



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Efecte de l'agonista del receptor 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT en la memòria i aprenentatge de rates al llarg de l'envelliment

Frances Pere Monserrat Vert

Grau de Biologia

Any acadèmic 2016-17

DNI de l'alumne: 43201133A

Treball tutelat per Susana Cristina Esteban Valdés
Departament de Biologia

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Envejecimiento, maternidad, serotonina, 8-OH-DPAT, test de Barnes

Índice

Resumen.....	4
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Hipótesis y objetivos.....	9
• Objetivos específicos.....	9
Materiales y métodos.....	10
• Animales de estudio.....	10
• Manejo de animales.....	11
• Test de Barnes.....	11
• Análisis estadístico.....	14
Resultados.....	15
• Efecto de la edad sobre las pruebas cognitivas.....	15
• Efecto del 8-OH-DPAT en ratas jóvenes (6 meses).....	16
• Efecto del 8-OH-DPAT en ratas viejas (20 meses).....	17
• Aprendizaje visuo-espacial.....	19
• Efecto de la funcionalidad del receptor 5-HT _{1A} en la mejora cognitiva.....	21
• Estrategias de búsqueda del <i>traget</i>	22
Discusión.....	24
Conclusiones.....	26
Agradecimientos.....	26
Bibliografía.....	27

Resumen

La memoria de trabajo (WM) es una función clave para varias funciones cognitivas de orden superior, cuyo descenso en la edad adulta tardía se considera uno de los principales factores que contribuyen al deterioro cognitivo en los ancianos. Como la maternidad se acompaña de cambios funcionales en el sistema nervioso, el objetivo de este trabajo fue analizar el impacto de la maternidad repetida en el declive cognitivo asociado al envejecimiento en ratas hembras. Además, se analizó el sistema serotoninérgico, ya que ejerce una profunda influencia sobre diferentes elementos del comportamiento maternal y en los procesos cognitivos. Para ello se utilizaron dos grupos de ratas hembras (nulíparas y multíparas) de 6 y 20 meses de edad. Además, se investigó la funcionalidad de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} comparando el efecto del agonista 8-OH-DPAT (0,3 mg / kg, i.p.) sobre el aprendizaje espacial usando la prueba de Barnes en ambos grupos experimentales en las diferentes edades. En el laberinto de Barnes, se analizaron las estrategias utilizadas para encontrar el objetivo, junto con el tiempo invertido y los errores cometidos. Los resultados conductuales revelaron un deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento en ratas nulíparas. Por el contrario, las hembras multíparas no mostraron diferencias significativas con la edad. Por último, la activación del receptor 5-HT_{1A} indujo una mejora en el rendimiento de la prueba de Barnes que implicó disminución en el tiempo dedicado a completar la tarea y el número de errores. El efecto del 8-OH-DPAT respecto al grupo salino fue más pronunciado en las ratas multíparas que en las nulíparas a los 20 meses (tiempo, nulíparas: 17%, multíparas: 50%; errores, nulíparas: 1%, multíparas: 76% $p < 0,05$). Además, las ratas multíparas utilizaron estrategias de búsqueda más eficaces (seriada y directa en lugar de la aleatoria). En conjunto, los resultados sugieren que la maternidad frena el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento y parte de este efecto podría estar relacionado con una mejor funcionalidad del receptor 5-HT_{1A}.

Abstract

Working memory (WM) is a key function for several higher-order cognitive functions whose declines in late adulthood is considered one of the main contributing factors of cognitive impairment in elderly. As motherhood is accompanied by functional changes in the nervous system, the aim of this work was to analyze the impact of repeated motherhood on the cognitive decline associated to aging in female rats. In addition, serotonergic system was analyzed since exert profound influence on different elements of maternal behaviour and cognitive processes. For this purpose, two groups of female rats (nulliparous and multiparous) from 6 and 20 months of age were used. Additionally, it was investigated the functionality of serotonergic 5-HT_{1A} receptors by comparing the effect of 8-OH-DPAT (0.3mg/ kg, i.p.) on spatial learning using the Barnes test in both experimental groups at the different ages. In the Barnes maze, strategies used to find the *target* were analyzed along with the time spent and errors committed. Behavioural results revealed a cognitive impairment associated with aging in nulliparous control rats. At contrary, multiparous females did not show significant differences with age. Finally, activation of the 5-HT_{1A} receptor induced an improvement in the performance of the Barnes test that involved decrease in the time spent to complete the task and number of errors. The effect of 8-OH-DPAT respective to saline group was more pronounced in multiparous than in nulliparous rats at 20 months (time, nulliparous: 17%, multiparous: 50%; errors, nulliparous: 1%, multiparous: 76% p<0.05). Moreover, multiparous rats used more efficient searching strategies (serial and direct respect to the random). Altogether, the results suggest that motherhood slows the cognitive decline associated to aging and part of this effect could be related to better functionality of the 5-HT_{1A} receptor.

Introducción

El envejecimiento es un proceso fisiológico que lleva asociado cambios a nivel funcional, estructural y molecular. Dichos cambios afectan a todo el organismo, incluyendo el sistema nervioso, disminuyendo la plasticidad y capacidades cognitivas (Mora et al., 2007). La memoria de trabajo es la función clave de múltiples funciones cognitivas superiores cuya disminución con el envejecimiento es uno de los factores clave del empeoramiento cognitivo en el anciano (Esteban et al., 2017). Estudios del laboratorio de Neurofisiología corroboran estos hechos en animales de laboratorio (Fig. 1), en la que se puede observar como las barras blancas que representan animales control, experimentan un aumento a lo largo de la edad en el tiempo y errores en la resolución de una prueba cognitiva.

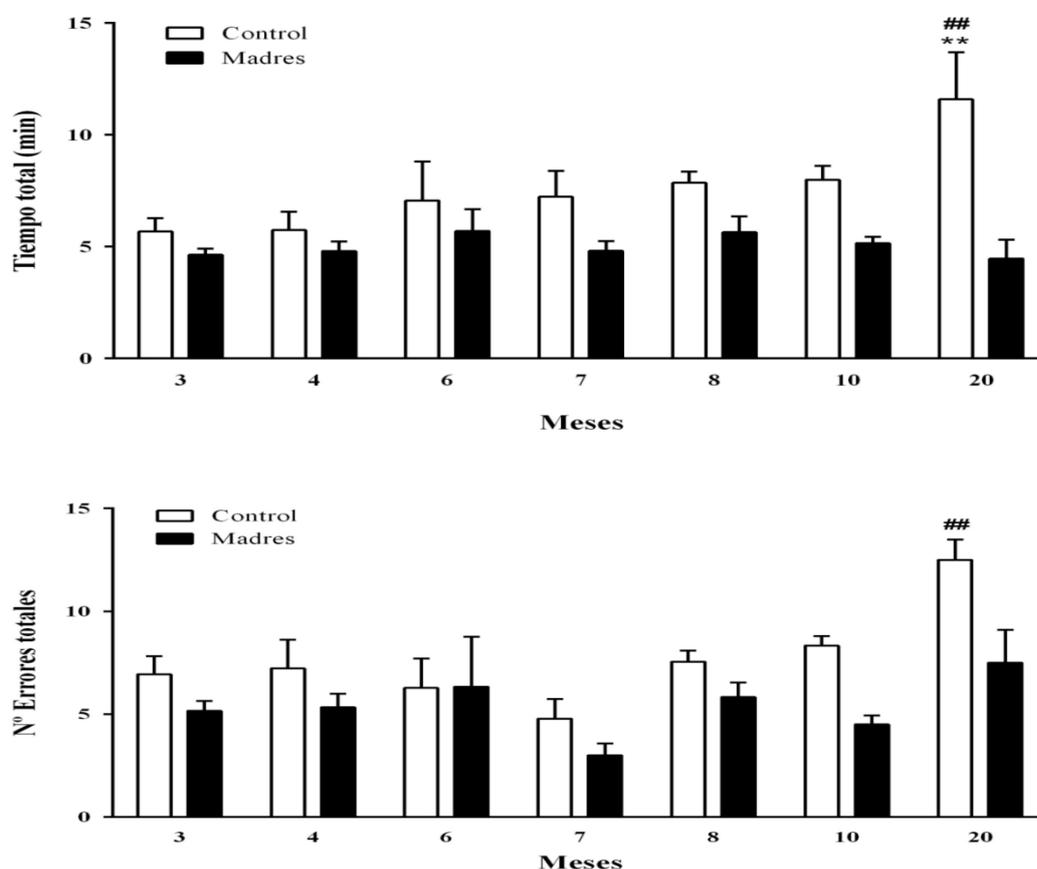


Fig. 1. Representación de la media del tiempo total utilizado en el test del *Radial Maze* y el número de errores cometidos por el grupo control y el grupo madres. **p < 0,01 al comparar el grupo control y el grupo madres. ###p < 0,01 al comparar el mes 3 y el 20 del grupo control, mediante ANOVA seguido del test de Bonferroni. (modificado de Esteban et al., 2017)

