

Efectos de fármacos sobre la conducta y el aprendizaje del ratón Ts65Dn, un modelo de síndrome de Down

Por Carmen Martínez-Cué, Noemí Rueda y Jesús Flórez

EN RESUMEN | La disponibilidad de modelos animales de síndrome de Down permite ensayar la utilidad de determinados productos químicos que, basados en los hallazgos patogenéticos que se van conociendo, pueden ofrecer algunos resultados beneficiosos. El presente trabajo ofrece los resultados obtenidos con varios fármacos sobre la conducta y ciertas formas de aprendizaje en el ratón Ts65Dn, el modelo de síndrome de Down más conocido y utilizado: el SGS-111 por su acción antioxidante; la memantina por su capacidad para antagonizar al glutamato y mejorar algunos aspectos de la enfermedad de Alzheimer; el donepezilo por su capacidad para incrementar la actividad colinérgica en el cerebro; y el pentilenetetrazol por su capacidad de bloquear la acción inhibitoria del GABA. De todos ellos, la memantina y el pentilenetetrazol han mostrado la acción más beneficiosa.

CARMEN MARTÍNEZ-CUÉ

Es Contratada - Doctora en el Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo de la Universidad de Cantabria. Correo-e: martienc@unican.es

raleza transgénica y otros de naturaleza trisómica. Todos ellos son valiosos y ofrecen ricas posibilidades para el análisis; adecuadamente combinados, se complementan y aportan datos de extraordinario interés. El más ampliamente utilizado es un ratón que contiene una trisomía parcial de su cromosoma6: el ratón Ts65Dn (Reeves y Garner, 2007). Este ratón es trisómico para casi la mitad de los genes murinos equivalentes a los del cromosoma 21 humano, incluidos los que se encuentran en la llamada “región crítica del síndrome de Down”. Entre los genes triplicados en este segmento se encuentran: APP, que está implicado en la patología de la enfermedad de Alzheimer; SOD1, que interviene en el estrés oxidativo y Dyrk1A que está implicado en el proceso de neurogénesis y en la alteración del aprendizaje que aparece en el síndrome de Down y en el ratón Ts65Dn (Gardiner et al., 2003).

INTRODUCCIÓN

Como era de esperar, la disponibilidad de modelos animales de síndrome de Down para trabajar en los laboratorios de investigación ha provocado la eclosión de resultados científicos de extraordinario calado. Porque no sólo permiten conocer con mayor profundidad las peculiaridades biológicas de este síndrome sino que se están prestando a ensayar diversas moléculas que puedan mejorar algunas de las formas de conducta y aprendizaje. Junto a los indudables y valiosos resultados de las intervenciones educativas, empezamos a vislumbrar también soluciones terapéuticas de naturaleza farmacológica.

Existen ya muchos modelos de ratón para el síndrome de Down, unos de natu-

El ratón trisómico comparte con las personas con síndrome de Down muchas características fenotípicas. En lo que se refiere al desarrollo y funciones de las estructuras craneales y cerebrales, son de destacar la dismorfología de la estructura craneofacial, comparable a la del síndrome de Down que es tan característica, en la que los mismos huesos craneofaciales afectados en el síndrome de Down lo son también en el ratón (Richtsmeier et al., 2000, 2002). En cuanto al desarrollo y funciones del cerebro, son muchas las similitudes que se resumen en el cuadro 1.

[Cuadro 1]. ALTERACIONES EN EL DESARROLLO Y FUNCIONES DEL CEREBRO EN EL RATÓN TS65DN, SIMILARES A LAS DEL SÍNDROME DE DOWN

A. Alteraciones neuromorfológicas

- menor desarrollo y tamaño del cerebelo (Baxter et al., 2000)
- menor densidad neuronal en el cerebelo (Baxter et al., 2000) e hipocampo (Insausti et al., 1998; Kurt et al., 2004)
- degeneración edad-dependiente de neuronas colinérgicas en el telencéfalo basal (Granholm et al., 2000)
- alteraciones en el número y morfología de las sinapsis y espinas dendríticas (Kurt et al., 2000, 2004; Dierssen et al., 2003; Belichenko et al., 2004)
- alteraciones en la neurogénesis (Rueda et al., 2005)

B. Alteraciones neuroquímicas

- menor eficacia de los sistemas de señalización de la adenilil ciclasa y fosfolipasa C (Dierssen et al., 1996, 1997; Lumbreras et al., 2006)
- reducción del transporte retrógrado del factor de crecimiento nervioso (NGF) desde el hipocampo a las neuronas colinérgicas del telencéfalo basal (Cooper et al., 2001; Salehi et al., 2006)

C. Alteraciones electrofisiológicas

- modificación en la potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD) (Siarey et al., 1997, 1999, 2006; Kleschevnikov et al., 2004)

D. Alteraciones conductuales y cognitivas

- modificaciones en la sensibilidad dolorosa (Martínez-Cué et al., 1999)
- reducción en los procesos de memoria y aprendizaje (Reeves et al., 1995; Escorihuela et al., 1995; 1998; Demas et al., 1996; Holtzman et al., 1996; Granholm et al., 2000; Hunter et al., 2003; Wenger et al., 2004; Martínez-Cué et al., 2002)

Desde el año 1995, el Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo de la Universidad de Cantabria ha contribuido a analizar las características del ratón Ts65Dn. Algunos de los hallazgos indicados en el cuadro 1 han sido obtenidos en este Laboratorio. En los últimos años, su esfuerzo ha sido dirigido a evaluar diversas posibilidades terapéuticas en este modelo de síndrome de Down. Inicialmente se analizó el valor terapéutico del enriquecimiento ambiental (Martínez-Cué et al., 2002; 2005; Dierssen et al., 2003). Posteriormente se ha pasado a evaluar la capacidad que diversas moléculas químicas puedan tener para mejorar las alteraciones cognitivas encontradas en el ratón trisómico. A continuación exponemos resumidamente nuestros principales hallazgos.

