



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

**FACULTAD DE MEDICINA “DR. IGNACIO CHÁVEZ”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN FARMACOLOGÍA BÁSICA**

**EFFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS
DE ESTRADIOL SOBRE EL DESEMPEÑO DE LA
MEMORIA DE TRABAJO EGOCÉNTRICA DE
LA RATA MACHO.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN FARMACOLOGÍA BÁSICA**

**PRESENTA
Q.F.B. MISAEL ALEJANDRE GOMEZ**

**DIRECTOR DE TESIS
D. EN C. IGNACIO GONZÁLEZ BURGOS**



FACULTAD DE MEDICINA
"DR. IGNACIO CHAVEZ"

MORELIA, MICHOACÁN

DR. RAFAEL CARRILLO, ESQ.
DR. SALVADOR GONZALEZ
HERREJON
BOSQUE CUAUHTEMOC, CENTRO, C.P.
59000, APARTADO POSTAL 136
<http://medic.facmed.unich.mx>
facmed@jupiter.unich.mx

DEPENDENCIA:	FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"
No. OFIC.	041
DEPARTAMENTO:	DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"2006 AÑO DEL BICENTENARIO DEL NATALICIO DEL BENEMERITO DE LAS AMERICAS, DON BENITO JUAREZ GARCIA"

CONSTANCIA

A QUIEN CORRESPONDA:

El que suscribe, Jefe de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez" de la U.M.S.N.H., **HACE CONSTAR** que los profesores e investigadores que a continuación se mencionan:

- D. en C. José Miguel Cervantes Alfaro
- D. en C. Ma. Esther Olvera Cortés
- M. en C. Graciela Letechipia Vallejo
- D. en C. Ignacio González Burgos

se reunieron el día 9 de octubre del año en curso en las instalaciones de esta Dependencia para evaluar el avance del proyecto de Tesis de Maestría en Farmacología Básica titulada "Efecto de la administración sistémica de letrozol sobre el desempeño de la memoria de trabajo egocéntrica en la rata macho" presentado por la alumna Q.F.B. Misael Alejandro Gómez, acordando que el Trabajo tiene un 100% de avance y puede proceder con los trámites de titulación

Se extiende la presente para los usos y fines legales que corresponda, en la Ciudad de Morelia, Michoacán, a los 10 días del mes de octubre del dos mil seis.

ATENTAMENTE

DR. VÍCTOR MANUEL FARIAS RODRÍGUEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FAC. DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
U.M.S.N.H.



FACULTAD DE MEDICINA
"DR. IGNACIO CHAVEZ"
DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSTGRADO

DEDICATORIA

Me enseñaste a volar, pero no volaré tu vuelo;
Me enseñaste a soñar, pero no soñaré tu sueño;
Me enseñaste a vivir, pero no viviré tu vida;

Sin embargo...
en cada vuelo, en cada vida, en cada sueño,
perdurará siempre la huella del camino enseñado.

A quienes siempre estarán en mi corazón.
Con todo mi amor: iiiGracias Papá y Mamá!!!

Nunca imaginé que una sonrisa pudiera llenar mi mundo de optimismo y alegría...
hasta que tu sonrisa convirtió mis días en alegres y prometedores.

Nunca me di cuenta que alguien pudiera cambiar tanto mi vida...
hasta que me brindaste tu cariño, tu confianza y tus detalles llenos de ternura.

Nunca pensé que el amor pudiera ser infinito, profundo y verdadero...
hasta el día que te entregué mi corazón y toda mi vida: Te amo.

Gracias, Israel.

A quienes han sido mis compañeros en la escuela de la vida, mis queridos hermanos:

Emma, Susy, Cecy, Ede, Willy, Iris, Canjel y Quiru.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ignacio González Burgos por creer en mis capacidades y apoyarme moral e intelectualmente, siempre.

A mis sinodales: Dra. María Esther Olvera Cortés, Dra. Graciela Letechipía Vallejo y Dr. José Miguel Cervantes Alfaro, por sus valiosas aportaciones que harán menos difícil la búsqueda continua de la verdad en el camino de la ciencia.

A mis compañeras en la esclavitud, porque el futuro no está escrito pero estamos creando uno bueno: Jessy, Dulce y Silvia; Jessy y Dulce gracias por su disposición y apoyo durante los interminables experimentos.

A Mike por su amistad y por las sugerencias metodológicas acertadas que redujeron notablemente mi neurosis.

A mis colegas y amigas: Ana Laura, Yunuén y Olga.

A todos los que de manera directa o indirecta contribuyeron a la realización de esta tesis.

Al Centro de Investigación Biomédica de Michoacán por ser la cuna de mi desarrollo en la ciencia.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el apoyo económico y educativo.

**EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA
SÍNTESIS DE ESTRADIOL SOBRE EL
DESEMPEÑO DE LA MEMORIA DE
TRABAJO EGOCÉNTRICA DE LA RATA
MACHO.**

**EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS SE
REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE
PSICOBIOLOGÍA DEL CENTRO DE
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE
MICHOCÁN, DEL INSTITUTO MEXICANO
DEL SEGURO SOCIAL; CON
FINANCIAMIENTO DEL FONDO PARA EN
FOMENTO DE LA INVESTIGACIÓN DEL
PROPIO INSTITUTO (No. 2005/1-I-140).**

INDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
HIPÓTESIS	30
OBJETIVOS	31
MATERIAL Y MÉTODOS	32
RESULTADOS	40
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIÓN	57
REFERENCIAS	58

RESUMEN

La concentración de estrógenos en la corteza cerebral prefrontal es dos veces mayor a la de la corteza temporal y siete veces mayor a la que se encuentra en el hipocampo. Estas regiones cerebrales están directamente relacionadas con la organización de procesos de memoria y se ha reportado que la administración de estradiol produce mejora en la ejecución de tareas de memoria de trabajo espacial. La aromatasa es la enzima que sintetiza estradiol y está ampliamente distribuida en el cerebro. Sin embargo, la participación del estradiol de origen cerebral en actividades cognitivas no ha sido investigada. La capacidad de adquisición, retención y recuperación de información relacionada con una tarea de memoria de trabajo egocéntrica fue evaluada mediante un diseño “pareado a la muestra”. Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Sprague-Dawley, a las cuales se les administró 2.5 mg/Kg de letrozol, un inhibidor competitivo y reversible de la aromatasa. Los animales tratados con letrozol fueron más eficientes en la etapa de adquisición que los animales tratados con vehículo o los no tratados y no se observó ningún efecto en las etapas de retención o de recuperación. Los resultados sugieren que los estrógenos cerebrales están involucrados en la ejecución de tareas de memoria de trabajo egocéntrica. De acuerdo con evidencia previa, el efecto observado sobre la memoria de trabajo pudo ser debido a modificaciones sobre la disponibilidad del estradiol en el cerebro causado por la actividad incrementada de la aromatasa cerebral.

ABSTRACT

Prefrontal estrogen levels are two fold, and seven fold higher than in temporal cortex and hippocampus; respectively. These cerebral regions are strongly related to memory processes organization, and a better spatial memory-related behavioural performance has been reported after estradiol treatment. Aromatase is an estradiol-synthetizing enzyme widely distributed in brain tissue. However, the possible brain estradiol involvement in cognition-related behavioral performance has not been studied. Acquisition, retention, and retrieval of information were evaluated in a match-to-sample paradigm of egocentric working memory. Sprague-Dawley male adult rats were given 2.5 mg/Kg of letrozole, a competitive reversible aromatase inhibitor. Letrozol-treated rats were more efficient to resolve the task than those vehicle-treated as well as intact rats. Both retention and retrieval were unaffected. Based on these results, strong involvement of cerebral estrogens in prefrontal-dependent working memory performance is suggested. According with previous evidence this could be associated to an increase of cerebral estrogen availability may be caused by an increase in the brain aromatase activity.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En el cerebro de mamíferos tales como el humano y la rata, la corteza cerebral representa el sustrato neural de mayor nivel jerárquico en la organización de la conducta (Figura 1).

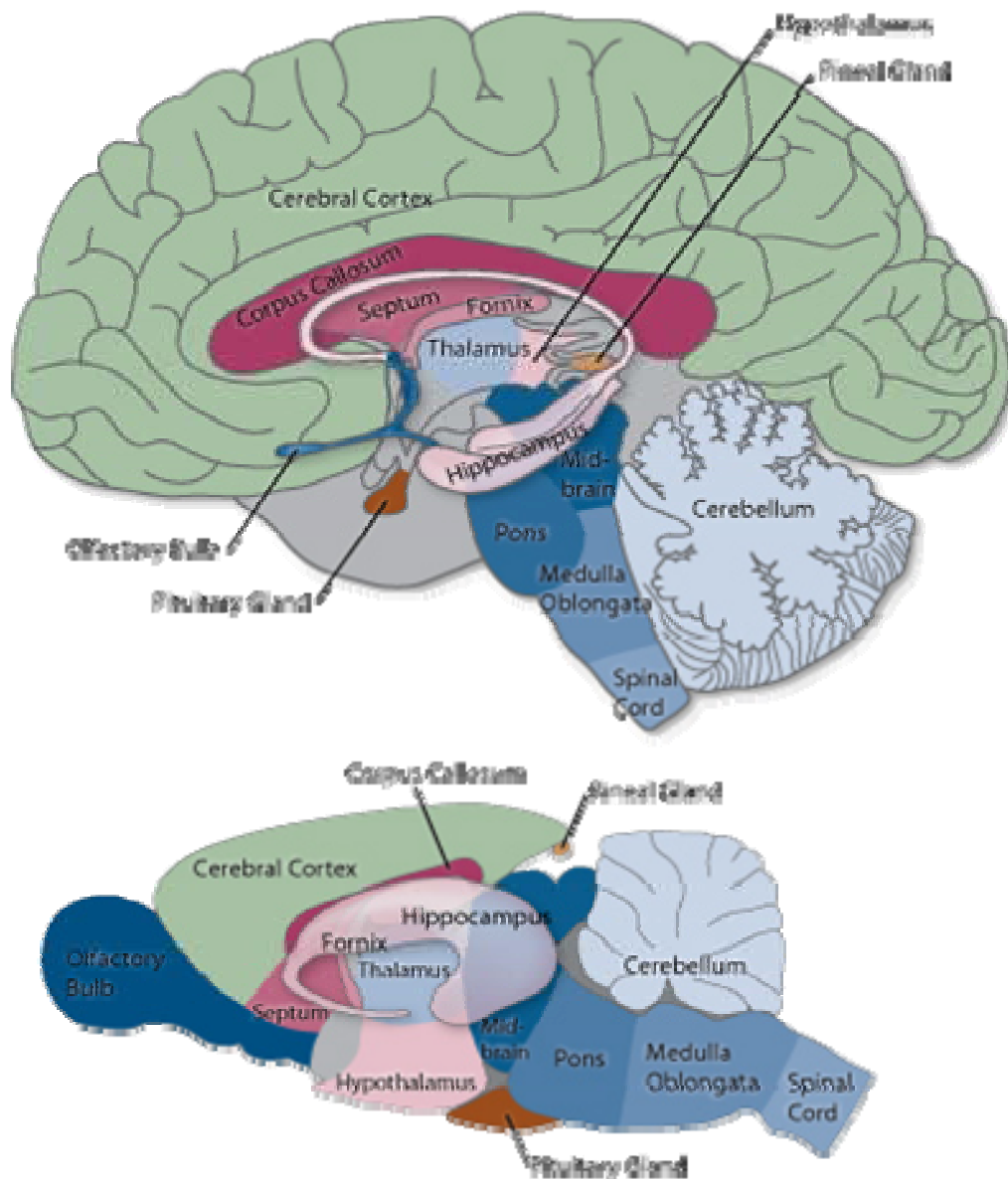


Figura 1. Vista medial del cerebro de humano de rata. Se observa la localización comparativa de la corteza cerebral (Modificado de: learn.genetics.utah.edu).

La memoria se ha conceptualizado como la capacidad neurocognoscitiva para codificar, almacenar y recuperar información (Tulving, 2000). En este sentido, existen diferentes subdivisiones de la memoria y como función nerviosa superior está rigurosamente organizada por regiones cerebrales específicas (Figura 2).

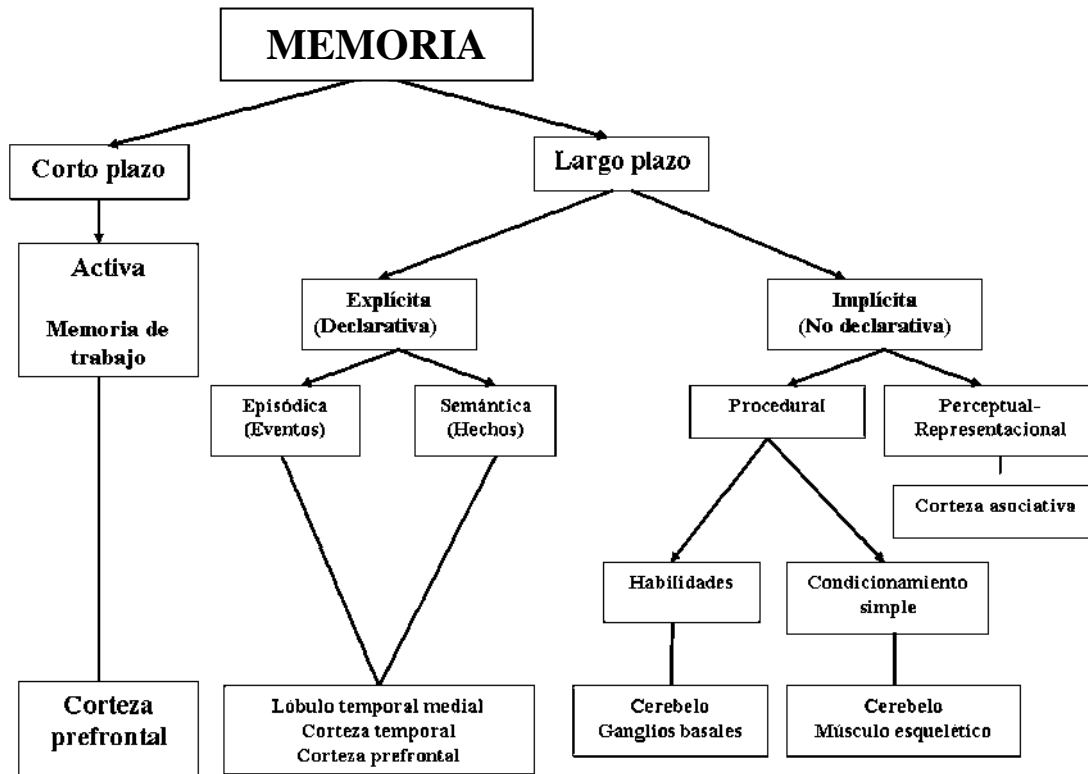


Figura 2. Subdivisiones de la memoria y regiones cerebrales asociadas (Modificado de: revista.cecm.usp.br; Gazzaniga et al., 2002).

Las regiones corticales frontales están estrechamente relacionadas con las llamadas funciones nerviosas superiores, entre las que destacan el pensamiento lógico, la capacidad de abstracción y las funciones ejecutivas. Estas últimas incluyen la atención dirigida, la inhibición de respuestas inapropiadas, el cambio de actividad cognoscitiva y la verificación del resultado conductual (Miller and Cummings, 1999).

Las funciones ejecutivas están relacionadas con la codificación de la información aferente “filtrada” a partir de la atención selectiva que, mediante contingencias espacio-temporales, conduce a la programación de respuestas motoras secuenciadas para la resolución mediata e inmediata de problemas emanados de la interacción del sujeto con su medio interno y externo. La capacidad de inhibir las interferencias internas o externas que podrían entorpecer la organización temporal de tales acciones o su ejecución, está incluida dentro de dichas funciones ejecutivas. Tanto la atención dirigida como la programación de la conducta en secuencias espacio-temporales, así como la capacidad de inhibición de interferencias adquieren relevancia en la última de dichas funciones ejecutivas: la memoria de corto plazo activa, conocida también como *memoria de trabajo*.

La memoria de trabajo es un proceso que mantiene y manipula temporalmente un ítem de información para la realización de tareas cognoscitivas tales como comprensión del lenguaje, lectura, pensamiento, etc (Baddeley, 1992; Baddeley and Hitch, 1974). Éste tipo de memoria consiste en la resolución de tareas en las que la información sensorial debe ser descodificada (atención dirigida) y recodificada (cambio cognoscitivo) para generar respuestas (contingencias sensorio-motoras) acordes a las demandas del ambiente del cual emergió la necesidad de evocar recuerdos recientes que requieren de la actualización de la información y de mantener estable el sentido de la respuesta (inhibición de interferencias). Así, la memoria de trabajo constituye la capacidad de resolver adecuadamente tareas específicas que demandan la actualización de información en el corto plazo (Baddeley, 2000). Este “almacén” de información posee una amplitud de retención temporal breve y su función es organizar y analizar la información. El ser humano es consciente de la información almacenada a corto plazo y permanece de 15 a 20 segundos aproximadamente; durante dicho lapso tal información es organizada e interpretada para, virtualmente, producir una huella mnésica más significativa (Doyère et al., 1993; Klein, 1994). Al parecer la memoria de corto plazo en los animales tiene una capacidad de almacenamiento y

duración mayor que en los humanos. Se ha reportado que la rata puede retener al menos quince unidades de información en su memoria de corto plazo y en esta, al igual que en algunos otros animales la duración puede ser de hasta cuatro horas (Klein, 1994).

A diferencia de la memoria de referencia -que depende para su organización funcional principalmente de la actividad del hipocampo (Schmitt, 2004)- la organización de la memoria de trabajo corre preponderantemente a cargo de las regiones más anteriores del lóbulo frontal del cerebro; esto es, de la corteza cerebral prefrontal (Fuster, 1997). Específicamente en primates incluido el hombre, la región prefrontal dorsolateral se ha demostrado que está involucrada en la organización temporal de la conducta, en tanto que en la rata la región análoga corresponde a la región prefrontal medial (Fuster, 1997).

Particularmente las neuronas piramidales de la capa III de dichas regiones prefrontales juegan un papel principal en la conformación funcional de lo que se ha denominado “campos de memoria”, que se activan durante la contingencia sensorio-motora implicada (Goldman-Rakic, 1999). Los campos de memoria son definidos como el disparo máximo de una neurona para la representación de un objeto blanco en un área determinada del campo visual. Se ha sugerido que cada neurona prefrontal quizás no guarde información de la secuencia total de un movimiento complejo durante el intervalo en cuestión, sino que posiblemente sí guarde información parcial del movimiento, como una posición blanco o un movimiento específico (Fuster 1991; Carlson et al, 1990; Goldman-Rakic, 1999). Concomitantemente, las neuronas involucradas en dichos campos de memoria se sincronizan en redes funcionales dinámicas en función de la naturaleza del recuerdo evocado y de la programación de la respuesta requerida (Goldman-Rakic, 1999).

La resolución de tareas que implican la puesta en marcha de la memoria se fundamentan en la utilización de estrategias basadas en la naturaleza de la información sensorial disponible. La estrategia allocéntrica está basada en la conformación de “mapas cognoscitivos” de acuerdo con los elementos contextuales del ambiente externo (Poucet, 1993). Tales mapas cognoscitivos son representaciones espaciales de un ambiente externo en el cual la información espacial adquirida puede ser organizada internamente para generar posibilidades de rutas entre el sujeto y diversos puntos del ambiente y entre estos mismos (Tolman, 1948). Por otra parte, aquella estrategia de naturaleza egocéntrica se basa en la emisión de respuestas motoras orientadas por el propio movimiento del sujeto; tanto con la estrategia allocéntrica como con la egocéntrica, el individuo debe ser capaz de estructurar un “mapa” del ambiente interno o externo, con base en el cual logre localizar un punto en el espacio. Ambas estrategias no son excluyentes y, aunque pueden ser competitivas en función de la información sensorial disponible, el resultado conductual bajo condiciones naturales surge de un proceso de cooperación entre ambas.