Estos cambios negativos asociados a la edad, pueden verse atenuados por factores como una buena salud y hábitos favorables. La actividad física está asociada con una buena salud física y mental tanto como una correcta alimentación (Vankim y Nelson, 2013; Pedišić et al., 2014; Cirrillo et al., 2017). Por el contrario, pueden verse agravados por hábitos negativos como una

vida sedentaria o condiciones de estrés y consumo crónico de alcohol (Rodberg et al., 2017), entre otros.

Por otro lado se ha comprobado que la maternidad está asociada a múltiples cambios, tanto a nivel fisiológico en general, en gran parte de tipo hormonal, como a nivel del sistema nervioso, del tipo de inducción de efectos neurológicos que modulan la plasticidad sináptica y memoria (Kinsley et al., 1999; Kinsley et al., 2008). Entre los múltiples cambios que se producen con la maternidad cabe mencionar las monoaminas cerebrales, entre las que destacamos la serotonina ya que este neurotransmisor ejerce una profunda influencia sobre diferentes componentes del comportamiento maternal (Angoa-Perez et al., 2014) y los procesos cognitivos (Meneses, 1999).

Todo ello induce a especular que la maternidad podría afectar al declive cognitivo relacionado con el envejecimiento, como puede verse en la figura 1. Como puede observarse, las ratas multíparas (han sido madre varias veces a lo largo de su vida) preservan sus capacidades cognitivas a lo largo de la edad al contrario de lo que ocurre con las ratas controles nulíparas, las barras negras, que corresponden a las ratas multíparas, no modifican prácticamente el tiempo y errores cometidos en el test cognitivo a lo largo de su vida.

Además, trabajos previos del laboratorio de Neurofisiología manifiestan que las ratas multíparas muestran un menor declive a nivel del sistema serotoninérgico a lo largo del envejecimiento (Fig. 2). Este hecho es de especial interés en edades avanzadas, ya que los animales que han pasado por este proceso maternal repetidas veces, resuelven pruebas cognitivas (como el Radial-maze o el test de reconocimiento de objetos) con mejores resultados que aquellas que no han criado nunca (Esteban et al., 2017).

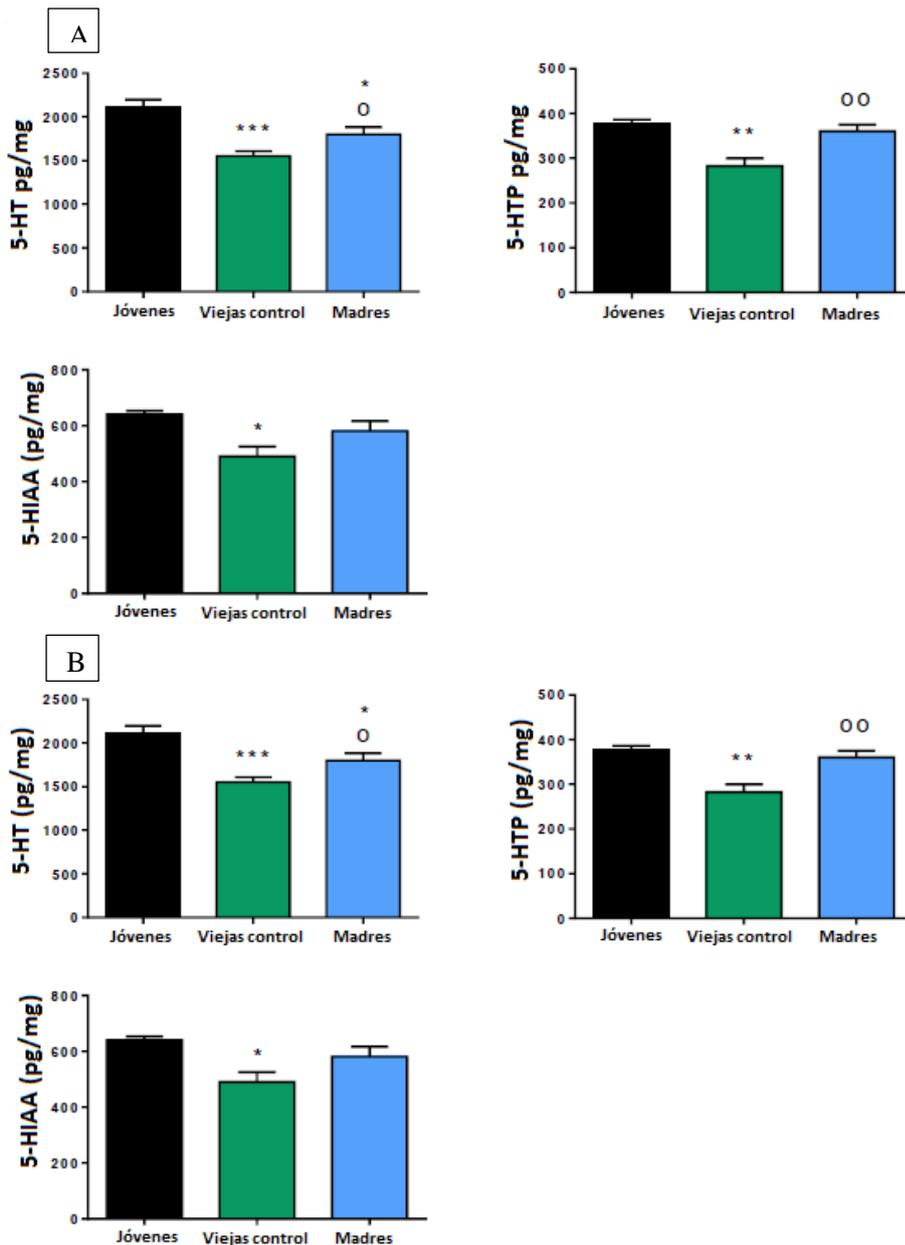


Fig. 2. Representación de las diferencias de los niveles de 5-HT, 5-HTP y 5-HIAA, entre las ratas madres (n=11), las ratas viejas control (n=13) y las ratas jóvenes (n=7), después de la inhibición de la enzima de aminoácidos aromáticos descarboxilasa mediante la administración de NSD-1015 (100 mg/kg, intraperitoneal) en hipocampo (A) y estriado (B) de ratas de 20 meses de edad. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ al comparar con el grupo de jóvenes; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ al comparar con el grupo de viejas control aplicando ANOVA de una vía y el post-hoc Bonferroni. (Cabot, 2016)

Se ha descrito que con el envejecimiento existe una disminución de los receptores serotoninérgicos 5-HT, entre ellos el autorreceptor 5-HT_{1A} el cual está asociado con procesos cognitivos (Heninger et al., 1984; Siever et al., 1984; Banerjee y Poddar, 2016). El fármaco 8-OH-DPAT es un agonista del receptor 5-HT_{1A} que ha demostrado tener buenos resultados en la eficacia de resolución de pruebas cognitivas a dosis bajas (Meneses y Perez-Garcia, 2007; Haider et al., 2012).