ESTUDIO I: EFECTOS DE LA MOLÉCULA SGS-III SOBRE EL APRENDIZAJE, LA CONDUCTA Y LA NEUROGÉNESIS DEL RATÓN Ts65Dn

En primer lugar, evaluamos los efectos de la administración crónica de la sustancia antioxidante SGS-III sobre las alteraciones de aprendizaje y neurogénesis encontrados en el ratón Ts65Dn

que en adelante llamaremos TS. La razón de investigarlo parte del hecho de que, tanto en el síndrome de Down como en el ratón TS el gen SOD1 está sobreexpresado (Gardiner et al., 2003); este gen responsable de la formación de la enzima superóxido dismutasa 1 (SOD1), la cual se encarga de transformar ciertos radicales libres de oxígeno hacia la formación de peróxido de hidrógeno, lo que conlleva a la alteración del metabolismo, a una transformación maligna o directamente a la muerte neuronal. Tanto en el síndrome de Down como en el ratón TS hay datos que demuestran un incremento en la producción de superóxido mitocondrial (Capone et al., 2002). Por eso en el síndrome de Down algunas células están bajo permanente amenaza de estrés oxidativo, lo que facilita su envejecimiento y muerte (Busciglio y Yankner, 1995).

Se observó que el producto SGS-111 es un fármaco que tiene propiedades neuroprotectoras y que mejora la cognición en numerosos modelos animales con alteraciones cognitivas (Gudasheva et al., 1996; Ostrovskaya et al., 1997; 1999; Romanova et al., 1996). Además, recientemente Pelsman et al. (2003) demostraron en cultivos de neuronas obtenidas de la corteza cerebral de fetos con síndrome de Down que el SGS-111 tiene propiedades neuroprotectoras y antioxidantes.

Por todo ello, en nuestro estudio nos propusimos evaluar el efecto de la administración crónica de este antioxidante sobre el aprendizaje y sobre la neurogénesis en el ratón Ts65Dn. Para ello lo administramos a ratones TS y ratones control (CO) adultos durante 6 semanas y realizamos una batería de pruebas conductuales. Por otro lado, dado que el estrés oxidativo puede ejercer un efecto desde etapas tempranas del desarrollo, administramos también SGS-111 a un grupo de hembras TS reproductoras desde el momento de la concepción y durante toda la gestación, y después seguimos haciéndolo a sus crías TS y CO durante toda su vida hasta terminar la realización de las pruebas conductuales.

En primer lugar, se valoró el efecto del SGS-111 sobre la *neurogénesis hipocampal* de ratones TS y CO tratados durante la edad adulta y de ratones TS y CO machos y hembras tratados durante las etapas pre- y post-natal. Confirmamos nuestros resultados previos de que los ratones TS presentaban menor neurogénesis (Rueda et al., 2006). La administración crónica de SGS-111 durante la etapa adulta no tuvo ningún efecto sobre la proliferación o sobre la supervivencia celular. Sin embargo, en aquellos ratones tratados durante las etapas pre- y post-natales, la administración de SGS-111 hizo que la diferencia en neurogénesis entre ratones TS y CO fuera menor.

Pasamos después a estudiar todo un conjunto de pruebas conductuales en las que se valoró el efecto del SGS-111 sobre la actividad locomotora, habilidades sensoriales, exploración y aprendizaje y memoria en los ratones TS y CO.

En primer lugar se valoró el efecto sobre la *actividad locomotora espontánea* de los ratones en su jaula habitual. El tratamiento SGS-111 no modificó la actividad locomotora de los machos, pero hizo que las hembras tratadas desde la gestación fueran menos activas. A continuación valoramos su acción sobre una serie de *habilidades sensorimotoras* que comprendían la visión, respuesta de sobresalto, sensibilidad táctil, fuerza, equilibrio y coordinación motora. El fármaco no alteró ninguna habilidad sensorimotora en ratones TS o CO cuando se administró durante la edad adulta o durante toda la vida del animal.

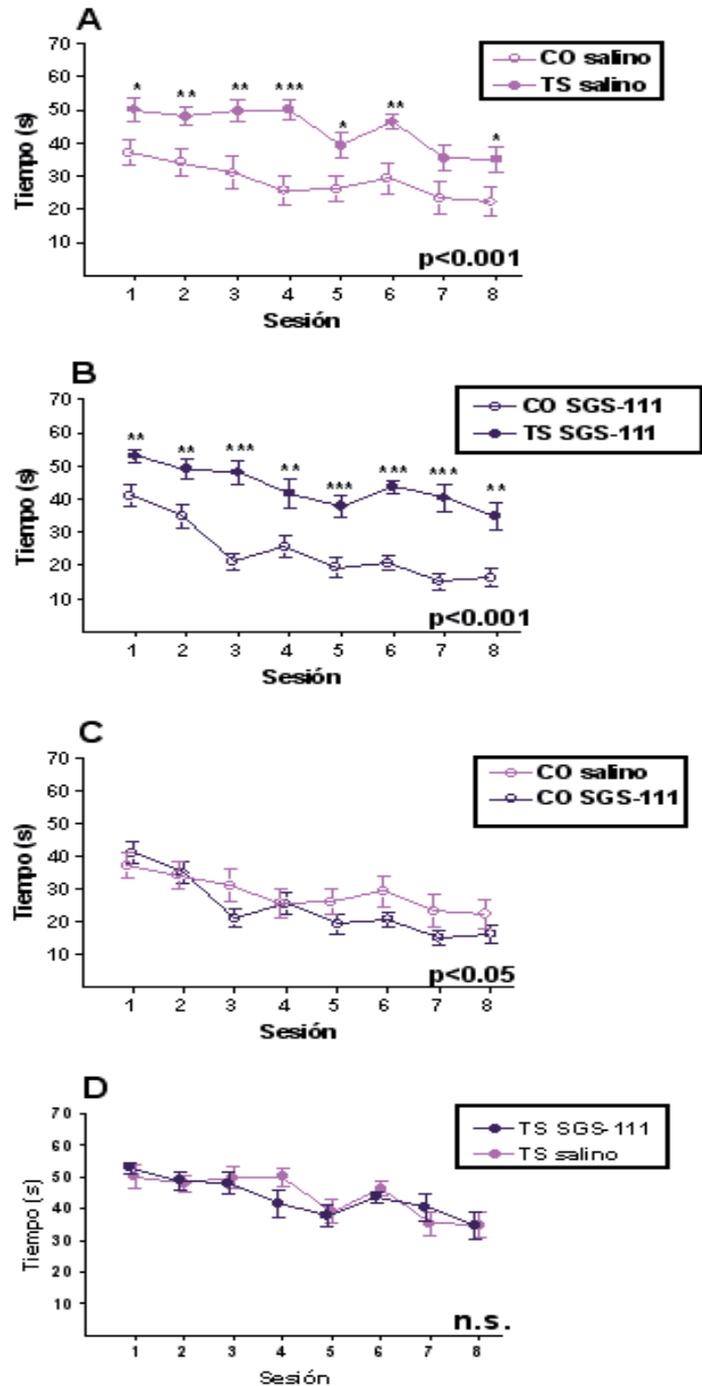
Utilizamos la prueba del campo abierto para valorar los efectos de la administración crónica de SGS-111 sobre la *actividad locomotora y la ansiedad*. Esta prueba está basada en la ansiedad que sienten los roedores en espacios abiertos. Se coloca al animal en una superficie plana con cuatro paredes y se evalúa su actividad general así como el tiempo que pasa en el centro de la superficie o pegado a las paredes. Cuanto más ansioso sea un animal menos va a deambular por el centro y más se va a quedar cerca de las paredes. En ninguno de los grupos de ratones machos tratados encontramos diferencias en ansiedad, pero las hembras TS tratadas con salino se mostraron menos ansiosas ya que deambularon más por el centro del aparato que el resto de grupos de hembras. Por otro lado, los ratones TS tratados con salino durante la edad adulta y las hembras TS tratadas desde la concepción se mostraron hiperactivos ya que realizaron más deambulación horizontal y vertical. El tratamiento crónico con SGS-111 hizo desaparecer esta hiperactividad.