Los circuitos neurales que participan en la organización de dichos procesos cognoscitivos, son diferentes. El procesamiento de la información espacial allocéntrica involucra importantemente la actividad del hipocampo (Olton et al., 1978), en el cual confluye información sensorial especial multimodal procedente de diversas regiones de asociación sensorial neocorticales (Wyss, 1981). Tal información hipocampal es entonces enviada hacia la corteza cerebral prefrontal ventromedial (Jay et al., 1989).

La estrategia de tipo egocéntrica surge fundamentalmente de la activación de los receptores propioceptivos que envían la información desde el sistema músculo-esquelético hacia la corteza parietal principalmente (Conde et al., 1995; Kolb and Walkey, 1987; Kolb et al., 1994), de donde emergen fibras de asociación

cortical que se dirigen hacia la corteza cerebral prefrontal dorsomedial (Van Eden et al., 1992) (Figura 3).

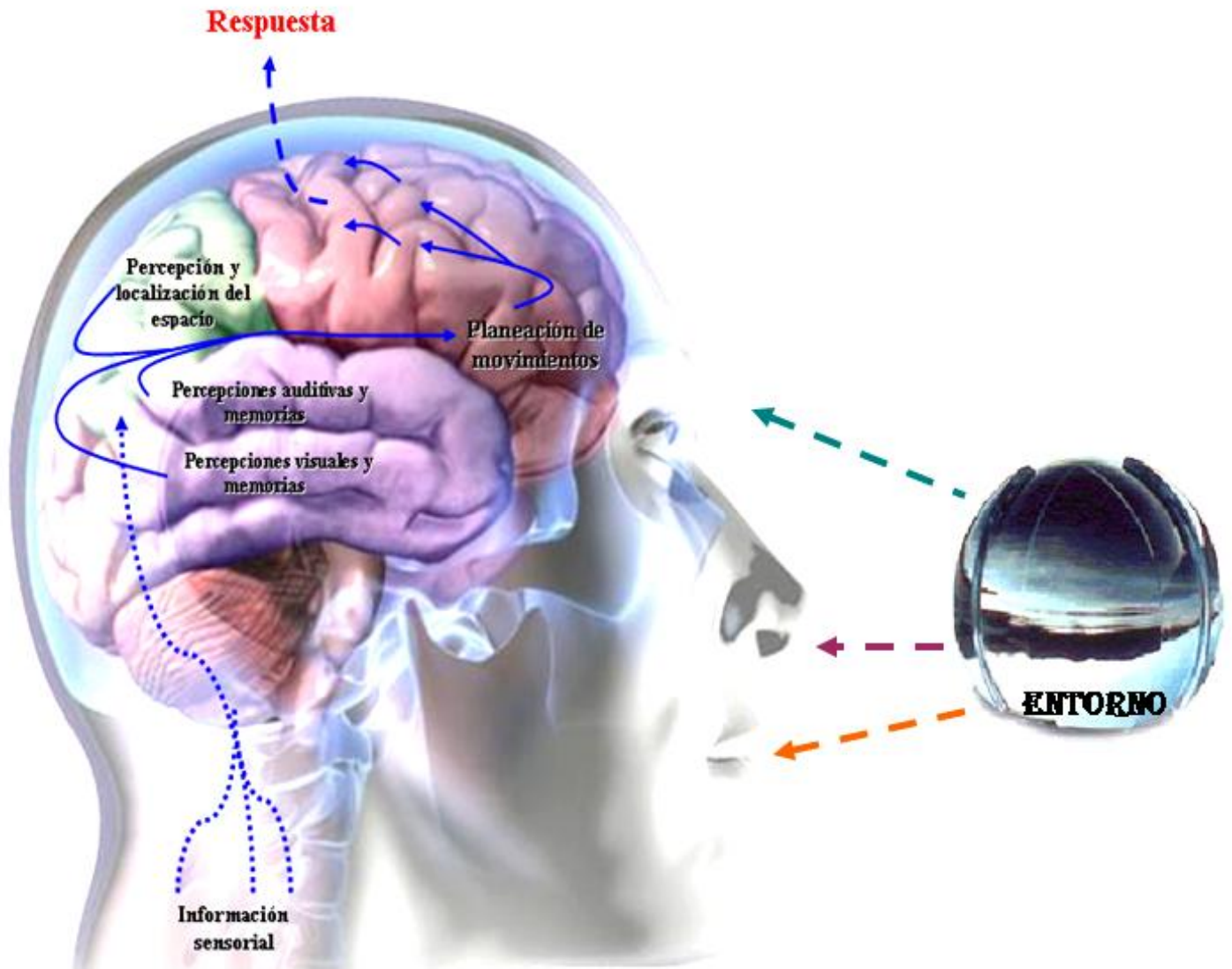


Figura 3. Circuitos neurales que participan en la organización de la estrategia egocéntrica (Modificada de: www.hybridmedicalanimation.com).

Con base en tales conexiones, se ha sugerido que la región dorsomedial de la corteza prefrontal de la rata, esté directamente relacionada con el sostenimiento de la información propioceptiva subyacente a la ejecución de tareas de memoria de trabajo egocéntrica (Ragozzino and Kesner, 2001)

Tanto en su modalidad allocéntrica como egocéntrica, la memoria de trabajo se enmarca en lo que se conoce como memoria declarativa o explícita. La memoria explícita es aquél tipo de memoria basada en la evocación intencionada de un recuerdo previo (Balota et al., 2000). Su eficiencia puede verse afectada como resultado de diversos cuadros neuropsicopatológicos y para evaluarla se utilizan pruebas neuropsicológicas y técnicas de imagenología cuyos resultados indican el grado de deterioro, el componente psiconeural afectado, así como la región cerebral y los circuitos neurales implicados. Al conocimiento de lo anterior han contribuido también los estudios experimentales en animales de laboratorio. Particularmente, la rata se ha utilizado ampliamente dada su tendencia natural para expresar conductualmente dichas cualidades, sustentada en circuitos neurales muy semejantes a los de los primates incluido el humano (Poucet and Benhamou, 1997).

Ciertas pruebas neuropsicológicas diseñadas para evaluar la funcionalidad de la memoria de trabajo en humanos requieren de la expresión verbal de las respuestas. Evidentemente, el estudio experimental de dicha cualidad en animales de laboratorio requiere del diseño de pruebas conductuales cuya resolución pongan de manifiesto la utilización explícita de estrategias objetiva y efectivamente mesurables. El diseño de tales pruebas conductuales, incluye un entorno ambiental que demande la implementación de estrategias específicas para la resolución de una tarea en un laberinto determinado. También es necesaria una etapa de habituación, que le permita al animal reducir al máximo el grado de estrés resultante de la exposición al ambiente novedoso. En términos generales, un proceso cognoscitivo que involucra retención de información conlleva una etapa de

entrenamiento o de *adquisición del aprendizaje*, que le permita identificar lo que se requiere que aprenda, una etapa de sostenimiento o *retención del aprendizaje*, en la que objetivamente se ponga en evidencia el grado de eficiencia conductual resultante del procesamiento de información, y; una etapa de verificación o *recuperación del aprendizaje* (Squire, 1986).

La expresión conductual de la memoria de trabajo requiere de la contingencia de información sensorial aferente a la corteza prefrontal y de la formación de secuencias espacio-temporales de acción; al tiempo comprendido entre ambos eventos psiconeurales se le denomina “período de retraso” (Bodner et al., 1997). Este período se considera que subyace en el disparo de neuronas corticales como parte del proceso mnésico de corto plazo en cuestión, lo cual ocurre en el orden de los milisegundos (Bodner et al., 1998).

La integración adecuada de la información contingente requiere de la actividad concertada de todas las sustancias presentes en el microambiente tisular, entre las que destacan los sistemas de neurotransmisores y los compuestos neuroactivos tales como las hormonas esteroideas.

En general, a la actividad de la acetilcolina (ACh) se le ha relacionado preponderante con la organización de diversos procesos cognoscitivos no sólo a nivel neocortical sino también en otras regiones como el hipocampo (Van der Zee and Luiten, 1999). Particularmente a nivel prefrontal, la ACh juega un papel importante en el mantenimiento del tono cortical conjuntamente con la serotonina (5-HT), mediante la liberación difusa de esta última por terminales libres (McEntee and Crook, 1991). En este mismo sentido, la actividad excitadora que la ACh ejerce sobre las neuronas piramidales de la capa III prefrontal es regulada por contactos serotoninérgicos presinápticos inhibitorios sobre terminales colinérgicas (Pazos and Palacios, 1985). Se ha demostrado experimentalmente que el abatimiento de 5-HT prefrontal produce una mayor eficiencia de la memoria de corto plazo (Pérez-

Vega et al., 2000) y que tal efecto está asociado a un incremento en la excitabilidad de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal (López-Vázquez et al., en preparación). A ello contribuiría el papel excitador que ejerce la 5-HT sobre la actividad de interneuronas GABAérgicas, las cuales inhiben a su vez a las neuronas piramidales de la capa III prefrontal (Zhou and Hablitz, 1999). Así, el abatimiento de 5-HT prefrontal se traduciría en un incremento de la excitabilidad de tales células piramidales, al menos en lo que a la participación de estas conexiones se refiere. Las neuronas piramidales en cuestión están afectadas por contactos excitatorios sobre sus abundantes espinas dendríticas. Dichos contactos excitatorios son mediados presinápticamente de manera predominante por fibras glutamatérgicas de asociación procedentes de regiones corticales sensoriales primarias y de asociación.

Se ha reportado que la dopamina (DA) juega un papel funcionalmente opuesto respecto a la actividad serotoninérgica en pruebas de memoria de trabajo espacial en humanos; el incremento de la actividad serotoninérgica disminuye la eficiencia conductual, en tanto que ésta aumenta ante el incremento de la actividad dopaminérgica (Luciana et al., 1998). Así mismo, la actividad dopaminérgica ha sido relacionada con el estado de atención (Nieoullon, 2002), un componente importante de todo proceso cognoscitivo que condiciona la eficiencia en la resolución de tareas mnésicas. Por su parte, la actividad de la norepinefrina (NE) se ha visto asociada con la facilitación para el procesamiento de información relevante; se ha postulado que esto ocurre mediante la modulación del inicio y sostenimiento de la actividad neuronal apropiadas para la entrada y la organización de la información sensorial aferente a las regiones telencefálicas –como la corteza prefrontal- involucradas en la organización de procesos cognoscitivos (Berridge and Waterhouse, 2003) -como la memoria de trabajo-.

Entre los años 1920 y 1930, se caracterizó la estructura cristalina de las hormonas gonadales activas tales como el estradiol –estrógeno-, la progesterona –

progestágeno- y la testosterona –andrógeno- (Butenandt, 1929; Corner and Allen, 1933; Doisy et al., 1929; Doisy et al., 1930). Los andrógenos, estrógenos y progestágenos son derivadas del colesterol y ejercen diversos efectos sobre el desarrollo y la maduración sexual tanto en el macho como en la hembra (Loose-Mitchell and Stancel, 2001; Snyder, 2001). Asimismo, actúan como moduladores de la diferenciación y el desarrollo cerebral y, particularmente en la etapa adulta, los estrógenos -principalmente el estradiol- participan en la regulación de diversos fenómenos relacionados con la plasticidad sináptica, como neuroprotectores al daño celular y como moduladores de la expresión del estado de ánimo y de diversas cualidades cognoscitivas (García-Segura et al., 1994; García-Segura et al., 1999; Mellon et al., 2001; Österlund and Hurd, 2001; Veiga et al., 2004).

Los esteroides que son formados en el cerebro a partir del colesterol se les ha denominado “neurosteroides” (Baulieu, 1998). Se denominan “esteroides neuroactivos” a aquellas hormonas esteroideas que son sintetizadas en órganos periféricos –principalmente en las gónadas- y tienen la capacidad de afectar la funcionalidad del tejido nervioso. Por su parte, los “neuroesteroides” son también hormonas esteroideas sintetizadas por el propio tejido nervioso. De hecho, las características bioquímicas de los esteroides neuroactivos y los neuroesteroides es la misma (Veiga et al., 2004).

Los receptores a estrógenos se localizan en el citoplasma de la célula y pertenecen a una superfamilia de factores transcripcionales nucleares que se unen a secuencias específicas de determinados genes y modifican la transcripción de los mismos (Mellon et al., 2001). Se han identificado dos tipos de receptores a estrógenos: el ER α y más recientemente, el ER β . A pesar de que ambos receptores se unen al mismo tipo de ligando y presentan propiedades de enlace similares, su distribución tisular difiere aunque no de manera exclusiva (Loose-Mitchell and Stancel, 2001). El receptor ER α se localiza predominantemente en el aparato reproductor femenino –útero, vagina y ovario-, en glándulas mamarias, en células

endoteliales, en la musculatura lisa vascular, así como en zonas cerebrales límbicas como la amígdala y en aquellas relacionadas con la regulación neuroendocrina de la reproducción, tales como el hipotálamo. Por su parte, el receptor β a estrógenos predomina en la próstata, los ovarios, los pulmones, la vasculatura y algunas regiones cerebrales (Loose-Mitchell and Stancel, 2001). La distribución de los receptores a estrógenos en regiones cerebrales implicadas en la organización de funciones cognitivas ha sido ampliamente estudiada. En un estudio donde se analizó la inmunorreactividad (IR) de los receptores a estrógenos, se observó que ER α y ER β se distribuyen en la mayoría de las áreas corticales, exclusivamente en neuronas; tal distribución fue similar en hembras y machos (Kritzer, 2002). Los receptores a estrógenos (ER α y ER β) están presentes en la corteza, el hipocampo y la amígdala de monos (Blurton-Jones et al., 1999; Gundlah et al., 2000), humanos (Österlund et al., 2000) y ratas (Shughrue and Merchenthaler, 2000), y se ha mostrado que su acción es capaz de alterar la morfología y la fisiología de estas áreas (Hao et al., 2003; Leranth et al., 2002; Tanapat et al., 1999; Tang et al., 2004; Woolley, 1999). ER α predomina en el hipotálamo y la amígdala; por tanto, puede modular las poblaciones neuronales involucradas en funciones autonómicas y reproductivas neuroendocrinas así como la interpretación y el procesamiento emocional (Österlund and Hurd, 2001). Por su parte, ER β predomina en la corteza entorrinal, el tálamo y la formación hipocámpal lo que sugiere su papel en la cognición, en la memoria no emocional y en funciones motoras (Österlund and Hurd, 2001).

La distribución regional de ambos receptores en la corteza cerebral es similar; sin embargo, se distribuyen diferencialmente en las seis capas que la conforman, tanto en el humano como en la rata. Así, la localización de ambos receptores a estrógenos en regiones como la corteza cerebral y el hipocampo es lo que ha sugerido la realización de estudios para evaluar su participación en la modulación de diversos procesos cognitivos (Österlund and Hurd, 2001; Sherwin, 2003).

Se han descrito dos mecanismos generales por los cuales los estrógenos ejercen sus efectos en diversos tejidos. Dichos mecanismos son llamados genómicos y no genómicos (Figura 4).

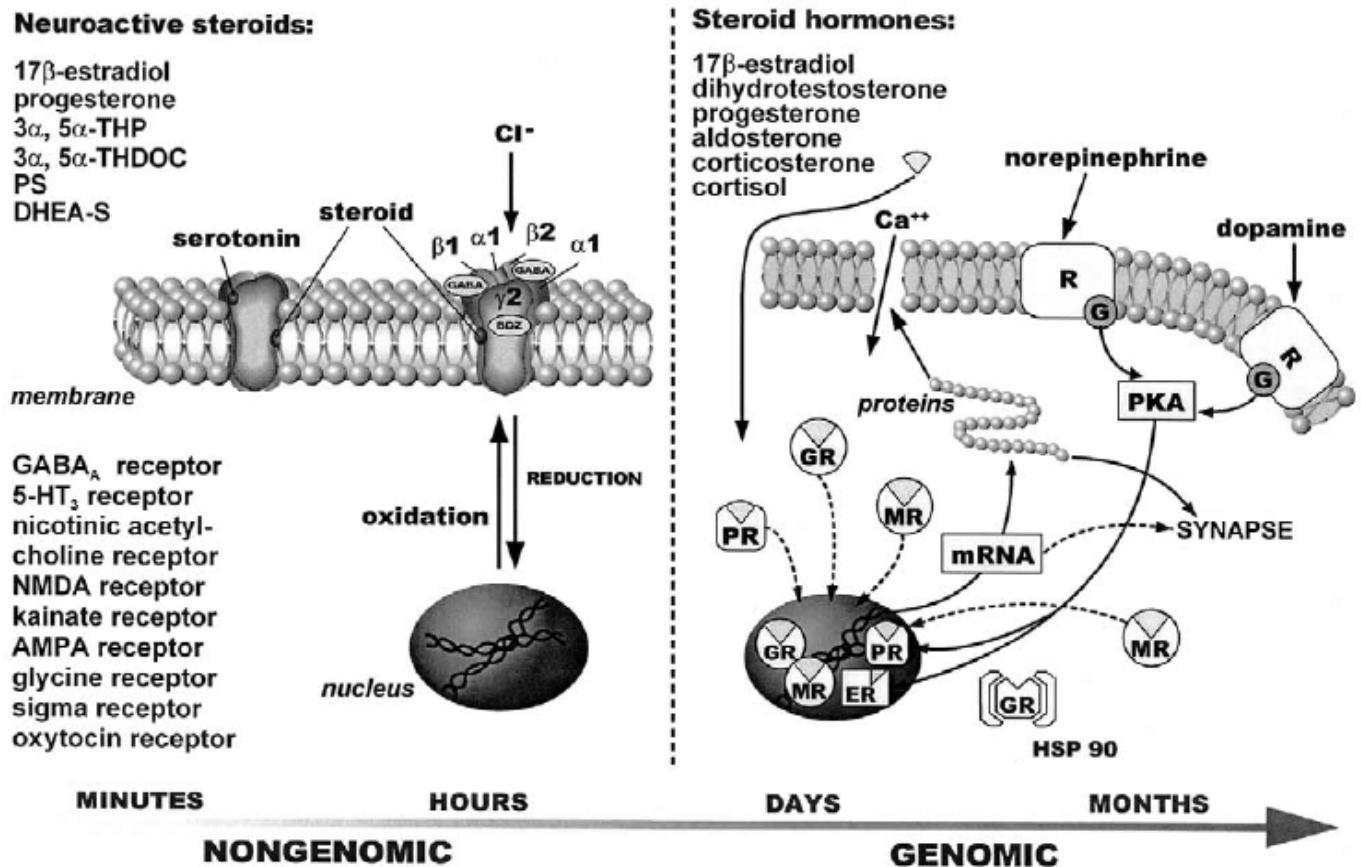


Figura 4. Efectos genómicos y no genómicos de los esteroides neuroactivos. Abreviaciones: BDZ, benzodiazepinas; R, receptor; G, proteína G; PKA, proteincinasa A; HSP 90, proteína de choque térmico 90; GR, receptor glucocorticoide; MR, receptor mineralocorticoide; PR, receptor a progesterona; ER, receptor a estrógenos. (Tomado de: Rupprecht and Holsboer, 1999).

Los efectos estrogénicos clásicos corresponden a aquellos que son mediados por sus receptores nucleares específicos y que desencadenan respuestas

transcripcionales a nivel genómico. Sin embargo, los estrógenos también pueden actuar a través de sitios receptores membranales e incluso, a través de sitios alostéricos de moléculas de membrana asociadas a la neurotransmisión. Estos últimos mecanismos suponen la activación de respuestas no transcripcionales y por ende, la traducción más rápida de sus efectos (Veiga et al., 2004). Se ha reportado que algunos esteroides pueden alterar la excitabilidad neuronal vía la superficie celular a través de la interacción con receptores a neurotransmisores específicos (Majewska et al., 1986; Paul and Purdy, 1992; Lambert et al., 1995; Rupprecht, 1997). La acción de los esteroides en el genoma requiere un periodo relativamente prolongado y está limitado por la velocidad de biosíntesis de la proteína. Por su parte, los efectos moduladores no genómicos de los esteroides neuroactivos ocurren durante una ventana de tiempo de milisegundos a horas (McEwen, 1991a; Rupprecht and Holsboer, 1999) (Figura 4).