Hipótesis y objetivos

Por todo lo mencionado anteriormente se planteó como hipótesis que el enlentecimiento del declive cognitivo asociado a la edad en ratas multíparas respecto a ratas controles nulíparas podía estar relacionado con la actividad del sistema serotoninérgico, por lo que se planteó como objetivo general del trabajo, analizar la funcionalidad del receptor de serotonina 5-HT_{1A}, receptor que modula de forma general la actividad del sistema serotoninérgico

Objetivos específicos

1. Analizar el efecto del agonista del receptor de serotonina 5-HT_{1A} en ratas nulíparas y ratas multíparas jóvenes (6 meses) en los procesos cognitivos mediante la resolución del laberinto de Barnes.
2. Analizar el efecto del agonista del receptor de serotonina 5-HT_{1A} en ratas nulíparas y ratas multíparas viejas (20 meses) en los procesos cognitivos mediante la resolución del laberinto de Barnes.
3. Comparar el efecto del agonista del receptor 5-HT_{1A} en ratas viejas controles y madres, con el producido en ratas jóvenes.

Para ello el fármaco elegido para llevar a cabo los experimentos es el 8 OH-DPAT a la dosis de 0,3 mg/kg en 1 ml salino/ kg que demostró producir una mejora en aprendizaje y memoria (Tejada et al., 2007) por vía intraperitoneal.

Materiales y métodos

Animales de estudio.

Para llevar a cabo el estudio con el fin de comprobar si el proceso de maternidad repetida preserva la funcionalidad del sistema serotoninérgico durante el envejecimiento, se usaron ratas Wistar, proporcionadas por el estabulario de la Universidad de las Islas Baleares (UIB). Se alojaron en cajas de metacrilato (Panlab, S.L. Barcelona, España) en condiciones ambientales estandarizadas con acceso libre a agua y comida (Panlab A04). Las condiciones de la sala donde se alojaban los animales, se mantuvo a una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, con una humedad relativa del 70% y un ciclo luz/oscuridad de 12/12 h.

Las ratas fueron destetadas a los 21 días de nacer, y separadas de las madres.

La primera cría se hace a los 3 meses de vida, y se repite aproximadamente cada 3 meses, siendo 2 veces en el caso de las ratas de 6 meses, y 5/6 en el caso de las ratas de 20 meses.

Todos los animales de este experimento han sido tratados de acuerdo con la convención Europea para la protección de animales vertebrados usados para experimentación y otros fines científicos (directiva 86/609/EEC), con los protocolos aprobados por el comité Local Bioético de la Universidad de las Islas Baleares.

Para cada edad (6 y 20 meses), los animales se organizaron en 2 grupos, ratas no reproductoras (nulíparas, $n=18$), y reproductoras (multíparas, $n=12-14$ a 6 y 20 meses respectivamente). A su vez, cada uno de ellos se dividió en 2 grupos, uno tratado con suero salino y otro con 8 OH-DPAT (DPAT), después de ser pesados, con el fin de realizar los grupos de la forma más homogénea posible.

Los grupos resultantes serían los siguientes por cada una de las edades:

Nulíparas + Salino (CN)

Nulíparas + DPAT (DN)

Multíparas + Salino (CM)

Multíparas + DPAT (DM)

Tanto el fármaco como el suero salino fueron inyectados por vía intraperitoneal, y las pruebas comportamentales se realizaron una hora después de su administración, pues se ha visto en trabajos previos del laboratorio de Neurofisiología de la UIB que es en ese momento cuando el fármaco tiene su pico de efectividad.

Manejo de los animales

Las ratas de experimentación tienen poco contacto con seres humanos, puesto que están aisladas, y este se limita al cuidador que se encarga de reponer el agua y la comida y limpiar los recipientes en donde se almacenan a los animales, por lo que en el primer contacto entre el experimentador y la rata puede ser un motivo de estrés para el animal. Con el fin de que esto no influya en las pruebas comportamentales se realizó una primera habituación, un primer contacto entre ambos, conocido como “*timing*”. Se realiza al menos dos días antes de llevar a cabo el test. Esto tiene como objetivo, además del mencionado anteriormente, que el animal se acostumbre tanto a la presencia del experimentador, como a su olor (las ratas tienen un olfato muy desarrollado) y a la forma que tiene este de manejar los animales.

Test de Barnes



Fig. 3. Imagen del laberinto de Barnes usado para llevar a cabo las pruebas comportamentales. Imagen tomada en el laboratorio de Neurofisiología de la UIB.

El laberinto de Barnes se utiliza para evaluar la capacidad de aprendizaje. Fue desarrollado por la doctora Carol Barnes en 1979. Consta de una superficie redonda elevada un metro del suelo, de 130 cm de diámetro, en la periferia del cual encontramos 18 orificios de 10 cm de diámetro, colocados a 3 cm de borde, y a 10 cm de distancia entre ellos. Todos los orificios están abiertos, es decir, dan directamente al suelo, salvo uno, en donde se encuentra un refugio llamado “*target*”, que consiste en una caja de 20 x 10 cm.

Este test se utiliza principalmente para valorar de forma objetiva el aprendizaje del animal. Secundariamente se puede valorar también la plasticidad cerebral, la memoria de trabajo (WM) y la memoria visuo-espacial. Además, gracias a este test se pueden detectar problemas a nivel cognitivo en función de la estrategia que siga el animal para explorar el laberinto y encontrar el refugio. Una estrategia directa está relacionada con el sistema serotoninérgico, mientras que una estrategia seriada está relacionada con el sistema dopaminérgico; si la estrategia utilizada es aleatoria, o no definida, puede significar que existe algún problema cognitivo.

El animal es colocado en el centro de la superficie del laberinto de Barnes dentro de un cilindro opaco, y se le deja a oscuras durante 10 segundos, con el fin de no influir en la posición en la que el animal inicia el test. A continuación se le somete a un estímulo desagradable del cual, de manera natural, el animal intentara resguardarse. Se puede utilizar aire o un ruido estridente, pero en este caso, utilizaremos una luz potente, aprovechando que las ratas en la naturaleza son animales que buscan la oscuridad, por lo que intentarían escapar de la luz intensa, y la única manera de lograrlo, será encontrando el *target* e introducirse en él.

Para ello, la rata deberá orientarse gracias a las “pistas” o señales visuales que están colocadas en las paredes que ayudaran al animal a completar la prueba.

La forma de realizar la prueba es la siguiente:

El primer día se realizó el *timing*, que consiste en un primer contacto entre el animal y el experimentador. Se realizaron en las mismas instalaciones del estabulario. Consiste en acariciar y manejar al animal de la misma manera que lo hará el día de la prueba.

El segundo día, el animal fue llevado del estabulario al laboratorio en donde se realizará el test, y se realizó una habituación del animal al laberinto, con el fin de que el día del test final no le resulte un lugar extraño. En este caso, los animales fueron sacados del estabulario a las 8:00 a.m. y llevados al laboratorio. Allí reposaba cerca de una hora, y a las 9:00 a.m. se inició el entreno 0 o habituación. Este consistió en poner la rata sobre el laberinto dentro de un cilindro opaco durante 10 segundos. Transcurrido ese tiempo, se encendió la luz y se dejó a la rata, explorar el laberinto durante 3 min. Transcurrido ese tiempo, en caso de que el animal no hubiese encontrado el *target*, era guiado hacia él, y una vez allí, se le dejaba dentro a oscuras y en silencio durante 2 min. Con esto se pretende que el animal entienda que el *target* es un sitio seguro donde guarecerse de la luz. Una vez acabado, los animales fueron devueltos al estabulario.

El tercer día los animales fueron recogidos del estabulario como el día anterior a las 8:00 a.m. y llevados al laboratorio donde reposaron una hora. A las 9:00 a.m. se iniciaron los tests.

En este caso se realizaron 3 entrenos consecutivos, dejando que trascurrieran 10 min entre cada uno, y un test final. Los entrenos fueron de 3 min sobre el laberinto, más un minuto en el refugio pudiendo ser inferior el tiempo sobre la plataforma, en el caso de encontrar el *target* antes. En caso contrario, el animal se dirigió hacia el *target*. Por último, el test final tuvo un tiempo máximo de 90 segundos. Después de cada entreno se limpiaba la superficie con alcohol (Et-OH 70%).

Según la bibliografía consultada se describen dos dosis de 8 OH-DPAT (DPAT) con efectos marcadamente diferentes; por una parte la dosis de 1 mg/kg ha demostrado tener unos efectos negativos sobre el aprendizaje de los individuos, mientras que una dosis más baja 0,3 mg/kg muestra un cambio positivo (Haider et al., 2012). Por ello, en este trabajo se decidió utilizar la dosis baja de DPAT. Tanto el fármaco (DPAT) como el suero salino se les inyectó media hora antes del inicio del primer entreno, con el fin de hacer coincidir el pico máximo de efecto del

fármaco (1 hora) con el inicio del test final. Se verificó la correcta administración del fármaco mediante el efecto inducido sobre la temperatura corporal a los 30 minutos de la inyección.