Utilizamos la prueba de la tabla de agujeros para evaluar el efecto sobre la exploración y la atención del animal. En esta prueba se coloca al animal en una superficie con 4 agujeros y se mide la actividad general, el número de veces que explora los agujeros y el tiempo que pasa explorándolos. Los ratones TS tratados realizaron más deambulaciones y exploraciones pero el tratamiento con el antioxidante no tuvo ningún efecto sobre la exploración o sobre la atención.

Para descartar el efecto del SGS-111 sobre la coordinación motora se realizó la prueba del rotarod. En esta prueba se coloca a los animales sobre un rodillo que gira progresivamente a más velocidad y se evalúa el tiempo que tardan en caer del aparato a distintas velocidades, cuanto antes caigan peor es su coordinación motora. En estas condiciones no encontramos diferencias en coordinación motora entre ratones TS y CO machos bajo ambos tratamientos. Sin embargo la administración de SGS-111 deterioró la coordinación motora de las hembras.

Para evaluar el efecto del tratamiento crónico con este antioxidante sobre el aprendizaje y memoria espacial, utilizamos el laberinto acuático de Morris. En esta prueba, el animal tiene que aprender y recordar la manera de escapar de una situación desagradable: un tanque de agua. Se coloca a los ratones en este tanque en el que hay una plataforma escondida dos centímetros por debajo del nivel del agua, a la que los animales se pueden subir para escapar del agua. A lo largo de los días, los animales van aprendiendo dónde está colocada esta plataforma: cuanto mayor sea la capacidad de aprendizaje y memoria del ratón menos tiempo tardará en localizar esta plataforma y menos distancia recorre para llegar a ella. Así que el tiempo que tardan los animales y la distancia que recorren para alcanzar la plataforma nos da una idea de las capacidades de aprendizaje y memoria de los animales. Los ratones TS tratados con solución salina (figura 1A) tuvieron más dificultades para aprender y recordar la localización de la plataforma. El tratamiento con SGS-111 hizo mejorar ligeramente el aprendizaje de los machos CO (figura 1C) pero no tuvo ningún efecto sobre el de los machos TS (figura 1D). En hembras, las TS tratadas con salino o con SGS-111 mostraron la misma dificultad que las TS tratadas con salino para aprender la localización de la plataforma. El tratamiento con este antioxidante no mejoró el aprendizaje de las TS o de las CO.

En resumen, la administración de SGS-111 no ejerció ningún efecto sobre las habilidades sensorimotoras de los distintos grupos de ratones TS o CO. Sin embargo, el SGS-111 deterioró la coordinación motora de las hembras y redujo su actividad locomotora en su jaula habitual, en la tabla de agujeros y en el campo abierto. La

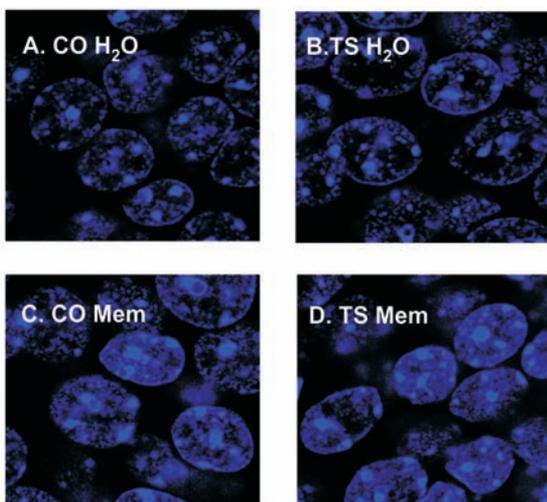
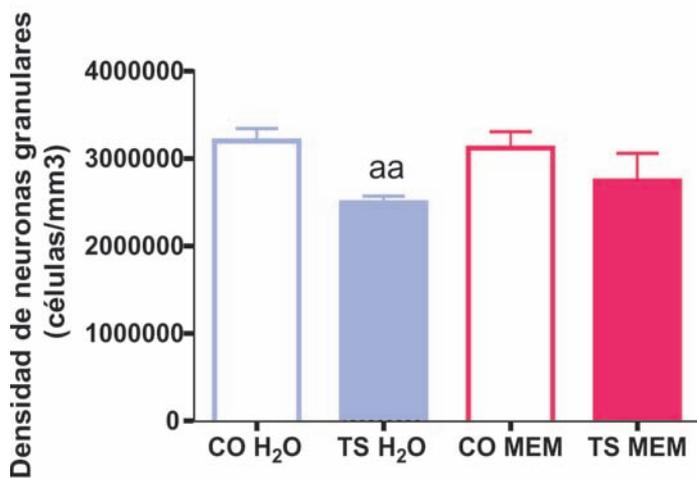


[Figura 1] Media \pm E.E.M. de la latencia para encontrar la plataforma durante las sesiones de adquisición de los ratones TS y CO tratados con salino (A) y con SGS-111 (B); y de los machos CO (C) y TS (D) tratados con SGS-111 y con salino durante las etapas pre- y post- natal en el laberinto acuático de Morris (*: $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Prueba t de Student tras ANOVA significativo. En la esquina inferior derecha de cada gráfica se muestra la significación (ANOVA) tras la comparación entre cada par de curvas.