Así los efectos genómicos y no genómicos de los esteroides dentro del sistema nervioso central (SNC) proveen las bases moleculares para un amplio espectro de acción de los esteroides sobre la función neuronal y la neuroplasticidad (Rupprecht and Holsboer, 1999).

Los neuroesteroides son sintetizados tanto por neuronas como por células gliales y particularmente, por astrocitos (García-Segura et al., 1999; Veiga et al., 2004). La cascada enzimática involucrada en su síntesis incluye aquellas enzimas que participan en la transformación de esteroides de origen periférico en metabolitos esteroideos neuroactivos (Figura 5).

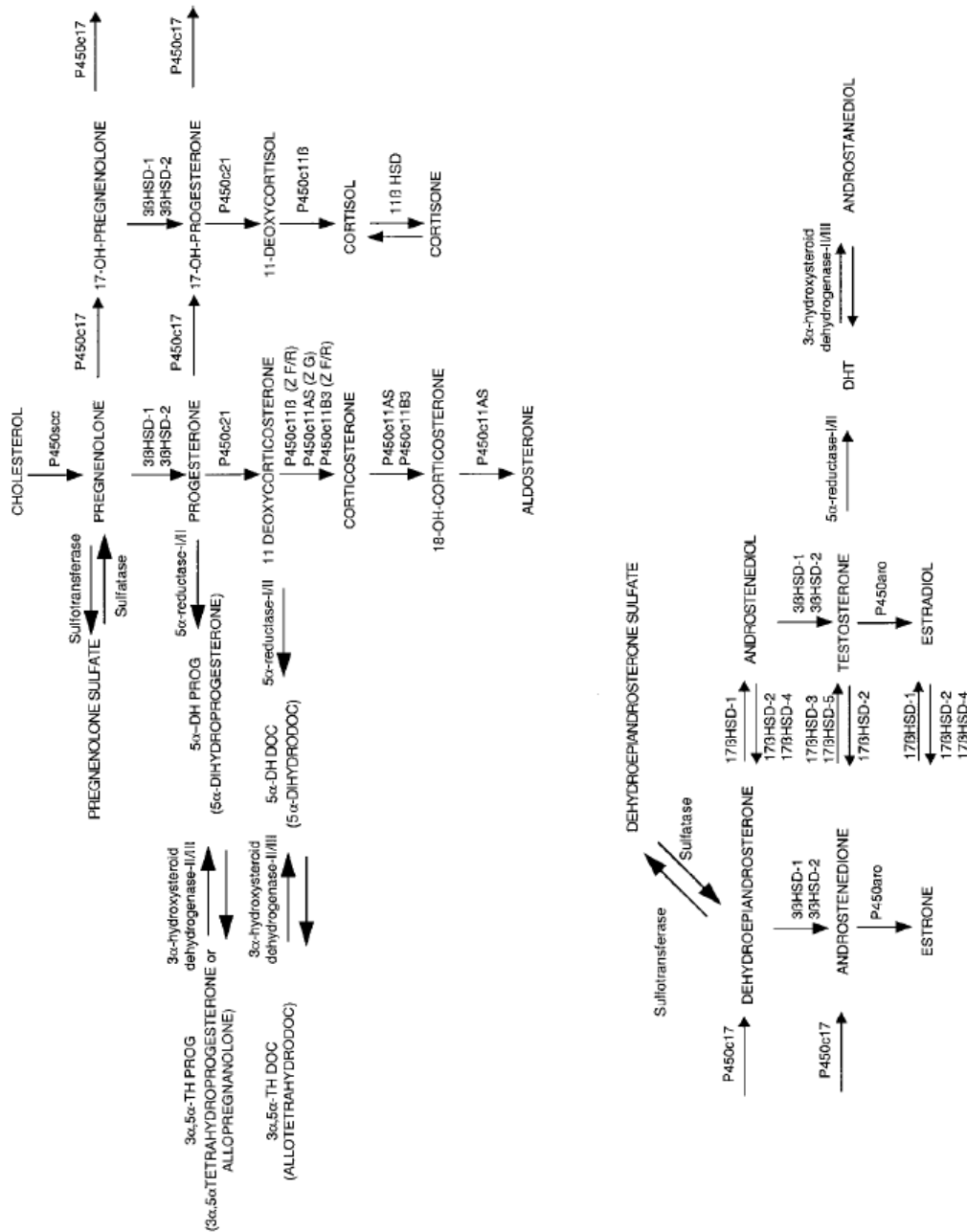


Figura 5. Vía de la neurosteroidogénesis. Vía propuesta para la biosíntesis de neurosteroides en el sistema nervioso. Los nombres para cada enzima se muestran en cada reacción. P450_{sc}: enzima ancladora de la cadena lateral del colesterol mitocondrial; media la 20 α -hidroxilación, la 22-hidroxilación y la escisión del enlace c20–22. La 3 β -HSD una enzima no-P450 une al retículo endoplásmico mediando las actividades de la 3 β -hidroxisteroide dehidrogenasa y la isomerasa Δ^5 – Δ^4 . La P450_{c11 β} es una 11-hidroxi-lasa mitocondrial que media la 11-hidroxilación. La P450_{c11AS} es la aldosterona sintasa mitocondrial que media la c11,18- hidroxilación and 18-oxidación. ZF/R y ZG se refieren a la zona adrenal fasciculada/reticularis o zona glomerulosa, que expresa el gen particular P450_{c11}. La 17 β -HSD (también llamada 17-cetosteroide reductasa o 17 KSR) media la c17β reducción o la c17 oxidación. La presencia de la proteína y/o RNAm de P450_{sc}, 3 β -HSD, P450_{c11 β} , P450_{c11AS}, 17 β -HSD, 5 α -reductasa, 3 α -hidroxisteroide reductasa (3 α -HSD) se ha demostrado en el cerebro. La conversión de PREG a DHEA se ha demostrado en el SNC y el SNP de embriones pero no en el sistema nervioso de adultos. La actividad 21-hidroxilante se ha demostrado pero puede no ser debida a P450_{c21}. La síntesis de sulfatos esteroides pero derivados lipoidales de esteroides se han encontrado en el cerebro. (Tomado de: Compagnone and Mellon, 2000).

La aromatasa (P450arom, P450aro o estrógeno sintetasa) es una enzima microsomal. Es miembro de la superfamilia de citocromo P450 que es un complejo enzimático que contiene hemoproteínas. La aromatasa cataliza el paso limitante en la producción de estrógenos; es decir, la conversión de androstenediona y testosterona vía tres pasos de hidroxilación a estrona y estradiol, respectivamente (Cole and Robinson, 1990; Akhtar et al., 1993). Así, la testosterona es transformada en estradiol mediante la actividad enzimática de la aromatasa, a nivel de las crestas mitocondriales (Veiga et al., 2004) (Figura 6).

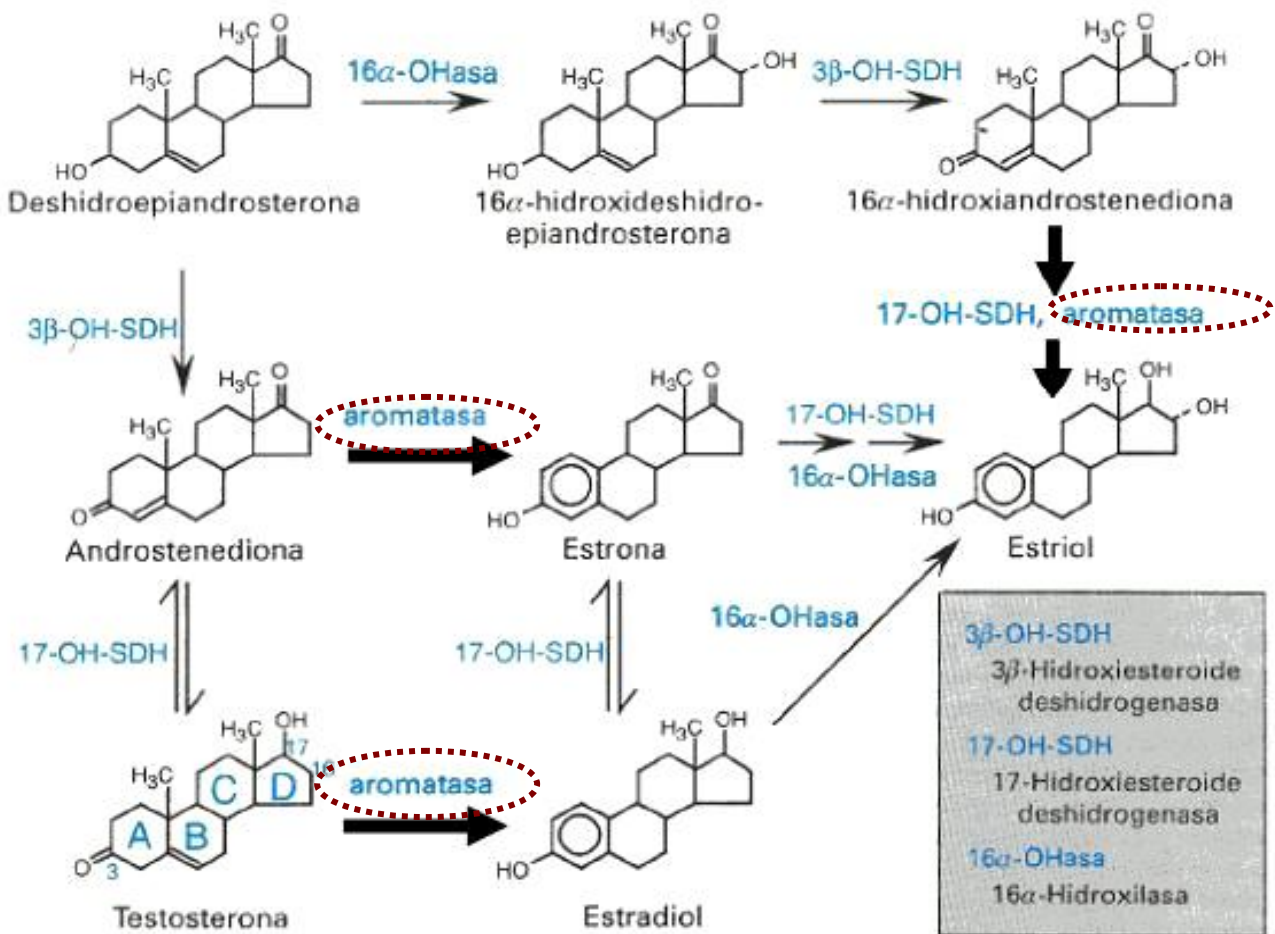


Figura 6. Síntesis de estrógenos (estradiol, estrona y estriol) a partir de precursores androgénicos (androstenediona, 16 α -hidroxiandrostenediona y testosterona). Los círculos discontinuos muestran la participación de la aromatasa en la síntesis de estrógenos (Modificado de: Goodman and Gilman's, 2001).

En los vertebrados adultos (roedores, primates y anfibios), la distribución regional de las enzimas esteroidogénicas cerebrales es amplia y abarca la corteza cerebral, el hipocampo, los ganglios basales, el hipotálamo, el tálamo y el cerebelo; se extiende a varias regiones del tallo cerebral hasta alcanzar inclusive la médula espinal (Mellon et al., 2001) (Figura 7).

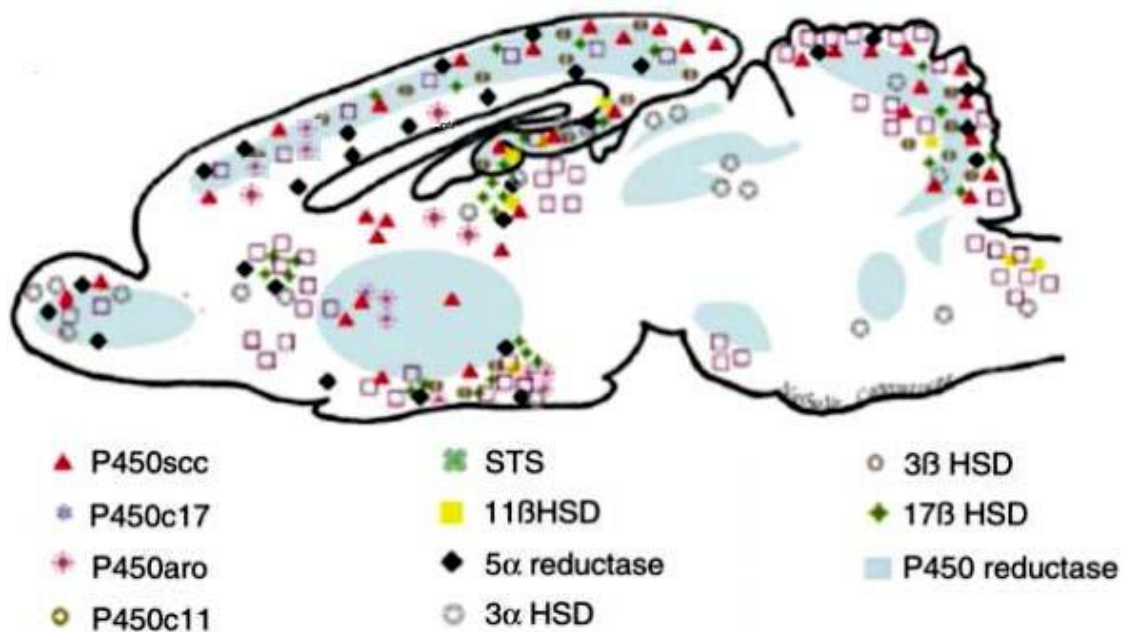


Figura 7. Representación de un cerebro adulto que muestra la expresión regional de las enzimas involucradas en la neuroesteroidogénesis. Los datos son de varias especies incluyendo roedores, primates y anfibios. Las localizaciones de las enzimas en varias regiones del cerebro son solamente un aproximado; la mayoría de las enzimas no han sido co-localizadas con otras (Tomado de: Mellon et al., 2001). Nota: para el significado de las abreviaciones referirse a la figura 5.

En humanos se ha reportado actividad de la aromatasa en la corteza temporal y frontal, así como en la sustancia blanca subcortical e hipocampo (Stoffel-Wagner et al., 1999).

Bajo condiciones normales, se ha demostrado que las neuronas son las principales productoras de estradiol SNC, en tanto que ante la presencia de una lesión al tejido, la síntesis de estradiol por parte de células astrocíticas se incrementa significativamente. Este dato sugiere que los estrógenos cerebrales participan en procesos de daño y posiblemente de recuperación tisular (García-Segura et al., 1999), así como en la recuperación de funciones cognitivas alteradas en mujeres postmenopáusicas (Duff and Hampson, 2000; Keenan et al., 2001). El tratamiento con estradiol en mujeres post-menopáusicas produce una mejora en la capacidad de inhibir interferencias concomitantemente a la resolución más eficiente de tareas de memoria de trabajo (Keenan et al., 2001) y, particularmente aquellas relacionadas con estrategias alocéntricas (Duff and Hampson, 2000). En este sentido, se ha propuesto que además del hipocampo, la corteza cerebral prefrontal es un sitio blanco importante para la actividad estrogénica en el cerebro de mujeres adultas, con base en la evidencia de que la concentración prefrontal de estrógenos es dos veces mayor a la de la corteza temporal y siete veces mayor a la que se encuentra en el hipocampo (Bixo et al., 1995).

Los hallazgos en mujeres postmenopáusicas son congruentes con estudios experimentales realizados en ratas ovariectomizadas. La administración de estradiol posterior a la ovariectomía produjo la restauración de las funciones mnésicas relacionadas con la actualización de la información, esto es, de la memoria de trabajo, pero no así con las relacionadas con la memoria de referencia (Daniel et al., 1999; Fader et al., 1999; Luine et al., 1998). Se ha observado que el estradiol tiene efecto benéfico en ratones ovariectomizados cuando ejecutan una tarea de memoria de trabajo no espacial de reconocimiento de objetos (Li et al.,

2004). Estos hallazgos se han visto asociados a la actividad colinérgica; en ratas ovariectomizadas sometidas a un paradigma espacial tanto en el laberinto radial como en el laberinto en T, la administración subcutánea de estradiol previno el efecto amnésico inducido por el bloqueo tanto sistémico como intrahipocampal del receptor muscarínico de acetilcolina (Fader et al., 1998; Fader et al., 1999). Se ha reportado que la región del septum medial está involucrada en la organización de la memoria de trabajo pero no en la memoria de referencia (Givens and Olton, 1995), lo que resulta congruente con reportes de que la lesión del área septal produce deterioro sólo en el desempeño de este tipo de tareas (Shen et al., 1996). Lo anterior podría estar relacionado con la particular densidad de receptores a estrógenos presentes en las neuronas colinérgicas de la banda diagonal de Broca y de la región septal medial que inervan al hipocampo, el cual a su vez está relacionado con la organización de la información espacial (Fader et al., 1999). A pesar de que la corteza prefrontal no está directamente involucrada en la organización de la memoria espacial, el componente de corto plazo activo implicado en la resolución de tareas espaciales sugiere fuertemente su participación. De hecho, existe evidencia de que las conexiones entre el hipocampo y la corteza prefrontal sustentan la organización de la información tanto espacial como no espacial (Chiba et al., 1994; Floresco et al., 1997; Lee and Kesner, 2003), necesarias para la resolución de tareas de memoria de trabajo.

La concentración de norepinefrina, dopamina y serotonina prefrontales se ve reducida tras un mes de la pérdida de la función gonadal inducida por ovariectomía y bajo el efecto continuo de los estrógenos administrados subcutáneamente; concomitantemente a un mejor desempeño en pruebas de memoria de trabajo espacial (Luine et al., 1998). En este mismo sentido, se ha reportado que un pulso de estradiol aplicado a ratas ovariectomizadas induce un aumento en la densidad de receptores 2A de serotonina en la corteza prefrontal, por lo que se ha sugerido que los estrógenos también modulan la actividad del sistema serotoninérgico, al menos a través de dicho receptor (Sumner and Fink,

1995). Asimismo, en la corteza prefrontal de ratas o de monas ovariectomizadas se ha observado una reducción significativa de inmunoreactividad a colina acetiltransferasa y a tirosina hidroxilasa, así como un incremento de axones inmunoreactivos a dopamina β -hidroxilasa (Gibbs et al., 1994; Kritzer and Kohama, 1998; Kritzer and Kohama, 1999); esto último estaría en relación con la mejora en la memoria de trabajo observada en humanos tras la aplicación de bromocriptina, agonista del receptor 2 de dopamina (Luciana et al., 1991). Tales efectos fueron revertidos tras el tratamiento con estrógenos, lo que sugiere que éstos actúan como moduladores de los sistemas colinérgico, noradrenérgico, serotoninérgico y dopaminérgico, que a su vez participan en la regulación de la información excitadora aferente a la corteza cerebral prefrontal (Luciana et al., 1991).

La actividad de los neurotransmisores es capaz de modificar las características citoarquitectónicas de las espinas dendríticas (González-Burgos et al., 2005; Isokawa, 2000; Pérez-Vega et al., 2000), al igual que por la actividad estrogénica durante el ciclo estral de ratas (González-Burgos et al., 2005; Woolley et al., 1990). Tales hallazgos se asocian a un desempeño conductual diferencial en pruebas que evalúan la memoria espacial, que depende de la función hipocampal (Warren and Juraska, 1997). Así mismo, en animales ovariectomizados se ha observado una disminución en la densidad de espinas dendríticas de neuronas hipocampales (Gould et al., 1990), acompañada de un deterioro cognoscitivo dependiente de la funcionalidad del hipocampo (Bimonte and Denenberg, 1999). Ambos parámetros, sin embargo, se restablecen tras la restitución de la actividad estrogénica (Bimonte and Denenberg, 1999). Más aún, la facilitación de la actividad del estradiol inducida por la administración experimental de testosterona (precursor inmediato de la síntesis de estradiol) en ratas macho viejas mejora la memoria de trabajo espacial (Bimonte-Nelson et al., 2003), lo que podría estar sustentado por el incremento en la densidad de sinápsis sobre espinas dendríticas en el campo CA1 hipocampal observada en ratas ovariectomizadas y tratadas con

testosterona, efecto que se ve así mismo prevenido por el tratamiento con letrozol (Leranth et al., 2004), un inhibidor de la aromatasa (Bossche et al., 1994).