Se contabilizaron varias variables:

- Latencia -primaria (tiempo que tarda el animal en encontrar por primera vez el *target*).
- total (tiempo que tarda la rata en introducirse por completo en el *target*, con un máximo de 180 segundos en los entrenos o 90 segundos en el test)
- Errores -primarios (se consideraran aquellos que se cometan antes de dar con el *target* por primera vez).
- totales (se contarán los errores que cometa hasta el momento de introducirse en el *target*).

Contaremos como un error cada vez que la rata introduzca la cabeza dentro de un orificio que no sea el *target*, así como en caso de ser el *target*, introducir la cabeza, pero no meterse dentro. No se considerará un error el hecho de mirar por los límites externos del laberinto.

Otro parámetro que estudiamos fue la estrategia que seguía el animal para encontrar el *target*. Esta podía ser de tres maneras (Fig. 4):

- Directa el animal se dirige directamente al *target*, o al orificio contiguo.
- Seriada el animal se dirige a un orificio cualquiera, y explora cada uno de los orificios contiguos a este, hasta dar con el *target*.
- Aleatoria el animal no sigue ninguna estrategia determinada, visita orificios al azar sin ningún patrón definido.

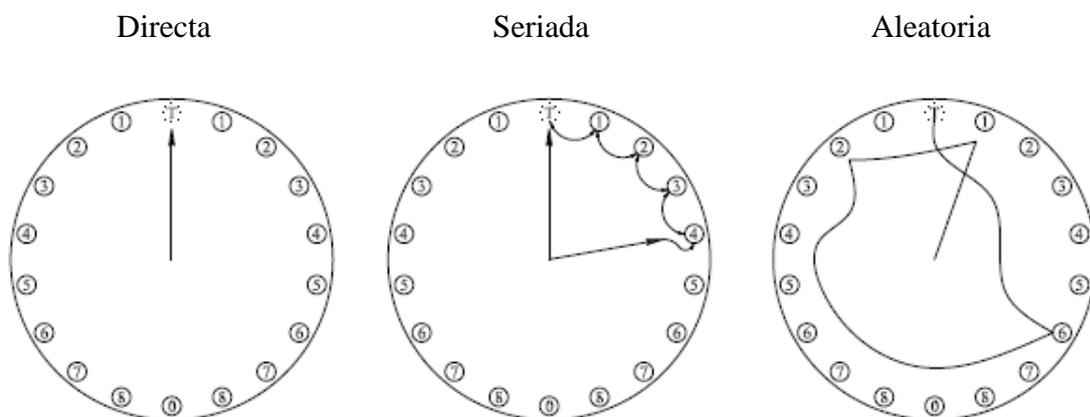


Fig. 4. Esquema de los tres tipos de estrategias que el animal puede seguir para encontrar el *target*

Análisis Estadístico

Finalmente se realizó el análisis estadístico con los datos obtenidos, de latencia y errores que los animales cometieron durante la realización del test, utilizando el programa “GraphPad Prism 7”. Se utilizó el test estadístico de ANOVA, de una o dos vías según los grupos de datos a comparar, y el post-hoc de Bonferroni para las comparaciones entre los grupos, y el test de Student t-test para el análisis de los datos de grupos de dos. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia del 95%.

Resultados

Todos los resultados fueron obtenidos de las diferentes variables anotadas durante la realización del test de Barnes. Se analizó la latencia en la que se encontraba el refugio, los errores que se cometían, y la estrategia seguida.

Efecto de la edad sobre las pruebas cognitivas

Los resultados conductuales mostraron un deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento en las ratas tratadas con salino que no habían pasado por el proceso de cría. Resultó que tanto a lo que refiere a la latencia como a los errores, se vieron diferencias estadísticamente significativas, pues las ratas viejas (20 meses) que no han criado nunca tardaron más en resolver la prueba que las ratas jóvenes (6 meses). Pasó lo mismo con los errores, donde pudimos observar que hubo un aumento de los errores cometidos por las ratas viejas respecto a las jóvenes que también resultó estadísticamente significativo, por lo que podemos afirmar que estas cohortes son distintas y por tanto existe un empeoramiento cognitivo a lo largo de la edad.

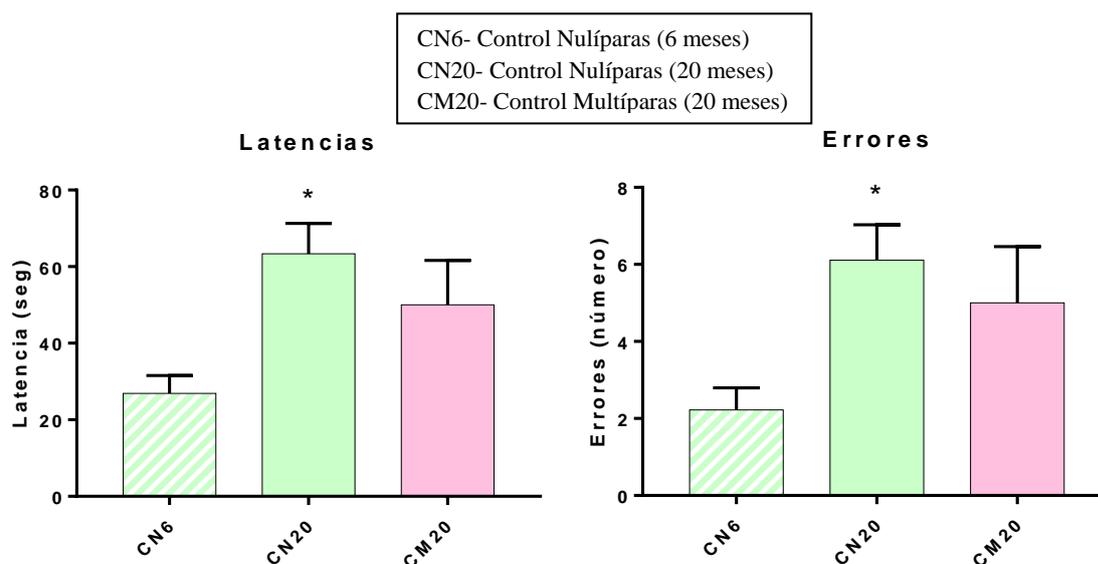


Fig. 5. Tiempo utilizado y errores cometidos por ratas jóvenes nulíparas (6 meses, CN6), y viejas nulíparas (20 meses, CN20), y ratas viejas múltiparas (CM20), comparados mediante un test de ANOVA de una vía. * $p < 0,05$ al comparar con el control de ratas nulíparas de 6 meses.

No obstante, este proceso de deterioro cognitivo se ve atenuado en las ratas múltiparas, ya que como podemos ver en la figura 5, no existen diferencias estadísticamente significativas en este grupo, pues el tiempo en el que resolvieron el laberinto, fue inferior respecto a las jóvenes, y lo mismo pasaba con los errores.

Efecto el 8-OH-DPAT en ratas jóvenes (6 meses)

Fueron analizados los tiempos (latencia) que emplearon los animales para llevar a cabo el test mediante ANOVA.

Se realizó un test de ANOVA de una vía seguido del test de Bonferroni con los segundos utilizados por las ratas para realizar el test, el cual reveló que en este caso, el tiempo usado por el grupo de ratas inyectadas con salino, nulíparas (CN), era mayor que en el caso de los dos grupos, nulíparas (DN) y múltiparas (DM), tratadas con DPAT (Fig. 6). No así en el caso de las ratas múltiparas subministradas con salino, que aunque las diferencias observadas fueron bastante menores que en el grupo de las ratas nulíparas tratadas con salino, las diferencias no eran estadísticamente significativas.