INVESTIGACIÓN

EFFECTOS DE FÁRMACOS SOBRE LA CONDUCTA Y EL APRENDIZAJE DEL RATÓN Ts65Dn, UN MODELO DE SÍNDROME DE DOWN

Densidad de neuronas granulares en el giro dentado



[Figura 2] Media ± E.E.M. de la densidad de neuronas granulares de ratones TS y CO tratados con memantina o con agua (arriba) e imágenes representativas (abajo) de la inmunohistoquímica de DAPI (neuronas granulares) de ratones CO (A) y TS (B) tratados con agua y de ratones CO (C) y TS (D) tratados con memantina. aa: p<0.01 TS vs. CO pruebas t de Student tras ANOVA significativo.

administración de SGS-III mejoró ligeramente el aprendizaje de los machos CO pero no tuvo ningún efecto sobre el aprendizaje de los machos o hembras TS, tanto cuando fue administrado durante la vida adulta del animal como cuando fue administrado desde la gestación (Rueda et al., 2008).

ESTUDIO II: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE MEMANTINA SOBRE EL APRENDIZAJE, LA DEGENERACIÓN NEURONAL Y LA EXPRESIÓN DE APP EN EL RATÓN Ts65Dn

Todas las personas con síndrome de Down desarrollan neuropatología tipo Alzheimer incluyendo degeneración neuronal, depósitos extraneuronales de la proteína βamiloide (Aβ) y ovillos neurofibrilares (Mann, 1988; Mann y Esiri, 1989), debido en parte a la sobreexpresión del gen APP (Gardiner et al., 2003) que se encuentra en el cromosoma 21.

Una de las teorías para explicar las alteraciones encontradas en la enfermedad de Alzheimer es que éstas están causadas por la sobreactividad de los receptores NMDA y la neurotoxicidad ocasionada por la elevada concentración de glutamato (Arendt et al., 1998; Ouimet et al., 1994). Por ello, una de las líneas terapéuticas utilizadas en la enfermedad de Alzheimer es la utilización de antagonistas de los receptores NMDA que puedan bloquear la acción prolongada del glutamato, y proporcionar así neuroprotección. Uno de los antagonistas es la memantina que se comporta como antagonista no competitivo o agonista parcial, con afinidad moderada por el receptor NMDA. La memantina protege de los efectos del glutamato in vivo e in vitro. La administración de memantina protege de la degeneración producida por la administración de Aβ (1-40) (Miguel-Hidalgo et al., 2002), disminuye los signos de estrés oxidativo (Pietá-Dias et al., 2007) y mejora el aprendizaje en modelos animales con alteraciones del aprendizaje, incluidos modelos de enfermedad de Alzheimer (Tg APP/PS1) (Zajaczkowski et al., 1996; Wenk et al., 1997; Minkeviciene et al., 2004). Además, numerosos estudios clínicos en pacientes con enfermedad de Alzheimer demuestran que la memantina produce ligera mejoría en las funciones cognitivas (véase Flórez, 2007).

Nos propusimos, pues, estudiar si la administración crónica de memantina a animales TS de edad avanzada podía: a) paliar las alteraciones cognitivas y neuromorfológicas de estos animales y b) revertir el incremento en la expresión de APP encontrada en estos animales.

Los animales TS presentaron un incremento en la expresión de APP en la corteza y en el hipocampo. La memantina hizo que desapareciera esta diferencia en la corteza. En el hipocampo, la administración de memantina también redujo significativamente la expresión de APP, sobre todo en ratones controles.

Medimos la densidad de sinapsis glutamatérgicas. Encontramos una disminución en el número de sinapsis glutamatérgicas en el hipocampo de los ratones TS. La administración crónica de memantina consiguió normalizar el número de sinapsis glutamatérgicas de estos animales. Pero, además, los ratones TS mostraban menor densidad de neuronas granulares en el hipocampo. La memantina redujo la diferencia entre ratones TS y CO (figura 2).

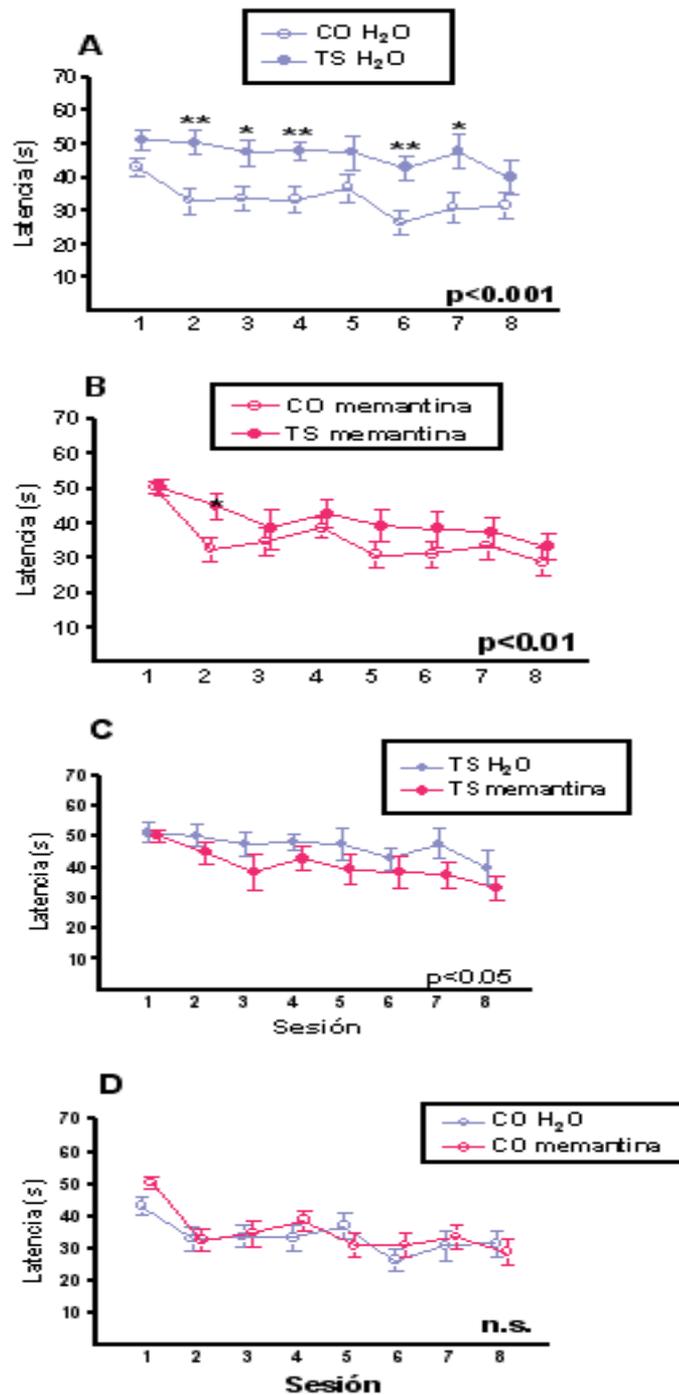
Evaluamos los efectos de la administración de memantina sobre las habilidades sensorimotoras, actividad, exploración, ansiedad y aprendizaje espacial. La memantina no alteró la actividad espontánea, las habilidades sensorimotoras o la coordinación motora de los ratones TS o CO. Tampoco afectó la ansiedad, actividad, exploración o atención de los ratones TS en las pruebas del campo abierto o de la tabla de agujeros.