El letrozol pertenece al grupo de inhibidores de la aromatasa no esteroideos (fadrozol, vorazol, anastrozol y letrozol) (Bossche et al., 1994). Es un fármaco derivado de los triazoles; es inhibidor competitivo, potente, selectivo, específico y reversible de la actividad de la aromatasa (Bhatnagar et al., 1990). La dosis de 1 a 5 mg/día en humanos inhibe la concentración de estrógenos en un 97 – 99% (Mitwally and Casper, 2004). La alta afinidad de éstos inhibidores de la aromatasa reside en el nitrógeno N-4 del anillo triazólico que se coordina con el átomo de hierro del complejo hemo de la aromatasa. Éstos inhibidores se absorben completamente después de la administración oral. Son aclarados de la circulación sistémica principalmente por el hígado (DEF, 2000).

Se ha reportado que la administración sistémica de letrozol produce disminución de la concentración plasmática de estradiol, tanto en humanos (Trunet et al., 1993; DEF, 2000) como en roedores (Choate and Resko, 1996; DEF, 2000). En concordancia con lo anterior, la administración sistémica de inhibidores de la aromatasa tales como el letrozol provoca disminución de la producción de estrógenos en diversos tejidos periféricos y en ovarios (Bhatnagar et al., 1990; Mitwally and Casper, 2004; Reddy, 2004). Sin embargo, en un estudio realizado en cobayos macho castrados que recibieron tratamiento sistémico con letrozol por una semana mediante implante subcutáneo, se observó un aumento en la actividad de la aromatasa cerebral, concomitantemente con un incremento en la concentración de estradiol cerebral (Choate and Resko, 1996; Saleh et al., 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La memoria de trabajo es una cualidad psiconeural organizada preponderantemente por la corteza cerebral prefrontal y es modulada mediante la acción de diversos sistemas de neurotransmisión y por esteroides neuroactivos de origen gonadal, así como por neuroesteroides. La actividad enzimática de la aromatasa media la conversión de testosterona a estradiol, tanto en tejidos periféricos como en el cerebro. La actividad de los esteroides neuroactivos y de los neuroesteroides produce una mejora en el desempeño de la memoria de trabajo. Sin embargo, se ha reportado que la inhibición periférica de la aromatasa produce incremento de la concentración cerebral de estradiol y se desconoce si lo anterior afecta el desempeño de la memoria de trabajo.

HIPÓTESIS

La inhibición de la síntesis de estradiol induce un mejor desempeño de la memoria de trabajo, en ratas macho.

OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar el papel que desempeña el estradiol en la expresión conductual de la memoria de trabajo, en ratas macho.

Objetivos particulares

Luego de la administración sistémica de letrozol, un inhibidor no esteroideo de la aromatasa,

1. Determinar las concentraciones plasmáticas de estradiol.
2. Cuantificar la eficiencia conductual en la resolución de una tarea de memoria de trabajo egocéntrica en la etapa de:
 - a) adquisición de la información.
 - b) retención de la información.
 - c) recuperación de de la información.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de dos a tres meses de edad, las cuales fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio durante todo el estudio y bajo ciclos de luz–obscuridad de 12 x 12 h (07:00 – 19:00 h). A cada animal se le restringió la disponibilidad de alimento de manera que su peso corporal disminuyera en un 15%. A partir de tal disminución, el peso corporal resultante fue mantenido hasta el final del estudio.

La muestra biológica total fue de cincuenta y seis animales, mismos que se asignaron a siete grupos de estudio. Un grupo testigo intacto (T; n = 8), tres grupos de animales experimentales (E1, E2 y E3; n = 8 / grupo) y tres grupos de animales control, correspondientes a cada grupo experimental (C1, C2 y C3; n = 8 / grupo).

El grupo testigo intacto, no recibió ningún tratamiento farmacológico; en tanto que a los tres grupos de animales experimentales (E1, E2 y E3) les fue administrada una dosis de 2.5 mg/kg de letrozol (Femara[®]; Novartis) mediante intubación gástrica (Tabla 1).

La preparación de la solución de letrozol se llevó a cabo como sigue: se procedió a pulverizar finamente en un mortero de porcelana, una gragea de Femara[®] de 2.5 mg. Posteriormente se aforó con agua tridestilada y desmineralizada (solución vehículo) a 2.5 ml. Es así como la concentración final de la solución fue de 1 mg/ml.

A los grupos control (C1, C2 y C3) les fue administrada una dosis equivalente en volumen, de solución vehículo (agua tridestilada y desmineralizada) por intubación gástrica (Tabla 1).

A los animales de los grupos E1 y C1, se les administró la solución de letrozol o vehículo respectivamente, durante la etapa de adquisición. De la misma manera, a aquellos animales del grupo E2 y C2 se les administró letrozol o solución vehículo respectivamente, durante la etapa de retención; en tanto que a los animales del grupo E3 y C3 se les administró letrozol ó vehículo respectivamente, únicamente durante la etapa de recuperación. Los tratamientos farmacológicos y sus controles respectivos, se llevaron a cabo al término de las etapas conductuales precedentes (Tabla 1).

Tabla 1. Grupos utilizados en el presente estudio y esquema de administración.

ETAPA	T	C1	E1	C2	E2	C3	E3
<i>Adquisición</i>	+	+; V	+; L	+	+	+	+
<i>Retención</i>	+	-	-	+; V	+; L	+	+
<i>Recuperación</i>	+	-	-	-	-	+; V	+; L

T: grupo testigo.

C1-C3: grupos control.

E1-E3: grupos experimentales.

V: administración de solución vehículo.

L: administración de letrozol.

+ : etapa evaluada.

- : etapa no evaluada.

Los tratamientos farmacológicos correspondientes fueron administrados en dosis matutina única por día y durante todos los días que duró la prueba conductual. El letrozol se administró una hora antes del inicio de la prueba a fin de permitir el pico máximo de su concentración plasmática (Lamb and Adkins, 1998; Sioufi et al., 1997; Goodman and Gilman's, 2001; DEF, 2000). Excepto aquellos del grupo T, los animales fueron ligeramente anestesiados en una atmósfera de éter etílico anhidro, con el objetivo de facilitar la administración por intubación gástrica de la solución.

La administración sistémica de letrozol produce disminución de la concentración plasmática de estradiol (Choate and Resko, 1996; Trunet et al., 1993; DEF, 2000). De acuerdo con lo anterior, se realizaron experimentos piloto en un grupo de animales intactos (sin tratamiento), otro grupo que recibió solución vehículo, y; un tercer grupo tratado con letrozol. En dichos animales se midió la concentración plasmática de estradiol tras cinco días del tratamiento correspondiente. Al término de los cinco días, los animales fueron decapitados y se recolectaron de 4 a 5 ml de sangre sin anticoagulante misma que se utilizó para determinar la concentración plasmática de estradiol. Tal determinación se llevó a cabo en un equipo automatizado Elecsys 2010, por el método de electroquimioluminiscencia (ECL). El método de ECL es un ensayo altamente sensible en el cual se generan especies reactivas a partir de precursores estables en la superficie de un electrodo de platino por medio de una reacción de oxidación. Para que la reacción de oxidación tenga lugar en la superficie del electrodo de platino se adiciona un marcador de rutenio II tris(bipiridil) ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) cuyos grupos bipiridil tienen alta afinidad por compuestos orgánicos de peso molecular diverso. Cuando se aplica una diferencia de voltaje en dicho electrodo, ocurre la reacción de oxidación entre el rutenio y la tripropilamina. Una vez que la reacción sucede, hay un cambio de coloración que es proporcional a la concentración del compuesto analizado. Finalmente, dicha coloración es detectada por un fotomultiplicador (Blackburn, et al, 1991; Bolton, et al, 2001; www.a14.san).

PRUEBAS CONDUCTUALES

DISPOSITIVO DE PRUEBA (LABERINTO)

Para la evaluación de la memoria de trabajo egocéntrica se utilizó un laberinto en forma de cruz elevado 80 cm del piso. El laberinto es de material acrílico blanco brillante y consta de cuatro brazos ortogonales unidos por su parte media formando un compartimento central. Las paredes de los brazos miden 40 cm de altura. Cada brazo tiene una longitud de 50 cm y una anchura de 10 cm. Al

final de cada uno de los brazos se sitúa un compartimiento deslizante de 4.5 x 4.5 cm. Dicho compartimiento está a desnivel del piso del brazo con la finalidad de que el animal no visualice su contenido –fragmento de reforzador (cereal Froot Loops® de Kellog)-. El “cuadro central” del laberinto fue cerrado total o parcialmente, según se requería en el transcurso de la prueba, mediante cuatro puertas corredizas (Figura 8).

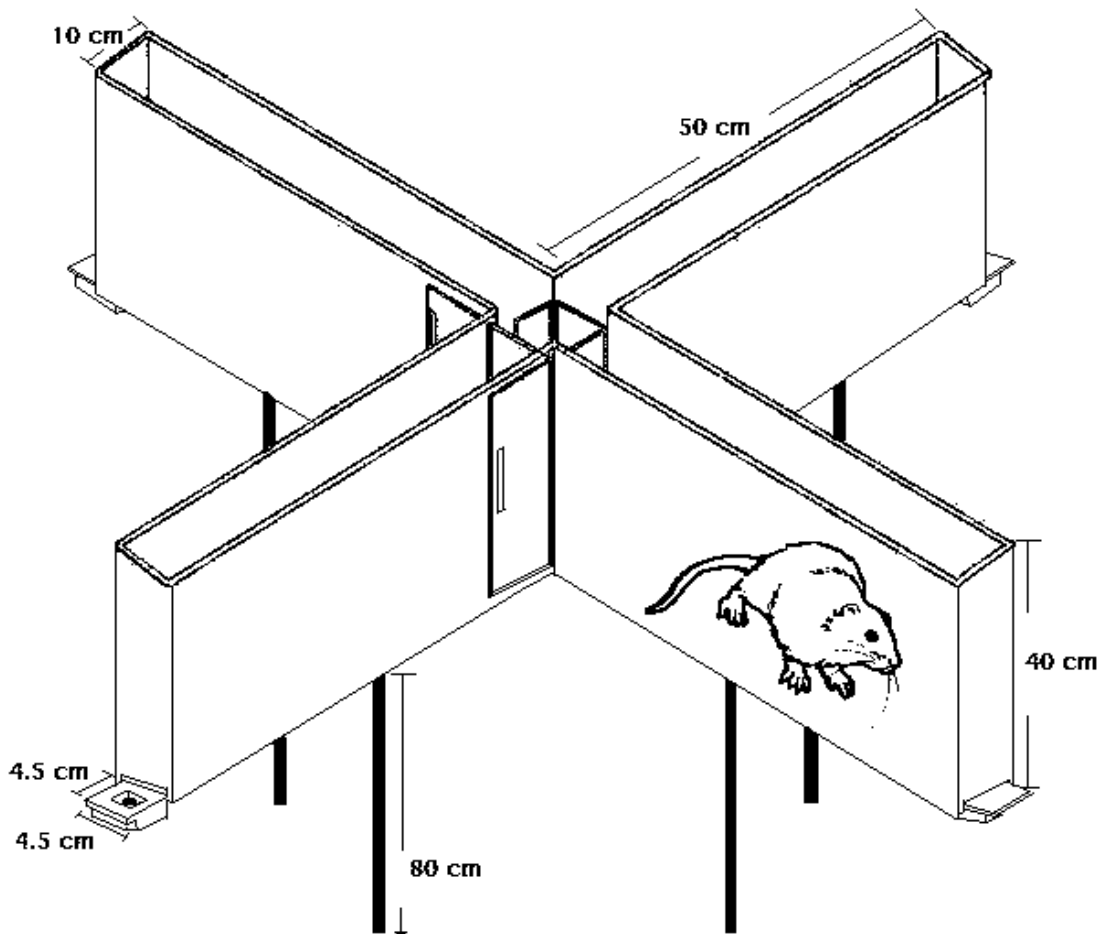


Figura 8. Esquema del laberinto en cruz utilizado en el presente estudio, que muestra sus dimensiones geométricas.

El cuarto de experimentación fue forrado de tela blanca, para evitar la orientación espacial con base en la utilización de señales externas. Durante la

realización de la prueba no hubo contacto visual entre el observador y el sujeto experimental; la observación de los movimientos y trayectorias del animal fue a través de un sistema de circuito cerrado de televisión. Desde el primer día de pruebas conductuales, que comprendieron la etapa de habituación y la etapa de adquisición, se colocaron algunos trozos de reforzador en la tapa metálica de la jaula de mantenimiento de los animales, a fin de que lo identificaran como “alimento”.

ETAPA DE HABITUACIÓN

Durante dos días consecutivos se colocó al animal en el centro del laberinto con acceso libre a los cuatro brazos del mismo en los cuales, al igual que en el compartimiento deslizante ubicado al final de cada brazo, se encontraron disponibles fragmentos de reforzador. Cada sesión tuvo una duración de 15-20 minutos continuos (dependiendo del grado de actividad exploratoria), durante los cuales el animal debió ingerir todo el reforzador colocado. Aquellos animales que no cumplieron tal condición, fueron sustituidos por otros para la conformación de la muestra final.

EVALUACION CONDUCTUAL

La evaluación de la memoria de trabajo egocéntrica se realizó mediante el estudio sucesivo de tres etapas de procesamiento de información: una etapa de adquisición, otra de retención y una última etapa de recuperación. Con base en que las ratas adultas expresan entre un 65 y el 75% de capacidad de alternancia espontánea o inducida, bajo condiciones normales; las etapas de adquisición, retención y recuperación para la memoria de trabajo egocéntrica fueron evaluadas, durante cinco días consecutivos para cada etapa. Tal porcentaje se expresa como una cualidad natural que es sostenida consistentemente (Ragozzino and Kesner, 2001; Rodriguez and Afonso, 1993).

Etapa de Adquisición

La evaluación de la adquisición de información consistió de doce ensayos diarios practicados durante cinco días o sesiones consecutivas. En seis de los ensayos de cada sesión y por inducción del experimentador, el animal se dirigió al lado derecho y en los otros seis al lado izquierdo (*ensayos de muestra*); la asignación del sentido del giro fue “al azar” para cada ensayo de muestra y al final del brazo siempre estuvo disponible el reforzador (Figura 9).

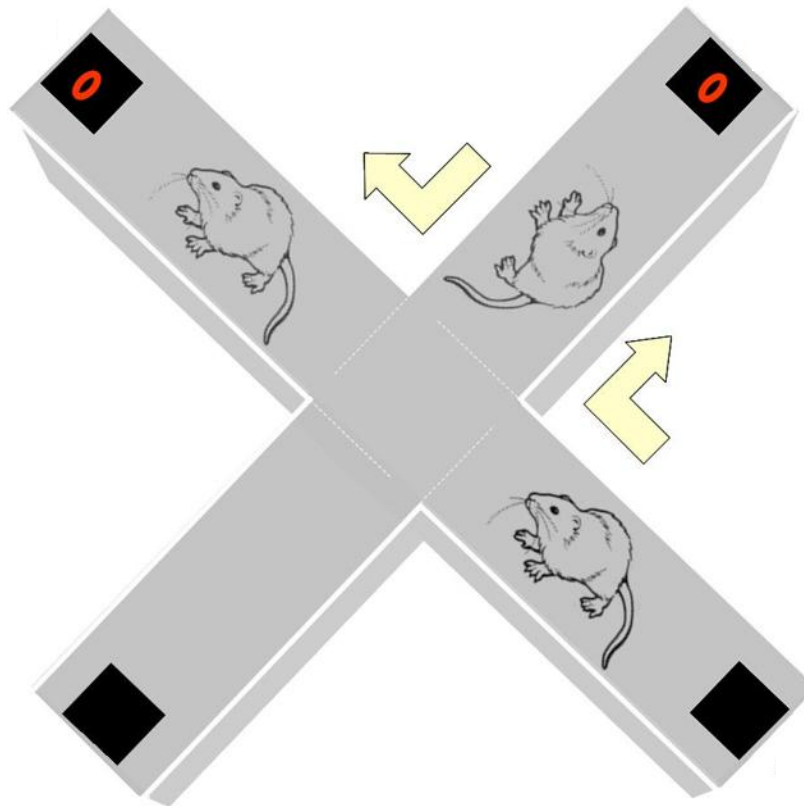


Figura 9. Laberinto en cruz y ejemplo de la ejecución acertada de un ensayo de memoria de trabajo egocéntrica.

Para cada uno de los doce ensayos de muestra correspondió consecutivamente un *ensayo de prueba*, una vez transcurrido un *período de retraso* de diez segundos. Así, en cada ensayo de prueba el animal dispuso de dos opciones: girar hacia el lado derecho o hacia el lado izquierdo; si en el ensayo de muestra se le indujo hacia la derecha y en el de prueba lo hizo asimismo hacia la derecha, se le recompensó con reforzador y se consideró como acierto; si por el contrario, giró hacia la izquierda, no se le recompensó y el ensayo se consideró como error. En el brazo de inducción donde el animal comió el reforzador se dejó transcurrir un periodo de retraso de 10 segundos (Ragozzino and Kesner, 2001) y posterior a ellos se abrieron los accesos a las puertas laterales para que el animal eligiera ir a la derecha o bien a la izquierda. Al término de cada par de ensayos de muestra y de prueba y desde el mismo brazo en que finalizó, se dejó transcurrir un intervalo de 30 segundos; posteriormente, se inició un nuevo par de ensayos con la inducción del giro según la secuencia de giros pre-establecidos al azar en el protocolo de experimentación.

Etapas de Retención

Una vez que transcurrieron los cinco días de adquisición se contabilizó el número de aciertos durante cinco días o sesiones consecutivas más mediante el mismo esquema experimental seguido durante la etapa de adquisición.

Etapas de Recuperación

Una vez concluidas las etapas de adquisición y de retención, al día siguiente los animales fueron sometidos a la última etapa de estudio conductual. Se ensayaron cinco sesiones consecutivas más compuestas por doce ensayos de muestra y de prueba; en esta ocasión, entre el ensayo de muestra y el de prueba hubo un periodo de retraso de 20 segundos (Ragozzino and Kesner, 2001). Al igual

que en las etapas de adquisición y de retención, en la etapa de recuperación se contabilizó la eficiencia conductual durante los cinco días o sesiones consecutivas.

Al término de las cinco sesiones de la etapa de recuperación, se dio por concluida la prueba.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante:

- La concentración plasmática de estradiol fue comparada mediante el análisis de varianza ANOVA, seguido de la prueba *post hoc* de Tukey.
- El porcentaje de aciertos (respuestas correctas) diarios de cada animal fue promediado entre los cinco días de la etapa correspondiente. Tal promedio fue a su vez promediado entre los ocho animales de cada grupo, por etapa. A partir de dichos datos, se aplicó la prueba de análisis de varianza ANOVA y la prueba de Tukey como prueba *post hoc*.

RESULTADOS

El análisis de los datos de la concentración plasmática de estradiol mostró diferencias entre los tres grupos piloto estudiados ($F = 6.533$, $p < 0.025$). El grupo tratado con letrozol mostró una concentración de estradiol menor respecto al grupo intacto ($p < 0.02$), así como al grupo tratado con vehículo ($p < 0.01$). Entre los grupos intacto y vehículo no se observaron diferencias significativas (Figura 10).