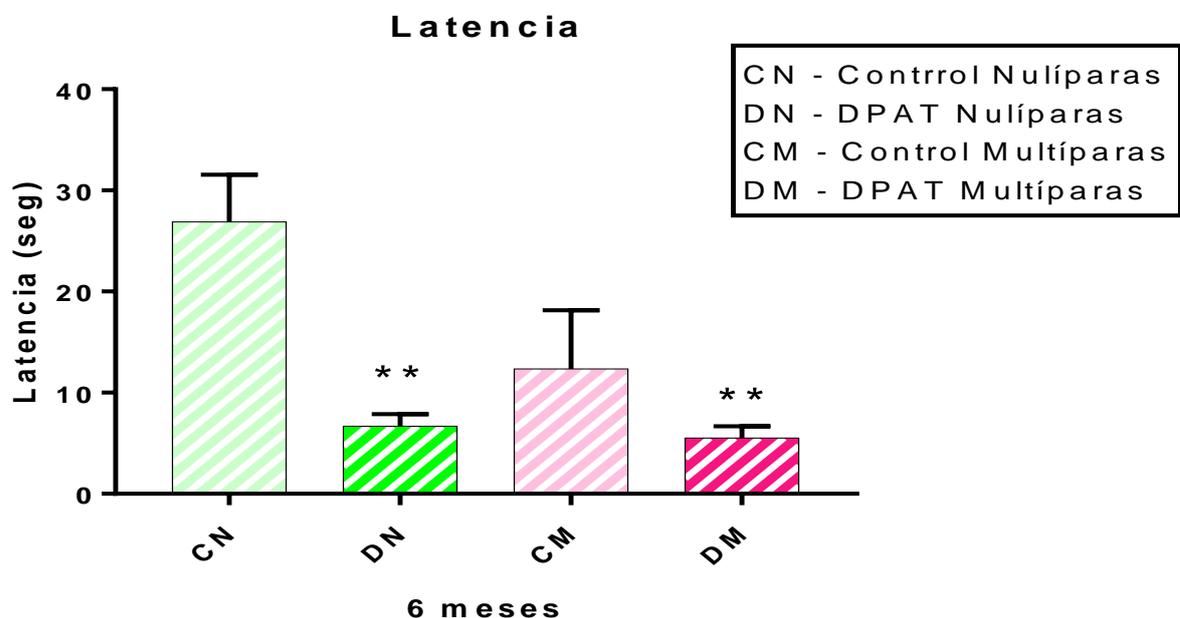


Fig. 6. Tiempo utilizado (en segundos) durante el test por los 4 grupos de ratas jóvenes (6 meses). Los grupos los forman ratas nulíparas y ratas múltiparas, y en cada uno de estos grupos, dos subgrupos, uno tratado con salino y otro tratado con el fármaco 8-OH-DPAT. Cada columna representa el número medio de segundos utilizados por los diferentes grupos mencionados, para realizar la prueba. Los datos se trataron estadísticamente mediante un test de ANOVA de una vía, con un nivel de significación del 95%. ** $p < 0,01$ al comparar con el grupo CN. Para las comparaciones múltiples se ha aplicado el post-hoc de Bonferroni.

Las comparaciones dos a dos, utilizando el test de Bonferroni, nos dicen que el tiempo usado por el grupo de ratas CN fue diferente (mayor) que el usado tanto por el grupo DN como por el grupo DM, pero no con el grupo CM, pero a la hora de comparar los grupos suministrados con DPAT respecto a sus controles, en el caso de ratas múltiparas, las diferencias tampoco resultan concluyentes, por lo que no podemos afirmar que el efecto de la maternidad tenga efectos positivos sobre la cognición en ratas jóvenes.

Aunque el deterioro cognitivo no sea importante aun a esta edad, en la figura 6 podemos ver que el fármaco DPAT reduce el tiempo utilizado para realizar la prueba en ratas nulíparas pero no en múltiparas comparando con sus correspondientes controles tratados con salino.

En cuanto a los errores cometidos en el grupo de ratas jóvenes, podemos observar que aquellas que les fueron tratadas con el fármaco DPAT no redujeron estadísticamente el número de errores durante el desarrollo de la prueba (Fig. 7). Estos resultados fueron analizados mediante un test de ANOVA de una vía, pero las diferencias no resultaron significativas, lo que podría estar relacionado con la idea anteriormente mencionada de que a esta edad aún no existe un deterioro cognitivo notorio.

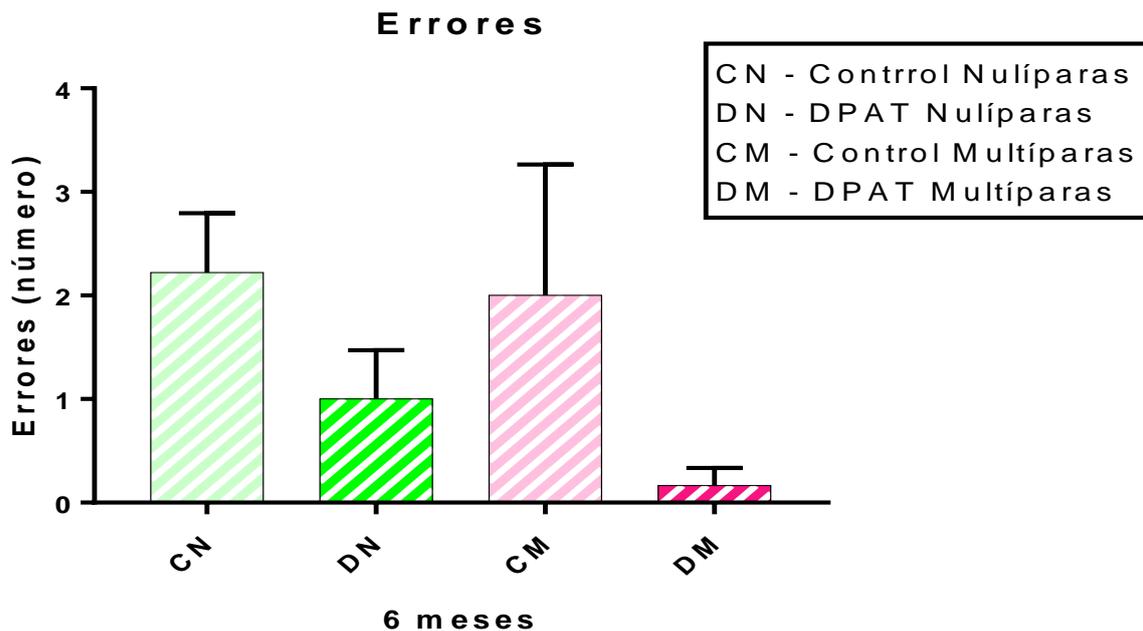


Fig. 7. Errores cometidos durante el test por los 4 grupos de ratas jóvenes (6 meses). Los grupos los forman ratas nulíparas y ratas múltiparas, y en cada uno de estos grupos, dos subgrupos, uno tratado con salino y otro con 8-OH DPAT. Cada columna representa el número medio de errores realizados por los diferentes grupos mencionados. Los datos se trataron estadísticamente mediante un test de ANOVA de una vía, con un nivel de significación del 95%.

Efecto del 8-OH-DPAT en ratas viejas (20 meses)

Por lo que respecta a las ratas viejas, como mencionábamos antes, pudimos observar que las diferencias de las ratas controles viejas, entendiendo como tales aquellas que pertenecen al grupo de ratas viejas nulíparas tratadas con salino de 20 meses, y las ratas controles jóvenes, es decir, ratas nulíparas tratadas con salino de 6 meses, son estadísticamente significativas (Fig. 5). Con la edad las ratas tardan más en realizar el test, y cometen más errores durante su desarrollo.

Cuando comparamos los resultados de las latencias de los 4 grupos de ratas viejas podemos ver que no se observan diferencias estadísticamente significativas (Fig. 8).

