir la respuesta máxima del sistema son considerados **agonistas completos o puros** ( $\alpha = 1$ ;  $\epsilon = 1$ ). Si la eficacia del agonista es menor a la capacidad máxima de estimulación de un sistema (ligando endógeno) se

denominan **agonistas parciales** si tienen una  $\alpha$  y  $\epsilon$  menor a uno (*Kenakin, 2008*). A su vez, un agonista parcial puede bloquear el efecto de un agonista completo, al competir por el sitio de unión (ortostérico), de esta forma se evita la activación del receptor por un agonista con mayor eficacia, lo que reduce la respuesta en el sistema, dando la ilusión de un bloqueo parcial, fenómeno que se conoce como antagonismo por agonista parcial (*Kenakin, 2008; 2019*).

Otro fenómeno farmacológico es la inhibición del efecto de un agonista por una sustancia que por si sola no produce un efecto ( $\alpha = 0$ ;  $\epsilon = 0$ ). De acuerdo con Gaddum y colaboradores (1955), describen dos clases de antagonistas los superables e insuperables. Esta clasificación se basa en el efecto que produce el antagonista sobre la curva dosis-respuesta de un agonista. Un **antagonista superable** es que se caracteriza por una respuesta máxima constante, es decir, que se puede alcanzar la respuesta máxima en presencia del antagonista con solo incrementar la dosis del agonista, produciendo que la curva dosis respuesta se desplace a la derecha (figura 1.1A). Mientras que un **antagonista insuperable** se caracteriza por una depresión de la máxima respuesta del tejido al agonista y un desplazamiento no paralelo de la curva dosis respuesta (*Gaddum et al 1955*) (Figura 1.1B). Tiempo después se define a los antagonistas por la relación entre la competencia por el sitio ortostérico del receptor y su disociación en antagonistas competitivos o no competitivos. De tal forma, los **antagonistas competitivos** se unen al receptor y se disocian del receptor creando un equilibrio químico, por lo que la probabilidad de que un agonista ocupe un receptor libre incrementa al aumentar la concentración del agonista. Así, si la disociación es rápida, un antagonista competitivo también es un antagonista superable. Empero si la disociación del antagonista es extremadamente lenta o no lo hace al formar enlaces covalentes, entonces el fármaco funcionaría como un antagonista irreversible, evitando la unión del agonista al receptor, a esto se le conoce como **antagonista no competitivo o irreversible** (*Kenanki, 2008*). Otro mecanismo por el cual un antagonista puede bloquear los efectos de un agonista es mediante su unión a un sitio diferente del ortostérico, haciendo que el receptor adopte una conformación donde el agonista ya no puede activarlo, pero si unirse, a esto se le conoce como **antagonista alostérico**.

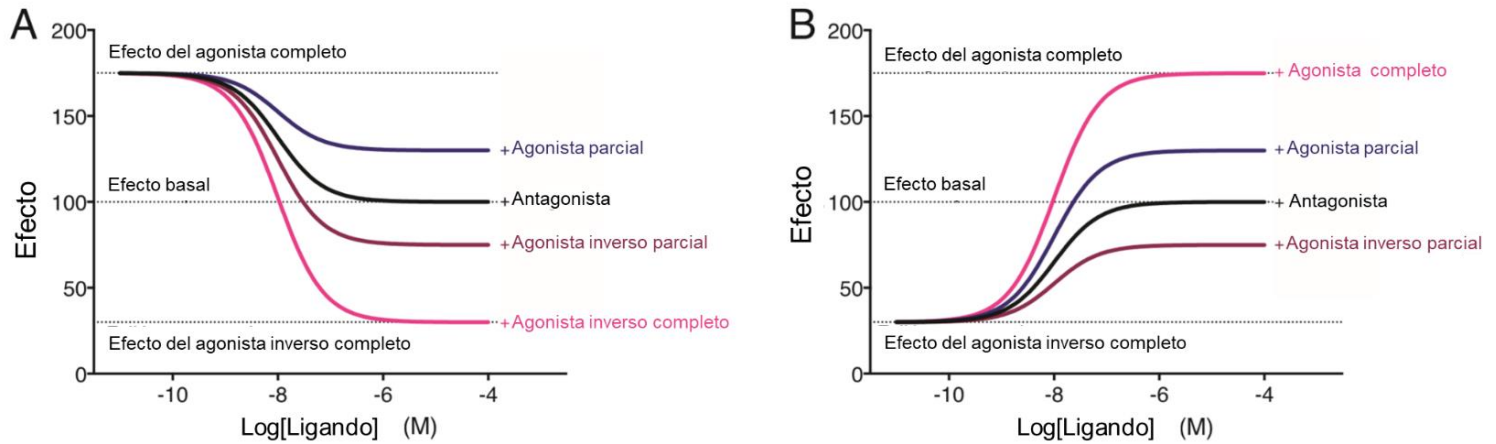


**Figura 1.1.** Antagonistas superables versus insuperables. **A**, los antagonistas superables se caracterizan por el desplazamiento a la derecha de la curva, sin disminuir la respuesta máxima. **B**, El antagonismo insuperable puede o no desplazar la curva a la derecha. [A] Concentración del agonista. Modificada de *Kenanki, 2008*.

Evidencia reciente indica que la teoría clásica necesitaba modificaciones para integrar los efectos de algunos fármacos que no se adaptan al modelo. La teoría clásica se basa en que el receptor se encuentra en un estado quiescente y no produce ningún efecto al menos que interactúe con un agonista. Actualmente se conoce que los receptores pueden adoptar conformaciones activas capaces de regular la señalización celular en ausencia de ligando (**actividad constitutiva**). El primer modelo en introducir el concepto de una eficacia negativa de un fármaco fue la teoría de los dos estados (usada principalmente en canales iónicos). La teoría de los dos estados predice que un fármaco se encuentra en equilibrio entre dos conformaciones o estados del receptor: la conformación inactiva o la conformación activa. Además, postula que un fármaco puede tener una alta afinidad por el estado inactivo del receptor desplazando el equilibrio hacia la conformación inactiva de los receptores e inclusive disminuir la actividad del receptor por debajo de niveles basales (revisado en *Berg y Clarke, 2018*). Empero, si en ausencia del fármaco este equilibrio ya se encuentra desplazado, al administrar el fármaco este se comportará como antagonista, a los fármacos con estas propiedades se les llama **agonistas inversos** (*Berg y Clarke, 2018; Kenaki, 2019*).



De manera análoga a los agonistas, las modificaciones en la estructura de un agonista inverso pueden ocasionar que se altera la eficacia intrínseca del compuesto, ocasionando diferentes niveles de agonismo (actividad intrínseca). Asimismo, la respuesta de un agonista inverso puede ser reducida por un ligando con mayor eficacia intrínseca (un antagonista, un agonista inverso parcial o un agonista), en la figura 1.2 se ilustran estos efectos en un sistema previamente estimulado (*Berg y Clarke, 2018*).



**Figura 1.2.** Curvas concentración-respuesta de ligandos con diferente eficacia intrínseca, sobre la respuesta de un agonista completo (A) o un agonista inverso completo (B). En estas gráficas se observa que el efecto del ligando que compite por ocupar el sitio ortostérico del receptor, desplazara la respuesta del sistema para conmensurar la diferencia entre eficacias intrínsecas. Adaptada de Berg y Clarke, 2018.