Los ratones TS que habían sido tratados con agua mostraron más dificultad para aprender la localización de la plataforma que los CO (figura 3A). Pero el tratamiento con memantina consiguió disminuir la diferencia en la capacidad de aprendizaje entre los ratones TS y CO (figura 3B). De hecho, la administración de memantina mejoró significativamente el aprendizaje de los ratones TS (figura 3C), aunque no la de los CO (figura 3D).

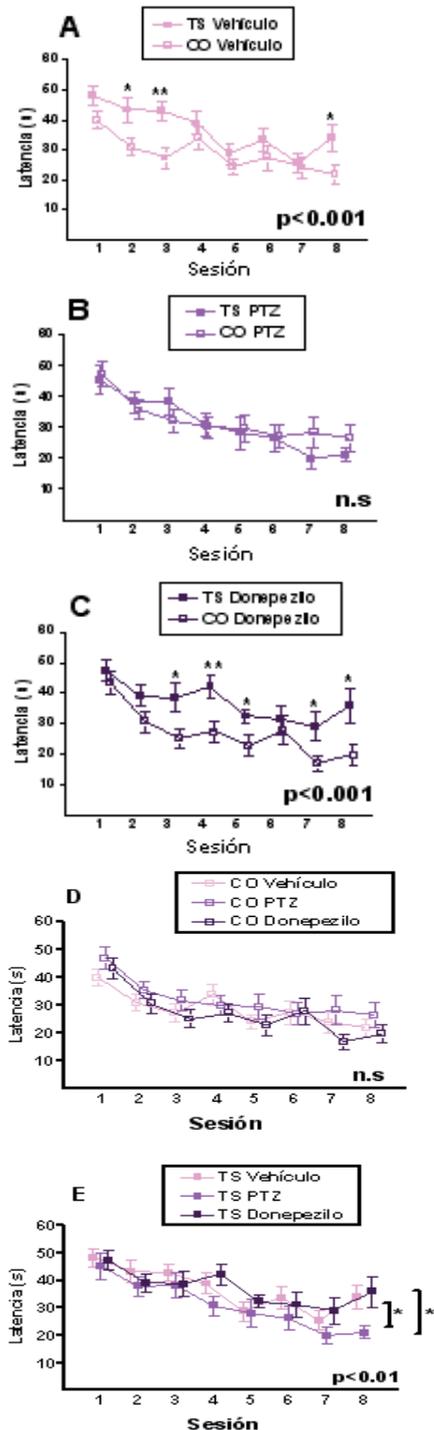
En conclusión, la administración de memantina mejoró las capacidades de aprendizaje de los ratones TS, si bien no modificó la actividad general, la conducta en la tabla de agujeros o en el campo abierto, las habilidades sensorimotoras o la coordinación motora de estos ratones.

Adicionalmente, los animales TS mostraron un incremento en la expresión de APP en corteza e hipocampo y la administración de memantina redujo esta expresión de APP. Además, los ratones TS presentaban menos sinapsis excitatorias. La administración de memantina normalizó esta variable pero redujo el número de sinapsis excitatorias en machos controles. La administración de memantina también redujo la diferencia entre ratones TS y CO en el número de neuronas granulares.

Por lo tanto, los beneficios encontrados en la cognición de los animales TS tratados con memantina podrían ser debidos a que este fármaco reduce la expresión de APP, normaliza las sinapsis excitatorias o frena la degeneración de neuronas granulares en el hipocampo.



[Figura 3] Media \pm E.E.M. de la latencia para encontrar la plataforma en machos TS y CO tratados con H₂O (A) y memantina (B) y de machos TS (C) y CO (D) tratados con memantina y con H₂O durante las sesiones de adquisición en el laberinto acuático de Morris. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ TS vs CO, prueba t de Student tras ANOVA significativo. En la esquina inferior derecha de cada gráfica se muestra la significación (ANOVA) tras la comparación entre cada par de curvas.



[Figura 4] Media \pm E.E.M. de la latencia para encontrar la plataforma durante las sesiones de adquisición de los ratones TS y CO tratados con vehículo (A), pentilenetetrazol (B) y donepezilo (C) y de los distintos grupos de ratones CO (D) y TS (E) bajo los tres tratamientos en el laberinto acuático de Morris. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, Prueba t de Student tras ANOVA significativo.

ESTUDIO III: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE DONEPEZILO Y DE PENTILENETETRAZOL SOBRE EL APRENDIZAJE DEL RATÓN Ts65Dn

Las personas con síndrome de Down tienen 5 veces más probabilidades de desarrollar demencia y, como se ha dicho anteriormente, presentan neuropatología idéntica a la de la enfermedad de Alzheimer (Zigman et al., 1995). La degeneración de las neuronas colinérgicas que se encuentra tanto en la enfermedad de Alzheimer como en el síndrome de Down ha hecho sugerir que los tratamientos farmacológicos dirigidos a incrementar la actividad del sistema colinérgico podrían atenuar el grado de demencia en enfermedad de Alzheimer (Smith y Swash, 1978). El tratamiento más utilizado para este tipo de demencia es la administración de inhibidores de la acetilcolinesterasa, que aumentan la transmisión colinérgica. El donepezilo es un fármaco de este tipo, que produce mejorías cognitivas en pacientes con demencia en la enfermedad de Alzheimer (v. Flórez 2007). También se ha observado que la administración de donepezilo a personas con síndrome de Down produce una mejoría en funcionamiento global, habilidades cognitivas (Kishnani et al., 1999; Lott et al., 2002; Prasher et al., 2002; 2003; Kondoh et al., 2005) y habilidades lingüísticas (Heller et al., 2003; 2004).