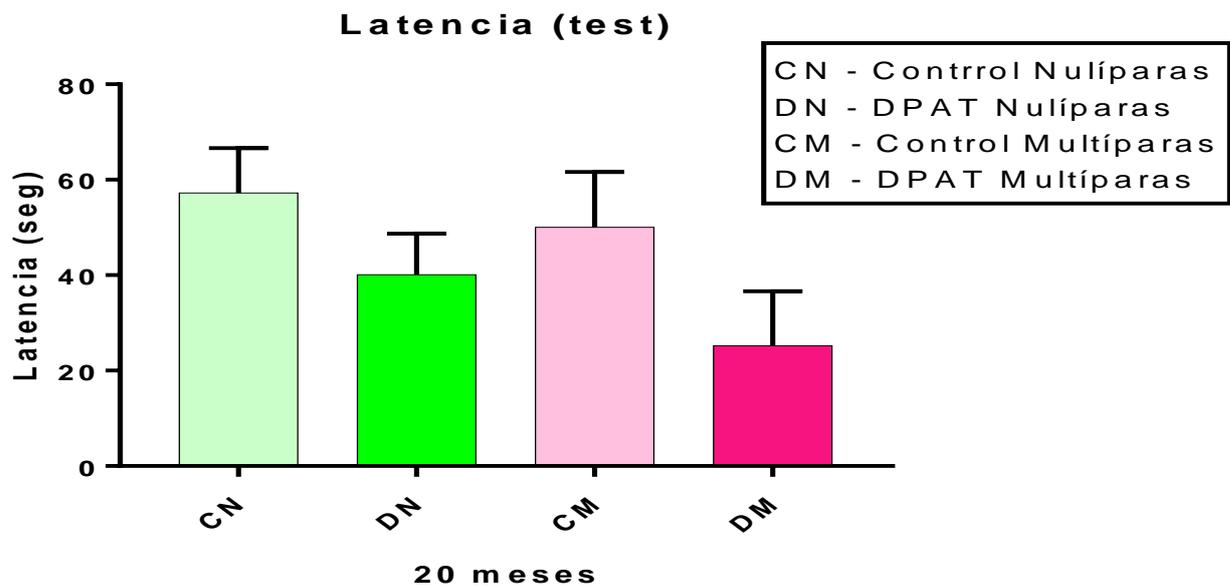


Fig. 8. Tiempo utilizado (en segundos) durante el test por los 4 grupos de ratas viejas (20 meses). Los grupos los forman ratas nulíparas y ratas múltiparas, y en cada uno de estos grupos, dos subgrupos, uno tratado con salino y otro tratado con el fármaco 8-OH-DPAT. Cada columna representa el número medio de segundos utilizados por los diferentes grupos mencionados, para realizar la prueba. Los datos se trataron estadísticamente mediante un test de ANOVA de una vía, con un nivel de significación del 95%.

Podemos ver que aunque el DPAT ayude a disminuir el tiempo usado para llevar a cabo el test, no hay diferencias estadísticas suficientes para que estas sean significativas. Hay que tener en cuenta que se trata de ratas viejas y que el número de animales usados no es muy alto.

Como podemos observar en la figura 8, parece que la tendencia es que las medias de los grupos de ratas múltiparas mejoran ligeramente (es decir, disminuyen) respecto a los grupos que nunca han criado, en especial las múltiparas tratadas con DPAT, por lo que podemos especular que el sistema serotoninérgico queda de alguna manera preservado por la maternidad del efecto deletéreo que se observa a lo largo del envejecimiento.

En cuanto a los errores observamos lo mismo que en las latencias. En la figura 9 tenemos representados los errores promedio de las ratas de cada uno de los diferentes subgrupos de ratas viejas. Como en el caso de las latencias, las diferencias entre los errores de los distintos grupos no fueron suficientes para resultar significativas estadísticamente al realizar un test de ANOVA.

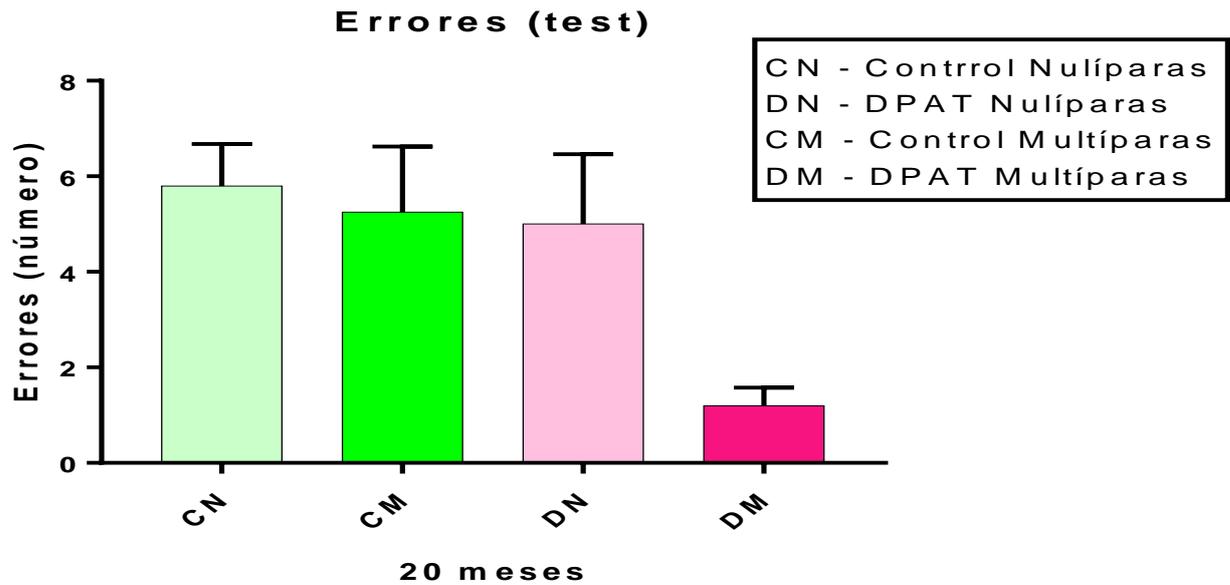


Fig. 9. Errores cometidos durante el test por los 4 grupos de ratas viejas. Cada columna representa el número medio de errores realizados por los diferentes grupos mencionados. Los datos se trataron estadísticamente mediante un test de ANOVA de una vía, con un nivel de significación del 95%. Para las comparaciones múltiples se ha aplicado el post-test de Boferroni.

Aunque las diferencias observadas no resultaron estadísticamente significativas, sí que se observa una tendencia a que la maternidad ayude a mejorar los resultados, es decir, ayudaría a prevenir el deterioro cognitivo a través de la edad en ratas multíparas.

Aprendizaje visuo-espacial

Como se menciona al principio, el test de Barnes consta de una habituación que se llevara a cabo al menos 24 horas antes del test (no la tendremos en cuenta), y tres entrenos consecutivos con una prueba final. Con el seguimiento de las variables estudiadas (tiempo y errores), podemos representar unas curvas que indican el aprendizaje de los animales a lo largo del experimento (Fig. 10 y Fig. 11).

En la siguiente figura (Fig. 10) vemos las latencias de cada uno de los grupos durante los entrenamientos y el test final:

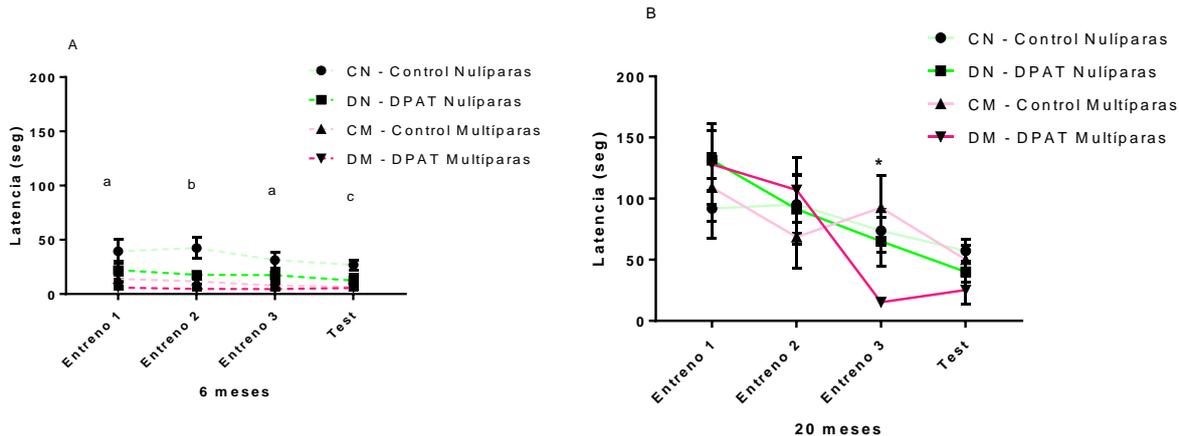


Fig. 10. Tiempo utilizado por los animales para encontrar el *target* durante los entrenamientos y el test. En la figura A vemos la latencia de las ratas de 6 meses. En el análisis estadístico usado (ANOVA de dos factores) se observó que existen diferencias entre los diferentes grupos, dentro de un mismo entrenamiento, a $p < 0,05$ al comparar CN con CM y DM; b $p < 0,05$ al comparar CN con DN, CM y DM; c $p < 0,05$ al comparar CN con CM. En la figura B se observaron diferencias entre los distintos entrenos dentro de un mismo grupo, $*p < 0,05$.