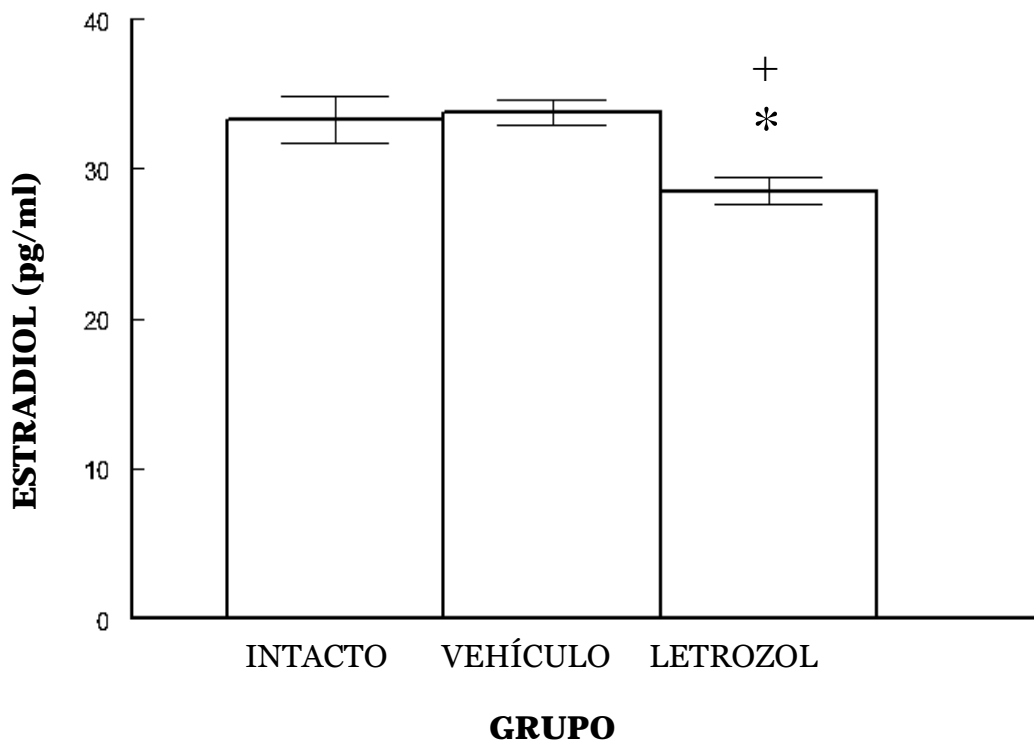


Figura 10. Concentraciones plasmáticas de estradiol en los grupos intacto, vehículo y letrozol. Los datos representan la media \pm EEM. *: E vs T, $p < 0.025$; +: E vs C ($p < 0.013$).

Las comparaciones intragrupal para los animales del grupo testigo, mostraron diferencias significativas ($F = 4.261, p < 0.02$). Durante la etapa de recuperación de la información, las ratas tuvieron menos aciertos respecto a la etapa de retención ($p < 0.02$) (Figura 11).

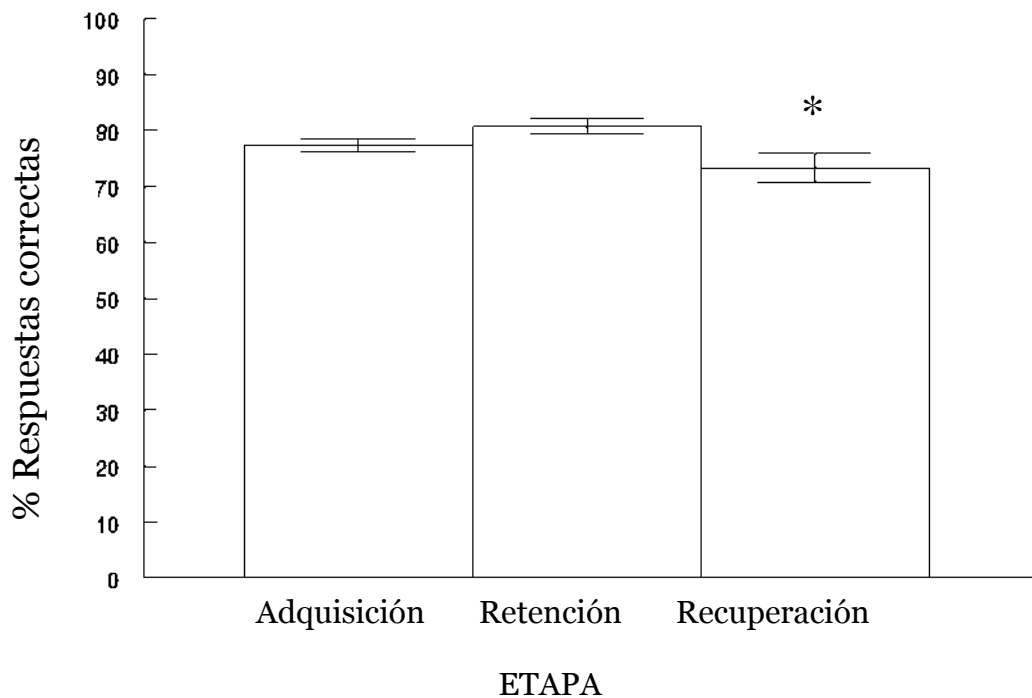


Figura 11. Porcentaje de respuestas correctas en las diferentes etapas para el grupo testigo. Los datos representan la media \pm EEM. * : diferencia significativa entre la etapa de recuperación vs etapa de retención ($p < 0.02$).

Las comparaciones intergrupales de las respuestas correctas mostraron una diferencia significativa en la etapa de adquisición ($F = 7.699, p < 0.003$). Los animales tratados con letrozol durante la etapa de adquisición (grupo E1) ejecutaron la prueba con más aciertos, en comparación tanto con los animales

tratados con vehículo (grupo C1; $p < 0.02$) como con los animales no tratados (grupo T; $p < 0.04$) (Figura 12).

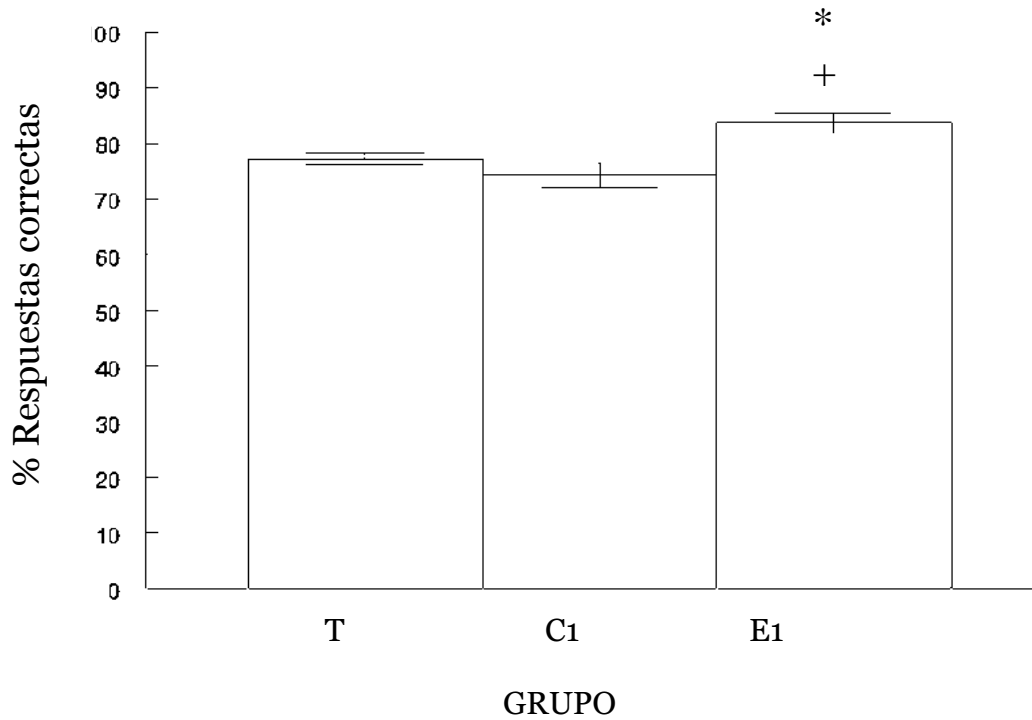


Figura 12. Porcentaje de respuestas correctas del grupo testigo (T), grupo control (C1) y grupo experimental (E1); durante la evaluación de la etapa de adquisición. Los datos representan la media \pm EEM. * : diferencia significativa de E1 vs T ($p < 0.04$); + : diferencia significativa de E1 vs C1 ($p < 0.02$).

El letrozol no afectó el porcentaje de respuestas correctas cuando fue administrado en la etapa de retención o en la de recuperación (Figura 13 y Figura 14).

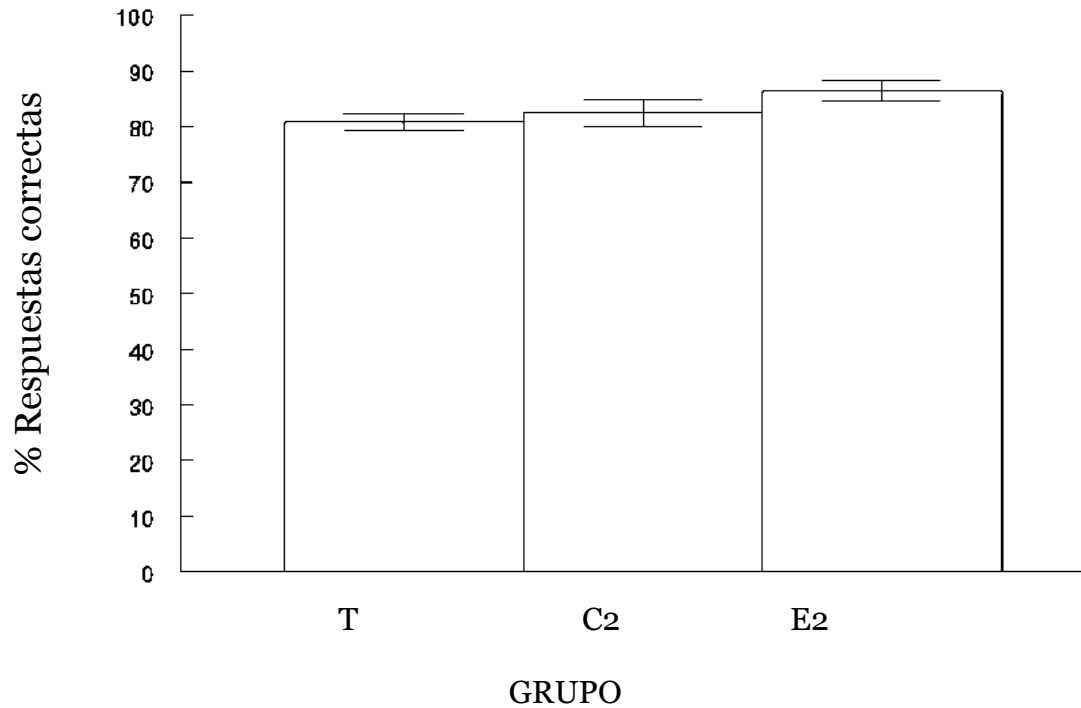


Figura 13. Porcentaje de respuestas correctas del grupo testigo (T), grupo control (C2) y grupo experimental (E3); durante la evaluación de la etapa de retención. Los datos representan la media \pm EEM.

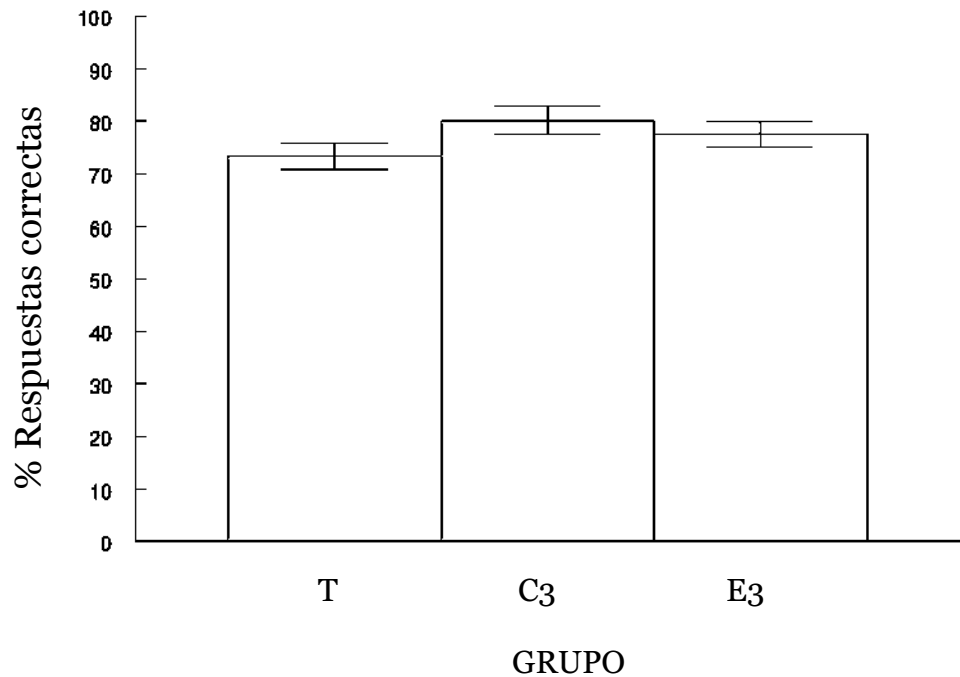


Figura 14. Porcentaje de respuestas correctas del grupo testigo (T), grupo control (C3) y grupo experimental (E3); durante la evaluación de la etapa de recuperación. Los datos representan la media \pm EEM.

Las comparaciones intragrupalas no revelaron diferencias estadísticas entre las diferentes etapas en los grupos control.

Por otra parte, las comparaciones para los animales tratados con letrozol mostraron diferencias estadísticas en la etapa de adquisición ($F = 6.170$, $p < 0.008$). Aquellos tratados durante la etapa de adquisición (grupo E1) mostraron una mejor ejecución conductual comparados con los animales del grupo T ($p < 0.04$), E2 ($p < 0.01$) y E3 ($p < 0.04$), en esta misma etapa (Figura 15).

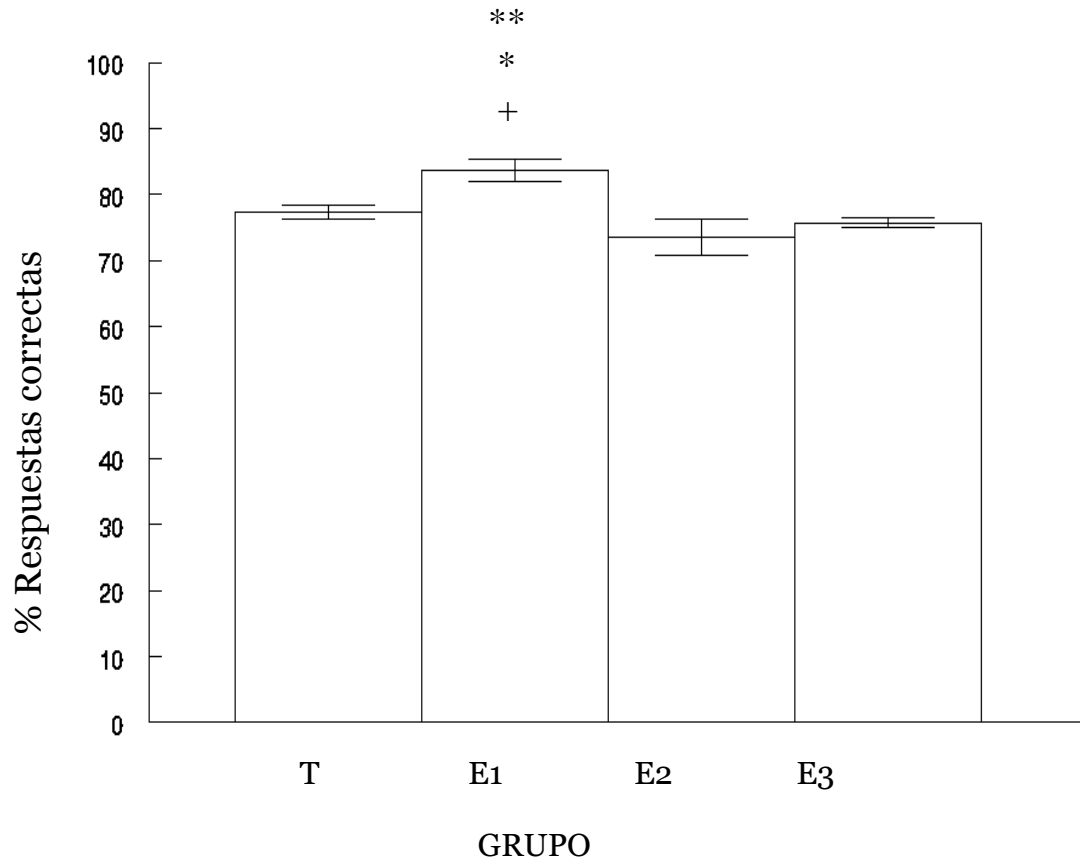


Figura 15. Comparación del porcentaje de respuestas correctas en la etapa de adquisición para el grupo testigo, E1 y los grupos E2 y E3 (no tratados con letrozol en la etapa de adquisición). Los datos representan la media \pm EEM. * : diferencia significativa de Testigo vs E1 ($p < 0.04$); ** : diferencia significativa de E2 vs E1 ($p < 0.01$); + : diferencia significativa de E3 vs E1 ($p < 0.04$).

Cuando se compararon todos los grupos en la etapa de retención no hubo diferencia significativa (Figura 16).

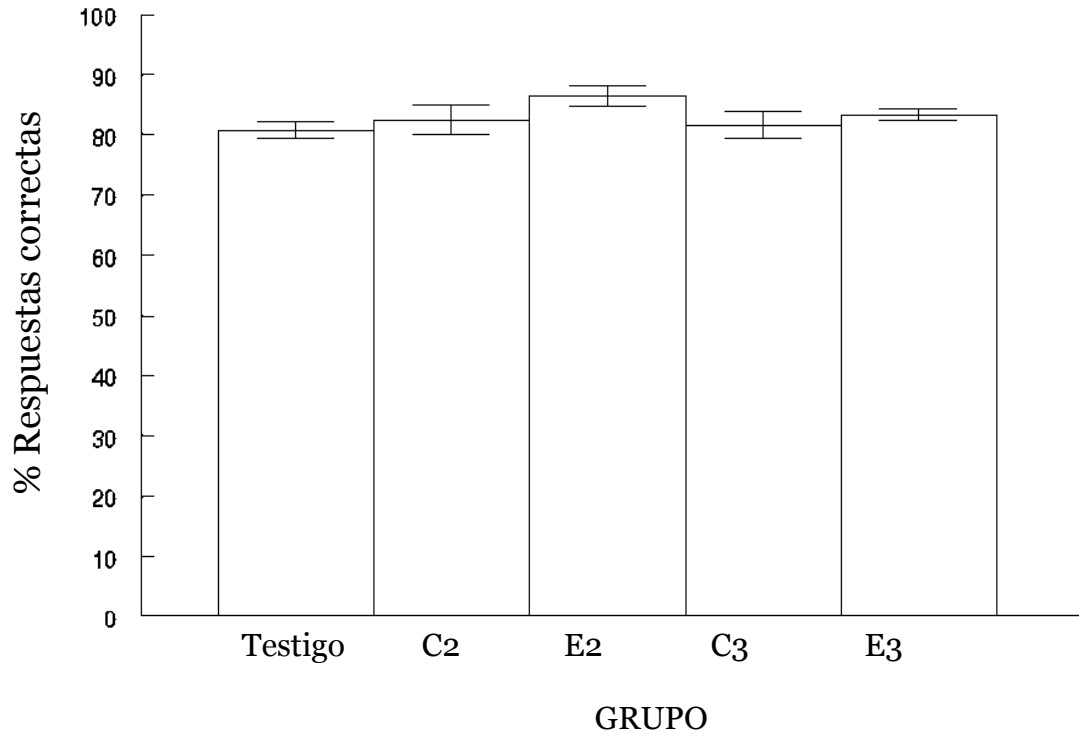


Figura 16. Porcentaje de respuestas correctas del grupo testigo (T), grupos controles (C2-C3) y grupos experimentales (E2-E3); durante la evaluación de la etapa de retención. Los datos representan la media \pm EEM.