Por otro lado, varios estudios recientes han sugerido que las alteraciones en aprendizaje y memoria observadas en el ratón TS podrían ser debidas a un predominio de la actividad inhibitoria sobre circuitos neuronales. El ratón TS presenta una disminución en el número de sinapsis excitatorias (Kurt et al., 2000; 2004). Además, en este ratón, el fenómeno de la potenciación a largo plazo está reducido como consecuencia de un incremento en la actividad inhibitoria dependiente del neurotransmisor GABA (Kleschevnikov et al., 2004; Costa y Gribko 2005). Es decir, disminuye la actividad excitatoria y aumenta la acción inhibitoria: hay un claro desequilibrio a favor de los sistemas que inhiben la actividad de los circuitos.

Pues bien, recientemente se ha demostrado que la administración de sustancias que antagonizan el receptor GABAA y que, por tanto, reducen la actividad nerviosa de carácter inhibitorio, normalizaba la cognición del ratón TS en la prueba de reconocimiento de objetos (Fernandez et al., 2007). Dada la relevancia de estos hallazgos, nuestro se dirigió a comprobar resultados, y a ampliarlos estudiando los efectos de la administración del antagonista de este receptor, el pentilenetetrazol (PTZ; cardiazol), sobre otros aspectos cognitivos

distintos que sabemos que están alterados en el ratón TS, y compararlos con los efectos de uno de los fármacos que parece mejorar algunos de los déficits cognitivos en personas con síndrome de Down: el donepezilo.

En el presente estudio la administración de donepezilo o de pentilnetetrazol no modificó la actividad locomotora espontánea o las habilidades sensorimotoras de los ratones TS o CO.

En el campo abierto el tratamiento con donepezilo o con PTZ tampoco modificó la ansiedad de los animales TS o CO. Además, el tratamiento con pentilnetetrazol no ejerció ningún efecto sobre la actividad de los ratones TS o CO en el campo abierto o en la tabla de agujeros. Sin embargo, tras el tratamiento con donepezilo, los ratones TS presentaron mayor actividad que los CO en ambas pruebas.

En el laberinto acuático de Morris, los ratones TS tratados con donepezilo seguían mostrando la misma dificultad para recordar la localización de la plataforma (**figura 4C**) que la que mostraban los que no habían recibido ningún tratamiento (**figura 4A**). Sin embargo, el pentilnetetrazol normalizó completamente el aprendizaje de los ratones TS se (**figura 4B**), ya que los ratones TS tratados con PTZ mostraban la misma capacidad de recordar la localización de la plataforma que los CO. Aunque el tratamiento con donepezilo o con PTZ no afectó la ejecución de los ratones CO (**figura 4D**), la administración de PTZ mejoró significativamente la ejecución de los TS (**figura 4E**).

En resumen, el tratamiento con pentilnetetrazol no modificó la actividad locomotora o las habilidades sensorimotoras de los animales. Tras el tratamiento con donepezilo los ratones TS mostraron mayor actividad que los CO en la tabla de agujeros y en el campo abierto. El tratamiento con donepezilo no ejerció ningún beneficio sobre la cognición del ratón TS; sin embargo, el tratamiento con pentilnetetrazol normalizó totalmente el aprendizaje y la memoria del ratón TS. Nuestros resultados, pues, confirman y amplían el estudio previo de Fernández et al., (2007), y hacen de la antagonización del sistema inhibitor GABA una diana que puede ser ventajosa. En consecuencia, parece justificado profundizar más en esta línea de acción farmacológica, mediante el empleo de sustancias que reduzcan con mayor selectividad la actividad inhibitora GABA. Nuestro laboratorio continúa investigando en esta dirección (Rueda et al., 2008).

CONSECUENCIAS

El objetivo de este rápido resumen es ofrecer un mensaje: el interés mostrado por varios grupos de investigación en todo el mundo, incluido el nuestro, por encontrar posibilidades terapéuticas reales a las personas con síndrome de Down que, sin esperar a las soluciones que puedan provenir de los descubrimientos genéticos, siempre lentos y problemáticos, mejoren las cualidades cognitivas. Los dos grandes retos que presenta el síndrome de Down son la mejoría de la capacidad intelectual y la superación de la tendencia que tienen hacia el envejecimiento precoz o el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Es esperanzador saber que se está trabajando arduamente en ambos campos.

REFERENCIAS

Arendt T, Bruckner MK, Gertz HJ, Marcova L. Cortical distribution of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease matches the pattern of neurons that retain their capacity of plastic remodelling in the adult brain. *Neuroscience* 1998; 83: 991-1002.

Baxter LL, Moran TH, Richtsmeier JT, Troncoso J, Reeves R. Discovery and genetic localization of Down syndrome cerebellar phenotypes using the Ts65Dn mouse. *Hum Mol Gen* 2000; 9: 195-202.

Belichenko PV, Masliah E, Kleschevnikov AM, Villar AJ, Epstein CJ, Salehi A, Mobley WC. Synaptic structural abnormalities in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Comp Neurol* 2004; 480: 281-298.

Busciglio J, Yankner BA. Apoptosis and increased generation of reactive oxygen species in Down's syndrome neurons in vitro. *Nature*, 1995; 378:776-779.

Capone G, Kim P, Jovanovich S, Payne L, Freund L, Welch K, Miller E, Trush M. Evidence for increased mitochondrial superoxide production in Down syndrome. *Life Sciences* 2002; 70: 2885-2895.