En la figura 10 A observamos que no hay diferencias entre los distintos entrenamientos ya que las ratas aprenden muy rápido lo que encaja con lo mencionado anteriormente, sobre que aún no hay declive cognitivo, pero hay diferencias entre los 4 grupos de ratas en cada entrenamiento, sobre todo al comparar el efecto del DPAT que induce una mejora. Por otro lado, en la figura 10 B vemos que las diferencias se observan entre los diferentes entrenamientos por lo que se demuestra que el factor aprendizaje es mejor en algunos grupos como es el de las ratas múltiparas tratadas con DPAT.

En cuanto a los errores cometidos durante los entrenamientos y el test, los podemos ver en la figura que se presenta a continuación (Fig. 11):

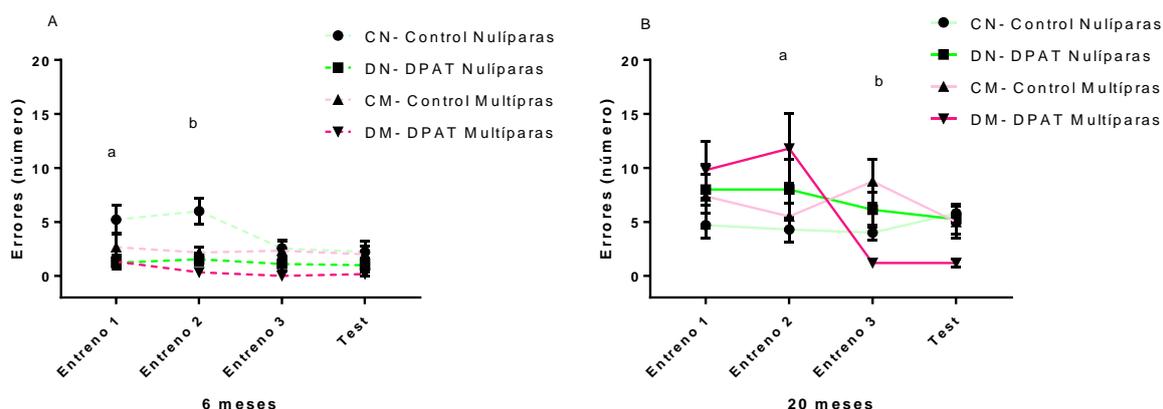


Fig. 11. Errores cometidos por los animales para encontrar el *target* durante los entrenamientos y el test. En la figura A vemos los errores de las ratas de 6 meses. En el análisis estadístico usado (ANOVA de dos factores) se observó que existen diferencias entre los diferentes grupos dentro de un mismo entrenamiento (a $p < 0,05$ al comparar CN con DN y DM; b $p < 0,05$ al comparar CN con DN, CM y DM). En la figura B se observaron diferencias entre los distintos entrenos dentro de un mismo grupo. Además se encontraron algunas diferencias en el segundo y tercer entreno (a $p < 0,05$ al comparar CN con DM y b $p < 0,05$ al comparar CM con DM).

En la figura 11 vemos un efecto muy parecido a la figura 10, en donde se ven las latencias. Podemos observar que en la figura 11 A los errores son escasos, y que el margen de mejora entre los diferentes grupos es bajo, siendo el grupo de ratas control nulíparas las que presentan más errores y más diferencias entre los distintos entrenamientos (mejoran con los entrenamientos), mientras que el resto lo hace con muy bajo número de errores desde el inicio. En las ratas viejas (Fig. 11 B) los errores son algo superiores, e igual que en el caso de las latencias, el factor aprendizaje es más marcado y mejor en el grupo de ratas viejas multíparas tratadas con DPAT.

Efecto de la funcionalidad del receptor 5-HT_{1A} en la mejora cognitiva.

Para ver si realmente la maternidad ayuda a preservar el sistema serotoninérgico, se calculó el porcentaje de mejora entre los grupos tratados con DPAT respecto a los grupos controles, tratados con salino, y se comparó si había diferencias entre el porcentaje de mejora de las ratas nulíparas y las multíparas de cada edad (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de mejora del 8-OH-DPAT (DPAT, 0,3 mg/kg, i.p.) en el test de Barnes

Grupo	Latencia (seg)			Errores (num)		
	Salino	DPAT	% DPAT mejora	Salino	DPAT	% DPAT mejora
6 meses						
Nulíparas	24,9 ± 4,67	6,7 ± 1,2	73 ± 4,8	2,2 ± 0,53	1,0 ± 0,47	77 ± 10,48
Multíparas	12,3 ± 5,8	5,5 ± 1	61 ± 8,5	2,0 ± 1,26	0,17 ± 0,1	96 ± 3,6
20 meses						
Nulíparas	57,2 ± 9,4	40,8 ± 9	28,5 ± 5,9	5,8 ± 0,78	5,2 ± 1,3	9,5 ± 2,3
Multíparas	50,0 ± 11,6	25,2 ± 11,4	49,6 ± 18	5,0 ± 1,46	1,2 ± 0,37	76 ± 7,4 *

* $p \leq 0,05$ comparación de mejora inducida por DPAT versus salino (%) en ratas madres respecto a ratas nulíparas analizada por t-test.

En la tabla 1 se muestra el efecto del 8-OH-DPAT en diversas edades de ratas control y ratas que han criado repetidamente, sobre las capacidades cognitivas en el test de Barnes. En cada grupo experimental, la mitad de los animales se trataron intraperitonealmente con salino (ClNa, 0,9%, 1 ml/kg) y la otra mitad con 8-OH-DPAT (0,3 mg/kg) para comparar el efecto producido por el fármaco. Se representan los valores absolutos del grupo tratado con salino y con del 8-OH-DPAT y la mejora inducida por el del 8-OH-DPAT (% bajada) respecto al efecto del salino.

En la tabla podemos observar que el DPAT mejora respecto al salino tanto en la latencia como en los errores. En las ratas jóvenes, estas mejoras inducidas por el DPAT no se ven muy acentuadas en el caso de comparar las ratas nulíparas con aquellas que han sido madres, ya que no se observan diferencias estadísticas cuando se aplica el t-test.

Por el contrario, cuando comparamos los grupos de nulíparas y multíparas en ratas viejas, vemos de entrada, que las mejoras inducidas por el DPAT son mucho mayores en el grupo de

las ratas multíparas en relación a las nulíparas, aunque solo se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los errores ($p < 0,05$).