DISCUSIÓN

Desde la época de los 70's se reportó que el SNC es capaz de sintetizar neurosteroides tales como los estrógenos (Naftolin et al., 1971; Naftolin, 1975). Actualmente se sabe que la síntesis de neurosteroides en el cerebro se lleva a cabo mediante la participación de las enzimas esteroideogénicas, por cierto ampliamente distribuidas en diversas regiones neurales (Mellon and Griffin, 2002) (Tabla 2).

Tabla 2. Síntesis regional de las enzimas esteroideogénicas en el sistema nervioso (Tomado de: Mellon and Griffin, 2002).

	Cortex	Hippocampus	Olfactory bulb	Basal ganglia	Hypothalamus	Thalamus	Tectum/tegmentum	Cerebellum	Pons	Medulla	Pituitary	Spinal cord	PNS
P450scc	++	+	+	++	+	+	+	+			+	+	++
P450c11 β	+++	+++		+++	++	++		+++					
P450c11AS	++	+			+++			+					
P450c17	++	++	-	+(fibers)	-	+	+(fibers)	+(fibers)	++	++	-	++	++
P450c21													
P450aro	+	+		+	+	+							
3 β HSD	+	+	+	++(fibers)	+	++(fibers)	++(fibers)	++	++	++	-	-	
17 β HSD	+	+		+	+	+		+	-	-	-	-	
11 β HSD (types I and II)	+(type I)	+(type I)			+(types I, II)	+(type II)		+(type II)	+(type III)		+(type I)		
5 α reductase	+	+		+	+	+		+		+	+	+	+
3 α HSD (human types II and III)	+	+	++	+	+	+	+	+		+	+		
STS	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
StAR	+	+	+					+					

*Abbreviations: 3 α HSD, 3 α hydroxysteroid dehydrogenase; 3 β HSD, 3 β hydroxysteroid dehydrogenase, Δ 5- Δ 4 isomerase; 11 β HSD, 11 β hydroxysteroid dehydrogenase; P450aro, aromatase; P450c11AS, aldosterone synthase; P450c11 β , 11 β hydroxylase; P450c17, 17 α hydroxylase, c17,20 lyase; P450c21, 21 hydroxylase; P450scc, cholesterol side-chain cleavage; PNS, peripheral nervous system; StAR, steroidogenic acute regulatory protein; STS, steroid sulfatase.

^b, the relative level of expression, determined by analysis of either protein, mRNA or enzymatic activity; -, the enzyme was not detected in that particular region; (fibers) refers to detection of protein in fibers, and not necessarily in cell bodies. In some cases (e.g. 3 β HSD and P450c17), proteins could be detected both in cell bodies and in fibers.

Se ha reportado que los esteroides pueden ser sintetizados de nuevo o acumulados en el cerebro (Corpechot et al., 1981; Corpechot et al., 1983), lo que sugiere que algunos de estos esteroides –como los estrógenos- pueden modular las

respuestas del SNC, no solamente afectando la conducta sexual y las respuestas conductuales estereotipadas diferenciadas sexualmente, sino también la capacidad del cerebro para procesar, almacenar y recuperar información sensorial (Luine, 1997; Dohanich, 2002). En apoyo a esta idea, en varios estudios la administración de estrógenos como terapia de reemplazo a mujeres post-menopáusicas, ha sido vinculada con la mejora de la memoria (Phillips and Sherwin, 1992; Drake et al., 2000) y de la articulación del lenguaje verbal (Hampson, 1990), así como con un aumento en la fluidez verbal (Wolf et al., 1999) y una mejora en la memoria de trabajo (Shaywitz et al., 1999).

La memoria de trabajo (memoria de corto plazo activa) es la capacidad cognoscitiva para resolver adecuadamente tareas de corto plazo que requieren la actualización de información (Baddeley, 2000). Se ha mostrado que las estrategias espaciales alocéntricas y egocéntricas son la base para la resolución de tareas de memoria de trabajo (McDonald and White, 1995). Las estrategias alocéntricas usan señales visuoespaciales disponibles en el ambiente, mientras que las estrategias egocéntricas están basadas en secuencias de movimientos propias del individuo; en ambos casos, para producir respuestas motoras orientadas apropiadamente.

Los efectos de los estrógenos sobre funciones de aprendizaje y memoria son controversiales (Varga et al., 2002). Algunos investigadores no han observado efectos sobre funciones de aprendizaje y memoria (Healy et al., 1999; Wilson et al., 1999) o bien, han observado efectos negativos (Fuger et al., 1998; Chesler and Juraska, 2000), en tanto que otros autores han reportado que los estrógenos ejercen mejora en tareas de memoria espacial (Rissanen et al., 1999; Gibbs, 2000). Al menos en roedores, moderadas dosis de estrógenos facilitan las funciones cognoscitivas dependientes del hipocampo tales como el aprendizaje espacial (Daniel et al., 1997). Más aún, la actividad estrogénica facilita la memoria de trabajo espacial pero no la memoria de referencia (Fader et al., 1999; Holmes et al., 2002), así como el aprendizaje de lugar (Korol and Kolo, 2002). En este sentido, se

ha reportado que la administración de estrógenos a ratas jóvenes ovariectomizadas facilita tareas de memoria de trabajo en el laberinto radial, pero obstaculizan las tareas de memoria de referencia en el laberinto acuático (Daniel et al., 1999). Además, el tratamiento sostenido con estrógenos mejora la ejecución de una tarea de memoria de trabajo espacial (O'Neal et al., 1996).

A partir de resultados conductuales en monos, se ha hipotetizado que las neuronas de la capa III piramidal de la corteza prefrontal dorsolateral puede ser afectada por el 17β -estradiol (Hao et al., 2006). Con el antecedente de que la corteza prefrontal dorsomedial de la rata, es análoga a la corteza prefrontal dorsolateral del primate (Fuster, 1997), los efectos del 17β -estradiol pueden impactar la integración cortico-cortical requerida para los procesos cognoscitivos tales como la memoria de trabajo, mediados por esta región (Goldman-Rakic, 1999).

Nuestros resultados indican que la etapa de adquisición de la memoria de trabajo –y no así la etapa de retención o recuperación- se afecta por la administración sistémica de letrozol. Los resultados de la administración de letrozol durante las etapas de retención o recuperación, es decir, cuando la información mnésica ha sido adquirida, sugiere que la actividad de la aromatasa no está involucrada en los mecanismos anterógrados y retrógrados del procesamiento de memoria asociados a la retención y recuperación (Aggleton and Brown, 1999; Guillery-Girard et al., 2004). El mecanismo retrógrado se refiere a cómo la información puede ser recuperada dentro del hipocampo y cómo esta información recuperada puede habilitar la actividad en áreas neocorticales que participaron durante el almacenamiento original del evento episódico restaurado, implementando así el recuerdo (Rolls and Kesner, 2006). Por su parte, los mecanismos anterógrados se refieren al procesamiento de formación de nuevas memorias (retención) y los mecanismos retrógrados consisten en el acceso a memorias previas (recuperación) (en.wikipedia.org).

El aumento en el número de respuestas correctas durante la etapa de adquisición sugiere que la inhibición periférica de la aromatasa y la consecuente disminución de las concentraciones de estradiol en plasma –como resultó en nuestro estudio y de acuerdo con reportes previos (Bhatnagar et al., 1990; Schieweck et al., 1993; Saleh et al., 2003)- estaría asociada a una mejora de la memoria de trabajo en ratas macho. Así mismo, nuestros resultados concuerdan con la evidencia de que la administración sistémica de letrozol disminuye las concentraciones plasmáticas de estradiol a través de su mecanismo específico de acción que es la inhibición de la aromatasa (Trunet et al., 1993; DEF, 2000).

Los estrógenos en el plasma de las ratas macho, son los productos predominantes de la aromatización periférica de los andrógenos adrenales y testiculares por varios tejidos, tales como el hígado o el tejido adiposo (Simpson and Davis, 2001). Se sabe que el estradiol también es producido localmente en el cerebro donde puede actuar como un factor parácrino o autócrino (Labrie et al., 1997). Así, la cantidad total de estrógenos sintetizados por sitios extragonadales puede ser pequeña, pero las concentraciones locales alcanzadas en el tejido pueden ser probablemente altas y ejercer su influencia biológica localmente (Simpson and Davis, 2001). Lo anterior concuerda con la evidencia de que después de una gonadectomía o adrenalectomía, los esteroides permanecen largo tiempo en el sistema nervioso (Corpechot et al., 1981; Corpechot et al., 1983) lo que sugiere que pueden ser sintetizados de nuevo o acumulados en esas estructuras (Compagnone and Mellon, 2000).

En un estudio donde se examinó el efecto del estradiol sobre la adquisición de una tarea de memoria de trabajo espacial, la infusión de altas dosis de estradiol en la corteza prefrontal y de bajas dosis en el hipocampo dorsal facilitó la ejecución de la tarea (Sinopoli et al., 2006). A las 24 horas posteriores, el desempeño de la memoria de trabajo espacial fue menos eficiente en los sujetos con la administración de estradiol en el hipocampo (Sinopoli et al., 2006). Tales hallazgos

sugieren que la síntesis local de estrógenos en el cerebro podría estar relacionada con la calidad de la ejecución de tareas de memoria de trabajo en la etapa de adquisición de información. Esos datos, por un lado, proveen la evidencia de que el estradiol puede alterar los procesos de memoria y sugiere que la facilitación o la interrupción de la memoria de trabajo mediada por la acción del estradiol dependen de la región cerebral involucrada (Sinopoli et al., 2006).

Como se mencionó anteriormente, el cerebro es un tejido esteroideogénico (Baulieu et al., 2001; Kimoto et al., 2001; Mellon, 2001; Mellon et al., 2001;) y, entre otras enzimas esteroideogénicas, expresa la enzima aromatasa (MacLusky et al., 1986; Stoffel-Wagner et al., 1999; Stoffel-Wagner, 2003). La aromatasa está distribuida en toda la neurona incluyendo axones, botones y vesículas sinápticas (Naftolin, 1994). Se ha reportado que la aromatasa se encuentra en mayores concentraciones en machos que en hembras y se ha propuesto que estas últimas obtienen suficiente estradiol de fuentes periféricas, particularmente de los ovarios (Roselli and Resko, 2001; Gilmore, 2002; Carretero et al., 2003). Resultados recientes indican que la formación local de estradiol por la aromatasa afecta la plasticidad sináptica (Kretz et al., 2004; Leranth et al., 2004) y puede contribuir a los mecanismos endógenos neuroprotectores (García-Segura et al., 2003). La formación local de estradiol podría estar relacionada con el hecho de que las concentraciones de estrógenos en la corteza prefrontal son dos veces mayores que en la corteza temporal y siete veces mayores que en el hipocampo (Bixo et al., 1995), donde las concentraciones de estradiol son seis veces mayores que en el plasma (Hojo et al., 2004; Prange-Kiel and Rune, 2006). Estudios en monos rhesus jóvenes han revelado que los efectos de los estrógenos sobre la corteza prefrontal, incluyen aumento en el número de espinas (Tang et al., 2004), así como aumento de las entradas colinérgicas y monoaminérgicas a la corteza prefrontal (Kritzer and Kohama, 1999; Tinkler et al., 2004).

Interesantemente, aunque la administración sistémica de letrozol muestra inhibición de la actividad periférica de la aromatasa en ratas macho, la actividad de ésta así como las concentraciones de estradiol aumentan en el cerebro después de dicho tratamiento farmacológico (Choate and Resko, 1996; Saleh et al., 2003). Dado que el letrozol inhibe la actividad de la aromatasa periférica, su acción contraria en el tejido nervioso resulta importante. Se ha sugerido que éste efecto paradójico involucra un mecanismo autorregulador que es interrumpido por la inhibición de la enzima por parte del letrozol o un efecto del inhibidor sobre el cociente de recambio de la enzima (Choate and Resko, 1996). Aunque los mecanismos precisos involucrados en la sobre-regulación de la actividad de la aromatasa en el cerebro por letrozol no son bien entendidos (Choate and Resko, 1996; Saleh et al., 2003), la alta concentración plasmática de testosterona resultante de la inhibición periférica de la aromatasa (Trunet et al., 1993), conjuntamente con la actividad incrementada de la aromatasa cerebral que ocurre por la administración sistémica de letrozol (Choate and Resko, 1996); resultaría en un aumento en la síntesis local de estradiol en el cerebro como, de hecho, ha sido reportado por diversos autores (Choate and Resko, 1996; Saleh et al., 2003). Con base en lo anterior, el aumento en la síntesis local de estrógenos en el cerebro sustentaría el mejor desempeño de la memoria de trabajo durante la etapa de adquisición, tras la administración sistémica de letrozol, en ratas macho.

La administración de estradiol en un modelo de dispersión de células hipocampales *in vitro*, produce sobrerregulación de ER α y regulación negativa de ER β (Prange-Kiel and Rune, 2006). Por el contrario, la administración de inhibidores no esteroideos de la aromatasa tales como el letrozol, produce una regulación negativa de ER α y una sobrerregulación de ER β (Prange-Kiel and Rune, 2006). Dado que la activación de ER β está relacionada con la modulación de los efectos mediados por ER α (Hall and Mc Donnell, 1999; Weihua et al., 2000; Matthews and Gustafsson, 2003) es posible que el efecto de los estrógenos sobre la mejora de la memoria de trabajo observada en el presente estudio, pudiera haber

ocurrido mediante un mecanismo genómico de acción a través de ER β , al menos en el componente de largo plazo de la resolución de la tarea, esto es, el recuerdo diario del objetivo de la tarea. Por otra parte, se han reportado acciones no genómicas de los estrógenos que favorecen la excitabilidad eléctrica en algunas áreas cerebrales tales como el cerebelo, el hipocampo, el estriado y la corteza cerebral (Gu et al., 1996; McEwen, 1999). Dado que los efectos no genómicos ocurren en el rango de los minutos a pocas horas (McEwen, 1991a; Rupprecht and Holsboer, 1999) y es poco probable que involucren una activación transcripcional (Gu et al., 1996; McEwen, 1999), las acciones no genómicas de los estrógenos también podrían estar relacionadas con la capacidad de recordar la variación de información contenida en cada par de ensayos de la prueba utilizada, dando lugar así a la mayor eficiencia conductual reportada en este estudio.

Está bien establecido que los neurosteroides afectan los sistemas de neurotransmisión por actuar sobre sus receptores de una manera moduladora, inhibidora o excitadora (Mellon and Griffin, 2002) (Tabla 3).

Tabla 3. Receptores a neurotransmisores afectados por neurosteroides (Tomado de: Mellon and Griffin, 2002).

Receptor	Steroid	Type of modulation
GABA _A	3 α 5 α and 3 α 5 β derivatives of progesterone, 11 DOC and testosterone	Positive
	Pregnenolone sulfate and DHEAS	Negative
NMDA	DHEA and pregnenolone sulfate	Positive
	17 β -Estradiol	Negative
AMPA	Pregnenolone sulfate	Negative
Kainate	17 β -Estradiol and progesterone	Positive
	Pregnenolone sulfate	Negative
Glycine	Progesterone and pregnenolone sulfate	Negative
5-HT ₂ (serotonin)	(17 α - and 17 β -) estradiol, progesterone, testosterone and 3 α 5 α tetrahydroprogesterone	Negative
	Pregnenolone sulfate	No effect
	DHEAS	Positive
Sigma type I	Pregnenolone sulfate	Negative
	Progesterone	Negative
Nicotinic acetylcholine	Progesterone	Negative
Oxytocin	Progesterone	Negative

*Abbreviations: AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid; DHEA, dehydroepiandrosterone; DHEAS, DHEA sulfate; DOC, deoxycorticosterone; GABA, γ -aminobutyric acid; NMDA, N-methyl-D-aspartate.

Numerosos sistemas neuroquímicos han sido implicados en los efectos cognoscitivos de los estrógenos, incluyendo aminoácidos neurotransmisores tales como el GABA y el glutamato, así como las catecolaminas, la acetilcolina y la serotonina (Korol, 2004). Así, en suma a su papel “orquestador” sobre los sistemas de memoria, los estrógenos también pueden regular el balance relativo de neuromoduladores específicos en- y a través de los sistemas neurales (Korol, 2004). Mientras que algunos de los efectos de los estrógenos demostrados en hembras han sido también reproducidos en machos (Packard et al., 1996; Sherwin, 2003), muchos de los efectos simples no han sido estudiados en machos (Korol, 2004). Este trabajo, de hecho, es una contribución en este sentido.

Además, se sabe que el 17β -estradiol aumenta las concentraciones del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) a glutamato (Gazzaley et al., 1996) y facilita las respuestas mediadas por éste en las neuronas piramidales del campo CA1 del hipocampo (Woolley et al., 1997; Weiland, 1992a). La activación de los receptores NMDA por el glutamato es un factor esencial para desarrollar nuevas sinapsis excitatorias (McEwen, 2001). En este sentido, se ha sugerido que los estrógenos promueven la formación de nuevas conexiones sinápticas más que reforzar las conexiones existentes (Yankova et al., 2001).

Se ha reportado que la actividad de los estrógenos produce neoformación de espinas en neuronas piramidales hipocampales, debido a un aumento en la excitabilidad de éstas mediado por un efecto inhibitor sobre la actividad de interneuronas GABAérgicas (Segal and Murphy, 2001). Se ha propuesto que la variación en la densidad de espinas dendríticas es modulada por estrógenos mediante un mecanismo dependiente de la activación de receptores NMDA de glutamato (Woolley and McEwen, 1994). En este sentido, la presencia de receptores α de estrógenos en el aparato de la espina y/o en la densidad postsináptica ha llevado a proponer que la actividad estrogénica podría estar relacionada con el metabolismo del calcio (McEwen et al., 2001). Dado que la

actividad del calcio por un lado depende de la activación de receptores NMDA (Yuste et al., 1999) y, por el otro se asocia con modificaciones en la forma de las espinas (Harris, 1999) mediante su capacidad para producir cambios en el citoesqueleto de la densidad postsináptica de éstas (Fischer et al., 2000); se sugiere que la actividad estrogénica en el interior de las espinas podría estar involucrada no sólo en los cambios en su densidad, sino directamente en modificaciones en su forma geométrica. De hecho, los efectos de la estimulación diferencial sobre las espinas no se restringe solo a su número sino también a su forma; existen reportes que muestran que si la estimulación a las espinas es alta, se produce un alargamiento de éstas; en tanto que si tal estimulación es excesiva, se produce su retracción (Harris, 1999; Segal, 1995). A pesar de la evidencia, los determinantes sinápticos específicos que condicionan la interconversión de un tipo particular de espinas en otras no se conocen con precisión y menos aún el papel que los estrógenos pudieren desempeñar en dichos fenómenos plásticos.

En la corteza prefrontal medial de ratas macho, los receptores de estrógenos y andrógenos actúan de forma opuesta para modificar la recaptura de neurotransmisores (Handa, 1997). Con base en lo anterior, fluctuaciones en las concentraciones locales relativas de estrógenos y andrógenos pueden ejercer efectos neurobiológicos profundos en la respuesta de la corteza prefrontal medial ante diversos estímulos (Handa, 1997).

Con base a ésta y en otras evidencias experimentales existen algunas propuestas acerca de los mecanismos a través de los cuales los estrógenos pudieran afectar la memoria. Tales mecanismos son:

1. El potencial del estradiol para alterar la sensibilidad de las neuronas hipocámpales al neurotransmisor glutamato (Weiland, 1992a);
2. La activación inducida por estradiol de un subconjunto de neuronas GABAérgicas hipocámpales (Weiland, 1992b);

3. La acción del estradiol sobre la colinacetyltransferasa (Luine et al., 1980);
4. La capacidad del estradiol para aumentar receptores a serotonina en ratas ovariectomizadas (McEwen and Parson, 1982);
5. La aparente capacidad del estradiol para aumentar el flujo sanguíneo de la arteria carótida (Gangar et al., 1991);
6. La capacidad el estradiol para revertir cambios anatómicos en las neuronas (McEwen, 1991b);
7. La aparente estimulación por el estradiol de factores neurotróficos, regeneración neuronal y la modulación de la función sináptica de corto y largo plazo (Wong and Moss, 1992);
8. La capacidad el estradiol para aumentar la síntesis proteica de espinofilina que se le ha implicado directamente en la regulación de la formación y la función de las espinas (Feng et al., 2000, Hao et al., 2003; Muly et al., 2004).
9. La capacidad del estradiol para aumentar las concentraciones de adenosin monofosfato cíclico (AMPC) en el hipotálamo (Gunaga et al., 1974); y
10. Los efectos sobre la plasticidad neuronal que ha sido bien documentada en varias regiones del SNC (Chung et al., 1988; Párducz et al., 1993; Langub et al., 1994; VanderHols and Holstege, 1997; Woolley, 1998; Horváth et al., 2002).