- Cooper JD, Salehi A, Delcroix JD et al. Failed retrograde transport of NGF in a mouse model of Down's syndrome : reversal of cholinergic neurodegenerative phenotypes following NGF infusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10439-10444.
- Costa ACS, Grybko MJ. Deficits in hippocampal CA1 LTP induced by TBS but not HFS in the Ts65Dn mouse: a model of Down syndrome. *Neurosci Lett* 2005; 382: 317-322.
- Davison MT, Schmidt C, Akeson EC. Segmental trisomy of murine chromosome 16: a new model for studying Down syndrome. En C.J. Epstein (Ed.), *Molecular Genetics of Chromosome 21 and Down syndrome*. Wiley-Liss, New York 1990.
- Demas GE, Nelson RJ, Krueger BK, Yarowsky PJ. Spatial memory deficits in segmental trisomic Ts65Dn mice. *Behav Brain Res* 1996; 82: 85-92.
- Demas GE, Nelson RJ, Krueger BK, Yarowsky PJ. Impaired spatial working and reference memory in segmental trisomy (Ts65Dn) mice. *Behav Brain Res* 1998; 90: 199-201.
- Dierssen M, Vallina IF, Baamonde C, Lumbreras MA, Martínez-Cué C, Calatayud SG, Flórez J. Impaired cyclic AMP production in the hippocampus of a Down syndrome murine model. *Dev Brain Res* 1996; 95: 122-124.
- Dierssen M, Vallina IF, Baamonde C, García-Calatayud S, Lumbreras M, Flórez F. Alterations of central noradrenergic transmission in Ts65Dn mouse, a model for Down syndrome. *Brain Res* 1997; 749: 238-244.
- Dierssen M, Benavides-Piccione R, Martínez-Cué C, Estivill X, Flórez J, Elston GN, DeFelipe J. Alterations of Neocortical Pyramidal Cell Phenotype in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome: Effects of environmental enrichment. *Cerebral Cortex* 2003; 13: 758-764.
- Escorihuela RM, Fernández-Teruel A, Vallina IF, Baamonde C, Lumbreras MA, Dierssen M, Tobeña A, Flórez J. A behavioral assessment of Ts65Dn mice: a putative Down syndrome model. *Neurosci Lett*, 1995; 199: 143-146.
- Escorihuela RM, Vallina IF, Martínez-Cué C, Baamonde C, Dierssen M, Tobeña A, Flórez J, Fernández-Teruel A. Impaired short- and long-term memory in Ts65Dn mice, a model for Down syndrome. *Neurosci Lett*. 1998; 247: 171-174.
- Fernandez F, Morishita W, Zuniga E, Nguyen J, Blank M, Malenka RC, Garner CC. Pharmacotherapy for cognitive impairment in a mouse model of Down syndrome. *Nature Neuroscience* 2007; 10: 411-413.
- Flórez J. Los inhibidores colinesterásicos y la memantina en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Madrid, Sanidad y Ediciones 2007.
- Gardiner K, Fortna A, Bechtel L, Davison MT. Mouse models of Down syndrome: how useful can they be? Comparison of the gene content of human chromosome 21 with orthologous mouse genomic regions. *Gene* 2003; 318: 137-147.
- Granholt ACE, Sanders LA, Crnic LS. Loss of cholinergic phenotype in basal forebrain coincides with cognitive decline in a mouse model of Down's syndrome. *Exp Neurol* 2000; 161: 647-663.
- Gudasheva T, Voronina T, Ostrovskaya R, Rozantsev G, Vasilevich N, Trophimov S, Kravchenko E, Skoldinov A, Seredenin S. Synthesis and anti-amnesic activity of a series of N-acylprolyl-containing dipeptides. *Eur J Med Chem* 1996; 31: 151-157.
- Heller JH, Spiridigliozzi GA, Sullivan JA, Doraiswamy PM, Krishnan RR, Kishnani PS. Donepezil for the treatment of language deficits in adults with Down syndrome: A preliminary 24-week open trial. *Am J Med Genet* 2003; 116: 111-116.
- Heller JH, Spiridigliozzi GA, Doraiswamy PM, Sullivan JA, Crisman BG, Kishnani PS. Donepezil effects on language in children with Down syndrome: results of the first 22-week pilot clinical trial *Am J Med Genet* 2004; 130: 325-326.
- Holtzman DM, Santucci C, Killbridge J, Chua-Couzens J, Fontana DJ et al. Developmental abnormalities and age related neurodegeneration in a mouse model of Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13333-13338.
- Hunter CL, Bimonte-Nelson HA, Granholt AC. Behavioral comparison of 4 and 6 month-old Ts65Dn mice: age-related impairments in working and reference memory. *Behav Brain Res* 2003; 138: 121-131.
- Insausti AM, Megías M, Crespo D, Cruz-Orive LM, Dierssen M, Vallina IF, Insausti R, Flórez J. Hippocampal volume and neuronal number in Ts65Dn mice: a murine model of Down syndrome. *Neurosci Lett* 1998; 253: 1-4.
- Kishnani PS, Sullivan JA, Walter BK, Spiridigliozzi GA, Doraiswamy PM, Krishnan KRR. Cholinergic therapy for Down's syndrome. *Am J Epidemiol* 1999; 145: 134-147.
- Kleschevnikov AM, Belichenko PV, Villar AJ, Epstein CJ, Malenka RC, Mobley WC. Hippocampal long-term potentiation suppressed by increased inhibition in the Ts65Dn mouse, a genetic model of Down syndrome. *J Neurosci* 2004; 24: 8153-8160.
- Kondoh T, Amamoto N, Doi T, Hamada H, Ogawa Y, Nakashima M, Sasaki H, Aikawa K, Tanaka T, Aoki M, Harada J, Moriuchi H. Dramatic improvement in Down syndrome associated cognitive impairment with donepezil *Ann Pharmacother* 2005; 39: 563-566.
- Kurt MA, Davies DC, Kidd M, Dierssen M, Flórez J. Synaptic deficit in the temporal cortex of partial trisomy 16 (Ts65Dn) mice. *Brain Res* 2000; 858: 191-197.
- Kurt MA, Kafa MI, Dierssen M, Davies DC. Deficits in neuronal density in CA1 and synaptic density in the dentate gyrus, CA3 and CA1, in a mouse model of Down syndrome. *Brain Research* 2004; 1022: 101-109.
- Lott IT, Osann K, Doran E, Nelson L. Down syndrome and Alzheimer's disease: response to donepezil. *Arch Neurol* 2002; 59: 1133-1136.
- Lumbreras MA, Baamonde C, Martínez-Cué C, Lubec G, Cairns N, Sallés M, Dierssen M, Flórez J. G protein-dependent signalling pathways in Down syndrome and Alzheimer's disease. *Amino Acids* 2006; 31: 449-456.
- Mann DM. Alzheimer's disease and Down's syndrome. *Histopathology* 1988; 13: 125-137.
- Mann EMA, Eisiri MM. The pattern of acquisition of plaques and tangles in the brains of patients under 50 years of age with Down's syndrome. *J Neurol Sci* 1989; 89: 169-179.
- Martínez-Cué C, Baamonde C, Lumbreras MA, Vallina IF, Dierssen M, Flórez J. A murine model for Down syndrome shows reduced responsiveness to pain. *Neuroreport* 1999; 10, 1119-1122.

Martínez-Cué C., Baamonde C., Lumberras M., Paz J., Davisson M.T., Schmidt C., Dierssen M., Flórez J. (2002). Differential effects of environmental enrichment on behavior and learning of male and female Ts65Dn mice, a model for Down syndrome. *Behavioral Brain Research*, 134:185-200

Martínez-Cué C., Rueda N., García E., Davisson M. T., Schmidt C., Flórez J. Behavioral, cognitive and biochemical responses to different environmental conditions in male Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *Behavioural Brain Research* 2005; 163: 174-185.

Miguel Hidalgo, JJ, Alvarez XA, Cacabelos R, Quack G. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid (1-40). *Brain Research* 2002; 958: 210-221.

Minkeviciene R, Barnejee P, Tanila H. Memantine improves spatial learning in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 677-682.

Ostrovskaya R, Gudasheva T, Trofimov S, Gudasheva T. The novel substitute acylproline-containing dipeptide, GVS-111, promotes the restoration of learning and memory impaired by bilateral frontal lobectomy in rats. *Behav Pharmacol*, 1997; 8: 261-268.

Ostrovskaya R, Romanova G, Barksov IV, Shanina E, Gudasheva T, Victorov I, Voronina T, Seredin S. Memory restoring and neuroprotective effects of the proline containing dipeptide, GVS-111, in a photochemical stroke model. *Behav Pharmacol* 1999; 10: 549-553.

Quimet CC, Baerwald KD, Gandy SE, Greengard P. Immunocytochemical localization of amyloid precursor of amyloid precursor protein in rat brain. *J Comp Neurol* 1994; 348: 244-260.

Pelsman A, Hoyo-Vadillo C, Gudasheva TA, Serdenin SB, Ostrovskaya RU, Busciglio J. GVS-11 prevents oxidative damage and apoptosis in normal and Down syndrome human cortical neurons. *Int J Devl Neuroscience* 2003; 21: 117-124.

Pietá-Dias C, Martins de Lima MN, Presti-Torres J, et al. Memantine reduces oxidative damage and enhances long-term recognition memory in aged rats. *Neuroscience* 2007; 146:1719-1725.

Prasher VP, Huxley A, Haque MS. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Down syndrome and Alzheimer's disease-pilot study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2002; 17: 270-278.

Prasher VP, Adams C, Holder R. Long term safety and efficacy of donepezil in the treatment of dementia in Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: open label study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003; 18: 549-551.

Reeves RH, Garner CG. A year of unprecedented progress in Down syndrome basic research. *Men Retard Developm Disabil Res Rev* 2007; 13: 215-220.

Reeves RH, Irving NG, Moran T, Wohn A, Sissodia SS, Schmidt C, Davisson MT. A mouse model for Down syndrome exhibits learning and behavior deficits. *Nat Genet* 1995; 11, 177-184.

Richtsmeier J, Baxter L, Reeves R. Parallels of craniofacial maldevelopment in Down syndrome and Ts65Dn mice. *Dev Dyn* 2000; 217: 137-145.

Richtsmeier J, Zumwalt A, Carlson EJ et al. Craniofacial phenotypes in segmental trisomic mouse models for Down syndrome. *Am J Med Genet* 2002; 107: 313-324.

Romanova G, Ostrovskaya R, Gudasheva T. Novel substituted acyl-prolyl dipeptide, GVS-111, diminished cognitive impairment on the model of brain compression in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 1996, 6 (S4): 100.

Rueda N., Mostany R., Pazos A., Flórez J., Martínez-Cué C. Cell proliferation is reduced in the dentate gyrus of aged but not young Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *Neuroscience Letters* 2005; 380: 197-201.

Rueda N., Flórez J., Martínez-Cué C. Effects of chronic administration of SGS-111 during adulthood and during the pre- and post-natal periods on the cognitive deficits of Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *Behavioral Brain Research* 2008, En prensa.

Rueda N., Flórez J., Martínez-Cué C. Chronic pentyleneetetrazole but not donepezil treatment rescues spatial cognition in Ts65Dn mice, a model for Down syndrome. *Neuroscience Letters* 2008, En prensa.

Salehi A, Delcroix JD, Belichenko PV et al. Increased App expression in a mouse model of Down syndrome disrupts NGF transport and causes cholinergic neuron degeneration. *Neuron* 2006; 51: 29-42.

Siarey RJ, Stoll J, Rapoport SI, Galdzicki Z. Altered long-term potentiation in the young and old Ts65Dn mouse, a model for Down syndrome. *Neuropharmacol* 1997; 36: 1549-1554.

Siarey RJ, Carlson EJ, Epstein CJ, Balbo A, Rapoport SI, Galdzicki Z. Increased synaptic depression in the Ts65Dn mouse, a model for mental retardation in Down syndrome. *Neuropharmacol* 1999; 38: 1917-1920.

Siarey RJ, Kline-Burgess A, Cho M, et al. Altered signaling pathways underlying abnormal hippocampal synaptic plasticity in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Neurochem* 2006; 98: 1266-1277.

Smith CM, Swash M. Possible biochemical basis of memory disorder in Alzheimer disease. *Ann Neurol* 1978; 3: 471-473.

Wenger GR, Schmidt C, Davisson MT. Operant conditioning in the Ts65Dn mouse: learning. *Behav Genet* 2004; 34: 105-119.

Wenk GL, Zajaczkowski W, Danysz W, Quack G. Neuroprotection of acetylcholinergic basal forebrain neurons by memantine and neurokinin B infusion of (+)-MK-801 and memantine: contrasting effects on radial maze learning in rats with entorhinal cortex lesion. *Behav Brain Res* 1997; 83: 511-517.

Zajaczkowski W, Quack G, Danysz W. Infusion of (+)-MK-801 and memantine: contrasting effects on radial maze learning in rats with entorhinal cortex lesion. *Eur J Pharmacol* 1996; 296: 239-246.

Zigman, WB, Schupf N, Devenny DA, Miezieski C, Ryan R, Urv TK et al. Incidence and prevalence of dementia in adults with and without Down syndrome. *Am J Ment Retard* 1995; 100: 403-412.