CONCLUSIONES

- La administración sistémica de letrozol redujo la concentración plasmática de estradiol.
- La administración sistémica de letrozol produjo un mejor desempeño en la etapa de adquisición de la memoria de trabajo egocéntrica.
- La etapa de retención y de recuperación no se afectaron por la administración sistémica del letrozol.
- El efecto observado sobre el mejor desempeño de la memoria de trabajo podría estar sustentado en modificaciones sobre la disponibilidad del estradiol a nivel prefrontal y podrían estar relacionadas con un incremento de la actividad de la aromatas cerebral. Algunos posibles mecanismos que ayudarían a explicar este hecho podrían incluir la interrupción de un proceso autorregulador por la inhibición de la enzima, o bien un efecto del inhibidor (letrozol) sobre el recambio de la misma.
- La actividad del estradiol disponible pudo favorecer la mejor eficiencia conductual mediante acciones tanto genómicas como no genómicas sobre diversos sistemas de neurotransmisión que regulan la organización prefrontal de la memoria de trabajo.

REFERENCIAS

- Aggleton, J.P. and Brown, M.W., 1999. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav. Brain Sci.* 22, 425-444.
- Akhtar, M., Njar, V.C.O. and Wright, J.N., 1993. Mechanistic studies on aromatase and related C-C bond cleaving P-450 enzymes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 44, 375-387.
- Baddeley, A., 1992. Working memory. *Science.* 255, 556-559.
- Baddeley, A.D. and Hitch, G.J., 1974. Working memory. In: Bower GA, ed. *The psychology of learning and cognition.* New York: Academic Press.
- Baddeley, A., 2000. Short-term and working memory. In: E. Tulving and F.I.M. Craik (Eds.), *The Oxford handbook of memory.* New York: Oxford University Press. pp. 77-92
- Balota, D.A., Dolan, P.O. and Duchek, J.M., 2000. Memory changes in healthy older adults. In: *The Oxford handbook of memory.* Tulving, E. and Craik, F.I.M. (Eds.). Oxford University Press, New York. Pp. 395-410.
- Bhatnagar, A.S., Hausler, A. Schieweck, K., Lang, M. and Bowman, R., 1990. Highly selective inhibition of estrogen biosynthesis by CGS 20267, a new non-steroidal aromatase inhibitor. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 37, 1021-1027.
- Baulieu, E.E., 1998. Neurosteroids: a novel functions of the brain. *Psychoneuroendocrinology* 23, 963-987.

- Baulieu, E.E., Robel, P. and Schumacher, M., 2001. Neurosteroids: beginning of the story. *Intern. Rev. Neurobiol.* 46, 1-32.
- Berridge, C.W. and Waterhouse, B.D., 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Rev.* 42, 33-84.
- Bimonte, H.A. and Denenberg, V.H., 1999. Estradiol facilitates performance as working memory load increases. *Psychoneuroendocrinology.* 24, 161-173.
- Bimonte-Nelson, H.A., Singleton, R.S., Nelson, M.E., Eckman, Ch.B., Barber, J., Scott, T.Y. and Granholm, A.Ch.E., 2003. Testosterone, but not nonaromatizable dihydrotestosterone, improves working memory and alters nerve growth factor levels in aged male rats. *Exp. Neurol.* 181, 301-312.
- Bixo, M., Backstrom, T., Windblad, B. and Andersson, A., 1995. Estradiol and testosterone in specific regions of the human female brain in different endocrine states. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 55, 297-303.
- Blackburn, F.G., Shah, P.H., Kenten, H.J., Leland, J., Kamin, A.R., Link, J., Peterman, J., Powell, J.M., Shah, A., Talley, B.D., Tyagi, K.S., Wilkins, E., Wu, T., and Massey, J.R., 1991. Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assays for clinical diagnostics. *Clin. Chem.* 37, 1534-1539.
- Blurton-Jones, M.M., Roberts, J.A. and Tuszynski, M.H., 1999. Estrogen receptor immunoreactivity in the adult primate brain: neuronal distribution and association with p75, trkA, and choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.* 405, 529-542.

- Bodner, M., Zhou, Y.D. and Fuster, J.M., 1998. High-frequency transitions in cortical spike trains related to short-term memory. *Neurosci.* 86, 1083-1087.
- Bodner, M., Zhou, Y.D., Shaw, G.L. and Fuster, J.M., 1997. Symmetric temporal patterns in cortical spike trains during performance of a short-term memory task. *Neurol. Res.* 19, 509-514.
- Bolton, E., Richter, M.M. and Eierman, R., 2001. Light emission at electrodes: an electrochemiluminescence demonstration. *J. Chem. Educ.* 78, 641-643.
- Bossche, H.V., Moereels, H. and Koymans, L.M.H. 1994. Aromatase inhibitors: mechanisms for non-steroidal inhibitors. *Breast Cancer Res. Treat.* 30, 43-55.
- Butenandt, A. 1929. Über "PROGYNON", ein crystallisiertes, weibliches sex-ualhormon. *Naturwissenschaften.* 17, 879.
- Carlson, S., Tanila, H., Pertovaara, A. and Lähteenmäki, A., 1990. Vertical and horizontal coding of space in the monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Res.* 527, 145-149.
- Carretero, J., Vazquez, G., Rubio M., Blanco E., Juanes J.A. and Perez E., 2003. Postnatal differentiation of the immunohistochemical expression of aromatase P450 in the rat pituitary gland. *Histol. Histopathol.* 18, 419-423.
- Chesler, E.J. and Juraska, J.M., 2000. Acute administration of estrogen and progesterone impairs the acquisition of the spatial morris water maze in ovariectomized rats. *Horm. Behav.* 38, 234-242.

- Chiba, A.A., Kesner, R.P. and Reynolds, A.M., 1994. Memory for spatial location as a function of temporal Lag in rats: role of hippocampus and medial prefrontal cortex. *Behav. Neural Biol.* 61, 123-131.
- Choate, J.V.A. and Resko, J.A., 1996. Paradoxical effect of an aromatase inhibitor, CGS 20267, on aromatase activity in guinea pig brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 58, 411-415.
- Chung, S.K., Pffaf, D.W. and Cohen, R.S., 1988. Estrogen-induced alterations in synaptic morphology in the midbrain central gray. *Exp. Brain Res.* 69, 522-530.
- Cole, P.A. and Robinson, C.H., 1990. Mechanism and inhibition of cytochrome P-450 aromatase. *J. Med. Chem.* 33, 2933-2944.
- Compagnone, A.N. and Mellon, H.S., 2000. Neurosteroids: biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Front. Neuroendocr.* 21, 1-56.
- Conde, F., Maire-Lepoivre, E., Audinat, E. and Crepel, F., 1995. Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J. Comp. Neurol.* 352, 567-593.
- Corner, G.W. and Allen, W.M. 1929. Physiology of the corpus luteum. II. Production of a special uterine reaction (progestational proliferation) by extracts of the corpus luteum. *Am. J. Physiol.* 88, 326-346.
- Corpechot, C., Robel, P., Axelson, M., Sjoval, J. and Baulieu, E.E. 1981. Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78, 4704-4707.

- Corpechot, C., Synguelakis, M., Talha, S., Axelson, M., Sjovall, J., Vihko, R., Baulieu, E.E. and Robel, P., 1983. Pregnenolone and its sulfate ester in the rat brain. *Brain Res.* 270, 119–125.
- Daniel, J.M., Fader, A.J., Spencer, A.L. and Dohanich, G.P., 1997. Estrogen enhances performance of female rats during acquisition of a radial arm maze. *Horm. Behav.* 32, 217–225.
- Daniel, J.M., Roberts, S.L. and Dohanich, G.P., 1999. Effects of ovarian hormones and environment on radial maze and water maze performance. *Physiol. Behav.* 66, 11-20.
- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas (DEF). 2000. 46^a Edición. Ediciones PLM, México, D.F. pp. 780-781.
- Dohanich, G.P., 2002. Gonadal steroids learning and memory. In: *Hormones, brain and behavior*. Pfaff DW et al., eds. Vol. 2, pp. 265–327. San Diego: Academic Press.
- Doisy, E.A., Veler, C.D. and Thayer, S.A. 1929. Folliculim from the uterine of pregnant women. *Am. J. Physiol.* 90, 329-330.
- Doisy, E.A., Veler, C.D. and Thayer, S.A. 1930. The preparation of the crystalline ovarian hormone from the uterine of pregnant women. *Am. J. Physiol.* 86, 499-509.
- Doyère, V., Burette, F., Negro, Cr. and Laroche, S., 1993. Long-term potentiation of hippocampal afferents and afferents to prefrontal cortex: implications for associative learning. *Neuropsychol.* 10, 1031-1053.

Drake, E.B., Henderson, V.W., Stanczyk, F.Z., McCleary, C.A., Brown, W.S., Smith, C.A., Rizzo, A.A., Murdock, G.A. and Buckwalter, J.G., 2000. Association between circulating sex steroid hormones and cognition in normal elderly women. *Am. Acad. Neurol.* 54, 599–603.

Duff, S.J. and Hampson, E., 2000. A beneficial effect of estrogen in working memory in postmenopausal women taking hormone replacement therapy. *Horm. Behav.* 38, 262-276.

en.wikipedia.org/wiki/Hippocampus

en.wikipedia.org/wiki/Memory

Fader, A.J., Johnson, P.E.M. and Dohanich, G.P., 1999. Estrogen improves working but not reference memory and prevents amnesic effects of scopolamine on a radial-arm maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 62, 711-717.

Fader, A.J., Hendricson, A.W. and Dohanich, G.P., 1998. Estrogen improves performance of reinforced T-maze alternation and prevents the amnesic effects of scopolamine administered systemically or intrahippocampally. *Neurobiol. Learn. Mem.* 69, 225–240.

Feng, J., Yan, Z., Ferreira, A., Tomozawa, K., Liauw, Zhuo, M., Allen, P.B., Quimet, C.C. and Greengard, P., 2000. Spinophilin regulates the formation and function of dendritic spines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97, 9287-9296.

Fischer, M., Kaech, S., Wagner, U., Brinkhaus, H. and Matus, A., 2000. Glutamate receptors regulate actin-based plasticity in dendritic spines. *Nat. Neurosci.* 3, 887-894.

- Floresco, S.B., Seamans, J.K. and Phillips, A.G., 1997. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial arm-maze tasks with or without a delay. *J. Neurosci.* 17, 1880-1890.
- Fugger, H.N., Cunningham, S.G., Rissman, E.F. and Foster, T.C., 1998. Sex differences in the activational effect of ERalpha on spatial learning. *Horm. Behav.* 34, 163-170.
- Fuster, J.M., 1991. The prefrontal cortex and its relation to behavior. *Prog. Brain Res.* 87, 201-211.
- Fuster, J.M., 1997. The prefrontal cortex. Anatomy, physiology, and neuropsychology of the frontal lobe. USA: Lippincott-Raven Press.
- Gangar, K.F., Vyas, S., Whitehead, M., Crook, D., Meire, H. and Cambell, S., 1991. Pulsatility index in internal carotid artery in relation to transdermal oestradiol and time since menopause. *Lancet.* 338, 839-842.
- Garcia-Segura, L.M., Veiga, S., Sierra, A., Melcangi, R.C. and Azcoitia, I., 2003. Aromatase: a neuroprotective enzyme. *Prog. Neurobiol.* 71, 31-41.
- García-Segura, L.M., Chowen, J.A., Parduez, A. and Naftolin, F., 1994. Gonadal hormones as promoters of structural plasticity: cellular mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 44, 279-307.
- García-Segura, L.M., Wozniak, A., Azcoitia, I., Rodríguez, R., Hutchinson, R.E. and Hutchinson, J.B., 1999. Aromatase expression by astrocytes after brain injury: implications for local estrogen formation in brain repair. *Neuroscience.* 89, 567-578.

- Gazzaniga, M.S., Ivry, R.B. and Mangun, G.R., 2002. Cognitive memory: Cellular and network machineries and their top-down control. *Science*. 306, 435-440.
- Gazzaley, A.H., Weiland, N.G., McEwen, B.S. and Morrison, J.H., 1996. Differential regulation of NMDAR1 mRNA and protein by estradiol in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* 16, 6830–6838.
- Gibbs, R.B., Wu, D., Hersh, L.B. and Pfaff, D.W., 1994. Effects of estrogen replacement on the relative levels of choline acetyltransferase, trkA, and nerve growth factor messenger RNAs in the basal forebrain and hippocampal formation of adult rats. *Exp. Neurol.* 129, 70-80.
- Gibbs, R.B., 2000. Long-term treatment with estrogen and progesterone enhances acquisition of a spatial memory task by ovariectomized aged rats. *Neurobiol. Aging.* 21, 107-116.
- Gilmore, D.P., 2002. Sexual dimorphism in the central nervous system of marsupials. *Int. Rev. Cytol.* 214, 193–224.
- Givens, B. and Olton, D.S., 1995. Local modulation of basal forebrain: Effects on working and reference memory. *J. Neurosci.* 14, 3578-3587.
- Goldman-Rakic, P.S., 1999. “Psychic” neuron of the cerebral cortex. *Ann. NY Acad. Sci.* 868, 13-26.
- González-Burgos, I., Alejandre-Gómez, M. And Cervantes, M., 2005. Spine-type densities of hippocampal CA1 neurons vary in proestrus and estrus ras. *Neurosci. Lett.* 379, 52-54.

- Goodman and Gilman's, 2001. The pharmacological basis of the therapeutics. McGraw-Hill. Hardman, J.G. and Limbird, L.E. (Eds). 10th edition. Pp. 1974-58: 1597-1634.
- Gould, E., Woolley, C.S., Frankfurt, M. and McEwen, B., 1990. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J. Neurosci.* 10, 1286-1291.
- Gu, G., Rojo, A.A, Zee, M.C., Yu, J. And Simerly, R.D., 1996. Hormonal regulation of CREB phosphorylation in the anteroventral periventricular nucleus. *J. Neurosci.* 16, 3035-3044.
- Guillery-Girard, B., Desgranges, B., Urban, G., Piolino, P., de la Sayette, V. and Eustache, F., 2004. The dynamic time course of memory recovery in transient global amnesia. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 75, 1532-1540.
- Gunaga, K.P., Kawano, A. and Menon, K.M., 1974. In vivo effect of estradiol benzoate on the accumulation of adenosine 3'5'-cyclic monophosphate in the rat hypothalamus. *Neuroendocr.* 16, 273-281.
- Gundlah, C., Kohama, S.G., Mirkes, S.J., Garyfallou, V.T., Urbanski, H.F. and Bethea, C.L., 2000. Distribution of estrogen receptor β (ER β) mRNA in hypothalamus, midbrain and temporal lobe of spayed macaque: continued expression with hormone replacement. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 76, 191-204.
- Hall, J.M. and McDonnell, D.P., 1999. The estrogen receptor β -isoform (ER β) of the human estrogen receptor modulates Eralpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinol.* 140, 5566-5578.

- Hampson, E., 1990. Estrogen-relation variations in human spatial and articulatory motor skills. *Psychoneuroendocr.* 15, 97–111.
- Handa, J.R., Hejna, G.M. and Lorens, S.A., 1997. Androgen inhibits neurotransmitter turnover in the medial prefrontal cortex of the rat following exposure to a novel environment. *Brain Res.* 1, 131-138.
- Hao, J., Janssen, W.G., Tang, Y., Roberts, J.A., McKay, H., Lasley, B., Allen P.B., Greengard, P., Rapp, P.R., Kordower, J.H., Hof, P.R. and Morrison, J.H., 2003. Estrogen increases the number of spinophilin-immunoreactive spines in the hippocampus of young and aged female rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 465, 540–550.
- Hao, J., Rapp, P.R., Leffler, A.E., Leffler, S.R., Janssen, W.G.M., Lou, W., McKay, H., Roberts, J.A., Wearne, S.L., Hof, P.R. and Morrison, J.H., 2006. Estrogen alters spine number and morphology in prefrontal cortex of aged female rhesus monkeys. *J. Neurosci.* 26, 2571-2578.
- Harris, K.M., 1999. Calcium from internal stores modifies dendritic spine shape. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 12213-12215.
- Healy, S.D., Braham, S.R. and Bithwaite, V.A., 1999. Spatial working memory in rats: no differences between the sexes. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 266, 2303-2308.
- Hojo, Y., Hattori, T.A., Enami, T., Furukawa, A., Suzuki, K., Ishii, H.T., Mukai, H., Morrison, J.H., Janssen, W.G., Kominami, S., Kimoto, T. and Kawato, S., 2004. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone

by cytochromes P450 α and P450 aromatase localized in neurons. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101, 865-870.

Holmes, M.M., Wide, J.K. and Galea, L.A.M., 2002. Low levels of estradiol facilitate, whereas high levels of estradiol impair, working memory performance on the radial arm maze. Behav. Neurosci. 116, 928–934.

Horváth, S., Kis, Z., Boldogkői, Z., Nógrádi, A. and Toldi, J., 2002. Oestrogen-dependent tracing in the rat CNS after pseudorabies virus infection. Eur. J. Neurosci. 15, 1-8.

Isokawa, M., 2000. Remodeling dendrites spines of dentate granule cells in temporal lobe epilepsy patients and the rat pilocarpine model. Epilepsia. 41, S14-S17.

Jay, T.M., Glowinski, J. and Thierry, A.M., 1989. Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. Brain Res. 505, 337-340.

Keenan, P.A., Ezzat, W.H., Ginsburg, K. And Moore, G.J., 2001. Prefrontal cortex as the site of estrogen's effect on cognition. Psychoneuroendocrinology. 26, 577-590.

Kimoto, T., Tsurugizawa, T., Ohta, Y., Makino, J., Tamura, H., Hojo, Y., Takata, N. and Kawato, S., 2001. Neurosteroid synthesis by cytochrome p450-containing systems localized in the rat brain hippocampal neurons: N-methyl-D-aspartate and calcium-dependent synthesis. Endocrinol. 142, 3578-3589.

- Klein, S.B., 1994. Aprendizaje. Principios y aplicaciones. McGraw Hill. México, D.F. pp. 1-22; 395-447.
- Kolb, B. and Walkey, J., 1987. Behavioral and anatomical studies of the posterior parietal cortex in the rat. *Behav. Brain Res.* 23, 127-145.
- Kolb, B., Buhrmann, K., MacDonald, R. and Sutherland, R.J., 1994. Dissociation of the medial prefrontal, posterior parietal, and posterior temporal cortex for spatial navigation and recognition memory in the rat. *Cereb. Cortex.* 4, 15-34.
- Korol, D., 2004. Role of estrogen in balancing contributions from multiple memory systems. *Neurob. Learn. Mem.* 82, 309-323.
- Korol, D.L. and Kolo, L.L., 2002. Estrogen-induced changes in place and response learning in young adult female rats. *Behav. Neurosci.* 116, 411-420.
- Kretz, O., Fester, L., Wehrenberg, U., Zhou, L., Brauckmann, S., Zhao, S., Prange-Kiel, J., Naumann, T., Jarry, H., Frotscher, M. and Rune, G.M., 2004. Hippocampal synapses depend on hippocampal estrogen synthesis. *J. Neurosci.* 24, 5913-5921.
- Kritzer, M.F. and Kohama, S.G., 1998. Ovarian hormones influence the morphology, distribution, and density of tyrosine hydroxylase immunoreactive axons in the dorsolateral prefrontal cortex of adult rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 395, 1-17.
- Kritzer, M.F., 2002. Regional, laminar, and cellular distribution of immunoreactivity for ER α and ER β in the cerebral cortex of hormonally intact, adult male and female rats. *Cerebral Cortex.* 12, 116-128.

- Kritzer, M.F., Kohama, S.G., 1999. Ovarian hormones differentially influence immunoreactivity for dopamine β -hydroxylase, choline acetyltransferase, and serotonin in the dorsolateral prefrontal cortex of adult rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 409, 438–451.
- Labrie, F., Belanger, A., Cusan, L. and Candas, B., 1997. Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens and estrogens but their metabolites: intracrinology. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 2403-2409.
- Lambert, J.J., Belelli, D., Hill-Venning, C. and Peters, J.A., 1995. Neurosteroids and GABAA receptor function. *Trends Pharmacol. Sci.* 16, 295–303.
- Lamb, H.M. and Adkins, J.C., 1998. Letrozole: a review of its use in postmenopausal women with advanced breast cancer. *Drugs.* 56, 1125-1140. In: Goodman and Gilman's, 2001. *The pharmacological basis of the therapeutics.* McGraw-Hill. Hardman, J.G. and Limbird, L.E. (Eds). 10th edition. pp. 1974.
- Langub, M.C.J., Maley, B.E. and Watson, R.E.J., 1994. Estrous cycle- associated axosomatic synaptic plasticity upon estrogen receptive neurons in the rat preoptic area. *Brain Res.* 641, 303-310.
- learn.genetics.utah.edu/units/addiction/genetics/neurobiol.cfm
- Lee, I. and Kesner, R.P., 2003. Time-dependent relationship between the dorsal hippocampus and the prefrontal cortex in spatial memory. *J. Neurosci.* 23, 1517-1523.

- Leranth, C., Hajszan, T. and MacLusky, N.J., 2004. Androgens increase spine synapse density in the CA1 hippocampal subfield of ovariectomized female rats. *J. Neurosci.* 24, 495-499.
- Leranth, C., Shanabrough, M. and Redmond, D.E. Jr., 2002. Gonadal hormones are responsible for maintaining the integrity of spine synapses in the CA1 hippocampal subfield of female nonhuman primates. *J. Comp. Neurol.* 447, 34-42.
- Li, Ch., Brake, W.G., Romeo, R.D., Dunlop, J.C., Gordon, M., Buzescu, R., Magarinos, A.M., Allen, P.B., Greengard, P.B., Luine, V. and McEwen, B., 2004. Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *PNAS.* 101, 2185-2190.
- Loose-Mitchel, D.S. and Stancel, G.M., 2001. Estrogens and progestins. In: Goodman and Gilman's. *The pharmacological basis of therapeutics.* Hardman, J.G. and Limbird, L.E. (Eds.). McGraw-Hill. USA. Pp. 58:1597-1634.
- López-Vázquez, M.A., Guevara, M.A., Olvera-Cortés, E. and González-Burgos, I. The firing of 5-HT-denervated prefrontal neurons is enhanced during short-term memory. *En preparación.*
- Luciana, M., Collins, P.F. and Depue, R.A., 1998. Opposing roles for dopamine and serotonin in the modulation of human spatial working memory functions. *Cereb. Cortex.* 8, 218-226.

- Luciana, M., Depue, R.A., Arbisi, P. and Leon, A., 1991. Facilitation of working memory in humans by a D2 dopamine receptor agonist. *J. Cognitive Neurosci.* 4, 58-68.
- Luine, V.N., 1997. Steroid hormone modulation of hippocampal dependent spatial memory. *Stress* 2, 21-36.
- Luine, V.N., Park, D., Joh, T., Reis, D. and McEwen, B., 1980. Immuno-chemical demonstration of increased choline acetyltransferase concentration in rat preoptic area after estradiol administration. *Brain Res.* 191, 273-277.
- Luine, V.N., Richards, S.T., Wu, V.Y. and Beck, K.D., 1998. Estradiol enhances learning and memory in a spatial memory task and effects levels of monoaminergic neurotransmitters. *Horm. Behav.* 34, 149-162.
- MacLusky, N.J., Naftolin, F. and Goldman-Rakic, P.S., 1986. Estrogen formation and binding in the cerebral cortex of the developing rhesus monkey. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 83, 513-516.
- Majewska, M.D., Harrison, N.L., Schwartz, R.D., Barker, J.L. and Paul, S.M., 1986. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science.* 232, 1004-1007.
- Matthews, J. and Gustafsson, J.A., 2003. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol. Intervent.* 3, 281-292.
- McDonald, J.R. and White, M.N., 1995. Hippocampal and nonhippocampal contributions to place learning in rats. *Behav. Neurosci.* 109, 579-593.

- McEntee, W.J. and Crook, T.H., 1991. Serotonin, memory and the aging brain. *Psychopharmacology*. 103, 143-149.
- McEwen, B., Akama, K., Alves, S., Brake, W.G., Bulloch, K., Lee, S., Li, Ch., Yuen, G. and Milner, T.A., 2001. Tracking the estrogen receptor in neurons: implications for estrogen-induced synapse formation. *PNAS*. 98, 7093-7100.
- McEwen, B.S. and Parson, B., 1982. Gonadal steroid action on the brain: neurochemistry and neuropharmacology. *Ann. Rev. Pharmac. Toxicol.* 22, 555-598.
- McEwen, B.S., 1991a. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity, *Trends Pharmacol. Sci.* 12, 141-147.
- McEwen, B.S., 1991b. Steroid hormones are multifunctional messengers to the brain. *Trends Endocrin. Metab.* 2, 62-67.
- McEwen, B.S., 1999. Clinical review 108. The molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. *J. Clin. Endocr. Metab.* 84, 1790-1797.
- McEwen, B.S., 2001. Genome and Hormones: Gender Differences in Physiology
Invited Review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 91, 2785-2801.
- Mellon, S.H. and Griffin, L.D., 2002. Neurosteroids: biochemistry and clinical significance. *Trends Endocr. Metab.* 13, 35-43.
- Mellon, S.H., 2001. Biosynthesis of neurosteroids and regulation of their synthesis. *Int. Rev. Neurob.* 46, 33-78.

- Mellon, S.H., Griffin, L.D. and Compagnone, N.A., 2001. Biosynthesis and action of neurosteroids. *Brain Res. Rev.* 37, 3-12.
- Miller, B.L. and Cummings, J.L., 1999. *The frontal lobes: Functions and disorders.* Guilford Press, New York.
- Mitwally, M.F.M. and Casper, R.F., 2004. Aromatase inhibitors in ovulation induction. *Semin. Reproduct. Med.* 22, 61-78.
- Muly, E.C., Smith, Y., Allen, P. And Greengard, P., 2004. Subcellular distribution of spinophilin immunolabeling in primate prefrontal cortex: localization to and within dendritic spines. *J Com Neurol* 469:185–197.
- Naftolin, F., 1994. Brain aromatization of androgens. *J. Reprod. Med.* 39, 257-261.
- Naftolin, F., Ryan, K.J. and Petro, Z. 1971. Aromatization of adrostenedione by the diencephalon. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33, 368–370.
- Naftolin, F., Ryan, K.J., Davies, I.J., Reddy, V.V., Flores, F., Petro, Z., Kuhn, M., White, R.J., Takaoka, Y. and Wolin, L., 1975. The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Recent. Prog. Horm. Res.* 31, 295-319.
- Nieoullon, A., 2002. Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Prog. Neurobiol.* 67, 53-83.
- O'Neal, M.F., Means, L.W., Poole, M.C. and Hamm, R.J., 1996. Estrogen affects performance of ovariectomized rats in a two-choice water-escape working memory task. *Psychoneuroendocrin.* 21, 51–65.

- Olton, D.S., Walker, J.A. and Gage, F.H., 1978. Hippocampal connections and spatial discrimination. *Brain Res.* 139, 295-308.
- Österlund, M.K. and Hurd, Y.L., 2001. Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Progr. Neurobiol.* 64, 251-267.
- Österlund, M.K., Gustafsson, J.A., Keller, E. and Hurd, Y.L., 2000. Estrogen receptor β (ER β) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression within the human forebrain: distinct distribution pattern to Eralpha mRNA. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 3840–3846.
- Packard, M.G., Kohlmaier, J.R. and Alexander, G.M., 1996. Posttraining intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: Interaction with cholinergic systems. *Behav. Neurosci.* 110, 626–632.
- Párducz, A., Perez, J. And Garcia-Segura, L.M., 1993. Estradiol induces plasticity of gabaergic synapses in the hypothalamus. *Neurosci.* 53, 295-401.
- Paul, S.M. and Purdy, R.H., 1992. Neuroactive steroids. *FASEB J.* 6, 2311–2322.
- Pazos, A. and Palacios, J.M., 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res.* 346, 205-230.
- Pérez-Vega, M.I., Feria-Velasco, A. and González-Burgos, I., 2000. Prefrontocortical serotonin depletion results in plastic changes of prefrontocortical pyramidal neurons, underlying a greater efficiency of short-term memory. *Brain Res. Bull.* 53, 291-300.

- Phillips, S. and Sherwin, B., 1992. Variations in memory functions and sex steroid hormones across the menstrual cycle. *Psychoneuroendocrin.* 17, 497–506.
- Poucet, B. and Benhamou, S., 1997. The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Crit. Rev. Neurobiol.* 11, 101-120.
- Poucet, B., 1993. Spatial cognitive maps in animals: new hypothesis on their structure and neural mechanisms. *Physiol. Rev.* 100, 163-182.
- Prange-Kiel, J. and Rune, G.M., 2006. Direct and indirect effects of estrogen on rat hippocampus. *Neurosci.* 138, 765–772.
- Ragozzino, M.E. and Kesner, R.P., 2001. The role of rat dorsomedial prefrontal cortex in working memory for egocentric responses. *Neurosci. Lett.* 308, 145-148.
- Reddy, D.S., 2004. Testosterone modulation of seizure susceptibility is mediated by neurosteroids 3α -androstenediol and 17β -estradiol. *Neurosci.* 129, 195-207.
- revista.cecm.usp.br/arquivo/2006fev/artigos/memoria_p2
- Rissanen, A., Poulivali, J. van Groen, T. and Reikkinen, P. Jr., 1999. In mice tonic estrogen replacement therapy improves non-spatial and spatial memory in water maze task. *NeuroReport.* 10, 1369-1372.
- Rodriguez, M. and Afonso, D., 1993. Ontogeny of T-maze behavioral lateralization in rats. *Physiol. Behav.* 54, 91-94.

- Rolls, E.T. and Kesner, R.P., 2006. A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Prog. Neurobiol.* 79, 1–48.
- Roselli, C.E. and Resko, J.A., 2001. Cytochrome P450 aromatase (CYP19) in the non-human primate brain: distribution, regulation and functional significance. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 79: 247–253.
- Rupprecht, R. 1997. The neuropsychopharmacological potential of neuroactive steroids, *J. Psychiatr. Res.* 31, 297–314.
- Rupprecht R. and Holsboer, F., 1999. Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. *Trends Neurosci.* 22, 410–416.
- Saleh, T.M., Connell, B.J., McQuaid, T. and Cribb, A.E., 2003. Estrogen-induced neurochemical and electrophysiological changes in the parabrachial nucleus of the male rat. *Brain Res.* 990, 58-65.
- Schieweck, K., Bhatangar, A.S., Batzl, C.H. and Lang, M., 1993. Anti-tumor and endocrine effects of non-steroidal aromatase inhibitors on estrogen-dependent rat mammary tumors. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 44, 633–636.
- Schmitt, W.B., Deacon, R.M., Reisel, D., Sprengel, R., Seeburg, P.H., Rawlins, J.N., Bannerman, D.M., 2004. Spatial reference memory in GluR-A-deficient mice using a novel hippocampal-dependent paddling pool escape task. *Hippocampus.* 14, 216-23.
- Segal, M. and Murphy, D., 2001. Estradiol induces formation of dendritic spines in hippocampal neurons: functional correlates. *Horm. Behav.* 40, 156-159.

- Segal, M., 1995. Morphological alterations in dendritic spines of rat hippocampal neurons exposed to N-methyl-D-aspartate. *Neurosci. Lett.* 193, 73-76.
- Shaywitz, S.E., Shaywitz, B.A. and Pugh, K.R., 1999. Effect of estrogen on brain activation patterns in postmenopausal women during working memory tasks. *JAMA.* 281, 1197-1202.
- Shen, J., Barnes, C.A., Wenk, G.L. and McNaughton, B.L., 1996. Differential effects of selective immunotoxic lesions of medial septal cholinergic cells on spatial working and reference memory. *Behav. Neurosci.* 110, 1181-1186.
- Sherwin, B.B., 2003. Steroid hormones and cognitive functioning in aging men: a mini-review. *J. Mol. Neurosci.* 20, 385-393.
- Shughrue, P.J. and Merchenthaler, I., 2000. Estrogen is more than just a “sex hormone”: Novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex. *Front. Neuroendocrinol.* 21, 95-101.
- Simpson, E.R. and Davis, R., 2001. Minireview: Aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis—some new perspectives. *Endocrinol.* 142, 4589-4594.
- Sioufi, A., Gauducheau, N., Pineau, V., Marfil, F., Jaouen, A., Cardot, J.M., Godbillon, J., Czendlik, C., Howald, H., Pfister, C. and Vreeland, F., 1997. Absolute bioavailability of letrozole in healthy postmenopausal women. *Biopharm. Drug Disp.* 18, 779-789. In: Goodman and Gilman's, 2001. *The pharmacological basis of the therapeutics.* McGraw-Hill. Hardman, J.G. and Limbird, L.E. (Eds). 10th edition. Pp. 1974.

- Sinopoli, K.J., Floresco, S.B. and Galea, L.A.M., 2006. Systemic and local administration of estradiol into the prefrontal cortex or hippocampus differentially alters working memory. *Neurob. Learn. Mem.* In press.
- Snyder, P.J., 2001. Androgens. En: Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. Hardman, J.G. and Limbird, L.E. (Eds.). McGraw-Hill. USA. Pp. 59:1635-1648.
- Squire, L.R., 1986. Mechanims of memory. *Science*. 232:1612-1618.
- Stoffel-Wagner, B., 2003. Neurosteroid biosynthesis in the human brain and its clinical implications. *Ann New York Acad Sci*. 1007, 64-78.
- Stoffel-Wagner, B., Watzka, M., Schramm, J., Bidlingmaier, F. and Klingmuller, D., 1999. Expression of CYP19 (aromatase) mRNA in different areas of the human brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 70, 237-241.
- Sumner, B.E.H. and Fink, G., 1995. Estrogen increases the density of 5-hydroxytryptamine _{2A} receptors in cerebral cortex and nucleus accumbens in the female rat. *J. Steroid Molec. Biol.* 54, 15-20.
- Tanapat, P., Hastings, N.B., Reeves, A.J. and Gould, E., 1999. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J. Neurosci* 19, 5792-5801.
- Tang, Y., Janssen, W.G.M., Hao, J., Roberts, J.A., McKay, H., Lasley, B., Allen, P.B., Greengard, P., Rapp, P.R., Kordower, J.H., Hof, P.R., Morrison, J.H., 2004. Estrogen replacement increases spinophilin-immunoreactive spine number in the prefrontal cortex of female rhesus monkeys. *Cerebral Cortex* 14, 215-223.

- Tinkler, G.P., Tobin, J.R. and Voytko, M.L., 2004. Effects of two years of estrogen loss or replacement on nucleus basalis cholinergic neurons and cholinergic fibers to the dorsolateral prefrontal and inferior parietal cortex of monkeys. *J. Comp. Neurol.* 469, 507–521.
- Tolman, E.C., 1948. Cognitive maps in rats and men. *Psychol. Rev.* 55,189-208.
- Tulving, E., 2000. Concepts of memory. In: E. Tulving and F.I.M. Craik (Eds.), *The Oxford handbook of memory*. New York: Oxford University Press. pp. 33-43.
- Trunet, P.F., Mueller, P.H., Bhatnagar, A.S., Dickes, I., Monnet, G. and White, G., 1993. Open dose-finding study of a new potent and selective nonsteroidal aromatase inhibitor, CGS 20 267, in healthy male subjects. *J. Clin. Endocr. Metab.* 77, 319-323.
- Van Eden, C.G., Lamme, V.A.F. and Uylings, H.B.M., 1992. Heterotopic cortical afferents to the medial prefrontal cortex in the rat. A combined retrograde and anterograde tracer study. *E. J. Neurosci.* 4, 77-97.
- Van der Zee, E.A. and Luiten, P.G.M., 1999. Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. *Prog. Neurobiol.* 58, 409-471.
- VanderHols, V.G. and Holstege, G., 1997. Estrogen induces axonal outgrowth in the nucleus retroambiguus-lumbosacral motoneuronal pathway in the adult female rats

- Varga, 2002. Weak if any effect of estrogen on spatial memory rats. *Acta Biolog. Szegedien.* 46, 13-16.
- Veiga, S., García-Segura, L.M. and Azcoitia, I., 2004. Propiedades neuroprotectoras de los esteroides sexuales y los neuroesteroides. *Rev. Neurol.* 39 (11): 1043-1051.
- Warren, S.G. and Juraska, J.M., 1997. Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behav. Neurosci.* 111, 259-266.
- Weihua, Z., Saji, S., Mäkinen, S., Cheng, G., Jensen, E.V., Warner, M. and Gustafsson, J.A., 2000. Estrogen receptor ER β , a modulator of ER α in the uterus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97, 5936-5941.
- Weiland, N.G., 1992a. Estradiol selectively regulates agonist binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor complex in the CA1 region of the hippocampus. *Endocr.* 131, 2:662-668.
- Weiland, N.G., 1992b. Glutamic acid decarboxylase messenger ribonucleic acid is regulated by estradiol and progesterone in the hippocampus. *Endocr.* 131, 2697-2702.
- Wilson, I.A., Poulivali, J., Heikkinen, T. and Reikkinen, P. Jr., 1999. Estrogen and NMDA receptor antagonism: effects upon reference and working memory. *Eur. J. Pharmacol.* 381, 93-99.

- Wolf, O.T., Kudielka, B.M., Hallhammer, D.H., Torber, S., McEwen, B.S. and Kirschbaum, C., 1999. Two weeks of transdermal estradiol treatment in postmenopausal elderly women and its effect on memory and mood: verbal memory changes are associated with the treatment induced estradiol levels. *Psychoneuroendocr.* 24, 727–741.
- Wong, M. and Moss, R.L., 1992. Long-term and short-term electrophysiological effects of estrogen on the synaptic properties of hippocampal CA1 neurons. *J. Neurosci.* 12, 3217-3225.
- Woolley, C.S., 1998. Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm. Behav.* 34, 140-148.
- Woolley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M. and McEwen, B.S., 1990. Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 10, 4035-4039.
- Woolley, C. and McEwen, B., 1994. Estradiol regulates hippocampal dendritic spine density via an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism. *J. Neurosci.* 14, 7680-7687.
- Woolley, C.S., 1999. Electrophysiological and cellular effects of estrogen on neuronal function. *Crit. Rev. Neurobiol.* 13, 1–20.
- Woolley, C.S., Weiland, N.G., McEwen, B.S. and Schwartzkroin, P.A., 1997. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input: correlation with dendritic spine density. *J. Neurosci.* 17, 1848 –1859.

Wyss, U.M., 1981. An autoradiographic study of the efferent connections of the entorhinal cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 199, 495-512.

www.a14.san.gva.es/labm/IA.htm

www.hybridmedicalanimation.com/illust_brainLobes.html

Yankova, M., Hart, S.A. and Woolley, C., 2001. Estrogen increases synaptic connectivity between single presynaptic inputs and multiple postsynaptic CA1 pyramidal cells: a serial electron-microscopic study. *PNAS.* 98, 3525-3530.

Yuste, R., Majewska, S.S. and Denk, W., 1999. Mechanisms of calcium influx into hippocampal spines: heterogeneity among spines, coincidence detection by NMDA receptors, and optical quantal analysis. *J. Neurosci.* 19, 1967-1987.

Zhou, F.M. and Hablitz, J., 1999. Activation of serotonin receptors modulates synaptic transmission in rat cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 82, 2989-2999.