Estrategias de búsqueda del target

Para finalizar, se comprobaron las estrategias utilizadas para realizar el test, por los diferentes grupos. Se muestran en la gráfica siguiente:

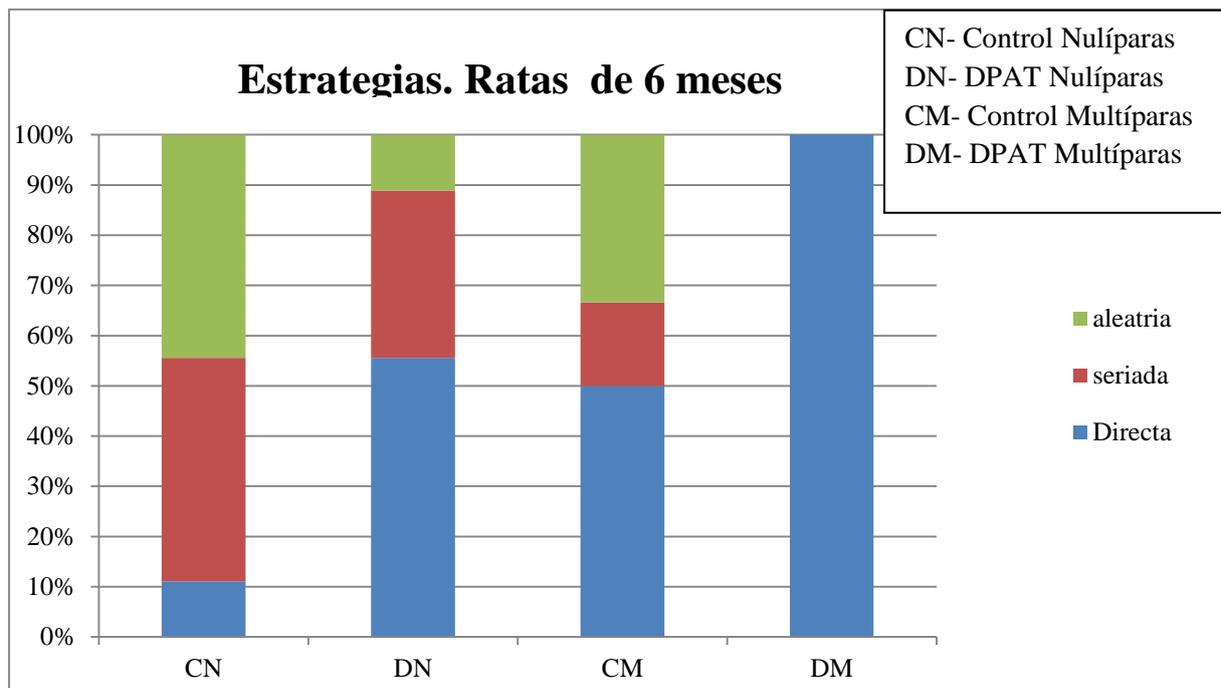


Fig. 12. Estrategia seguida durante el test de cada uno de los grupos de ratas jóvenes para localizar el *target*.

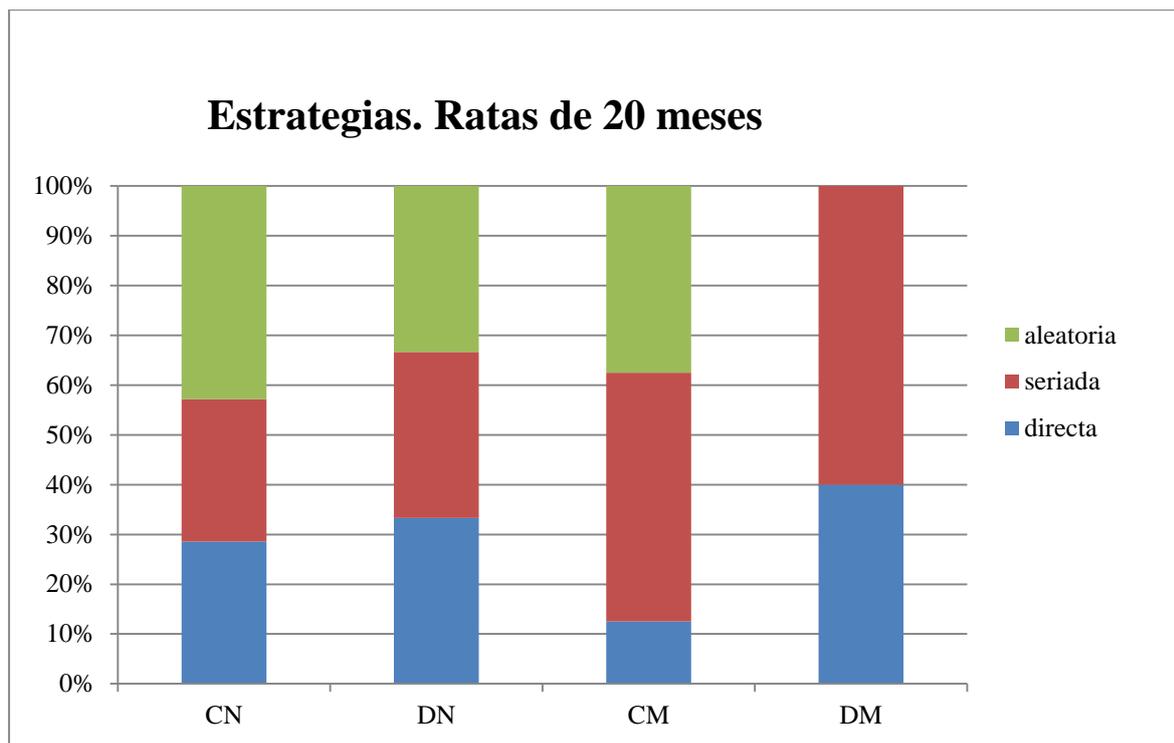


Fig 13. Estrategia seguida durante el test por cada uno de los grupos de ratas viejas para localizar el *target*.

De forma general, podemos observar que las ratas nulíparas tratadas con salino usan las tres estrategias en ambas edades y el tratamiento con DPAT aumenta el uso de la estrategia directa tanto en el grupo de ratas jóvenes como en el de ratas viejas, siendo la estrategia aleatoria la que disminuye. En ambas edades, la estrategia aleatoria no fue utilizada por ningún animal en los grupos de múltiparas tratadas con DPAT.

El uso de mejores estrategias de búsqueda del *target* y la ausencia de la peor estrategia (aleatoria) en ratas múltiparas tras el tratamiento con DPAT puede explicar las mejoras en las latencias y errores observados anteriormente. Además recordemos que una estrategia directa refleja una mayor funcionalidad del sistema serotoninérgico, y una estrategia seriada, refleja una mayor funcionalidad del sistema dopaminérgico. En cuanto a la estrategia aleatoria podría reflejar un deterioro cognitivo.

Discusión

Para comprobar si el enlentecimiento del declive cognitivo en ratas que han sido madres sucesivamente está asociado de algún modo con el sistema serotoninérgico, se realizó el “Test de Barnes” a los diferentes grupos de ratas jóvenes y viejas, nulíparas y multíparas, analizándose el efecto del agonista del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}. Con ello se evaluó la capacidad de mejora inducida por el fármaco en el aprendizaje, la memoria de trabajo, y la estrategia utilizada por los animales al utilizar una dosis de 0,3 mg/kg que es apropiada para ello (Haider et al., 2012), lo que se comprobó previamente.

Se analizaron tanto el tiempo que tardaron los animales en resolver la prueba, como los errores cometidos durante esta. También se analizó el aprendizaje durante los diferentes entrenos, el porcentaje de mejora entre los grupos tratados con salino y DPAT, y finalmente la estrategia seguida para llevar a cabo el test.

Lo primero que se vio, es que entre los grupos control de ratas nulíparas tratados con salino de ambas edades, se apreciaron diferencias estadísticamente significativas tanto en el tiempo utilizado como en los errores cometidos durante el test, lo cual hace patente el declive cognitivo que acontece con la edad, pero esas diferencias no se observaron en el grupo de ratas viejas que habían pasado por el proceso de cría repetidamente, con lo que podemos deducir que el proceso de cría puede mantener estable la memoria visuo-espacial a lo largo del envejecimiento, lo cual ya apuntaba el estudio de Kinsley y cols., (1999), donde se afirma que las ratas multíparas obtuvieron mejores resultados que las ratas nulíparas en un laberinto radial. Otro estudio (Pawluski et al., 2006), también indica que las ratas con experiencia reproductiva tienen mejor memoria espacial.

Si comparamos los resultados obtenidos en el grupo de ratas jóvenes podemos apreciar que los errores cometidos no difieren estadísticamente entre los grupos, sin embargo, sí que se observaron diferencias en las latencias de los grupos tratados con DPAT y los tratados con salino, mientras que en el caso de la maternidad no se observó un efecto suficiente, debido a que los animales jóvenes aún se encuentran en plenas facultades para realizar el test. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que a esa edad aún no ha empezado el declive cognitivo, con lo que las diferencias (en cuanto a los errores cometidos) son escasas, y por tanto no difieren estadísticamente unas de otras.

En cuanto a las ratas viejas podemos ver unas pequeñas mejoras entre los grupos tratados con DPAT respecto a los que son tratados con salino, de la misma manera que vemos que esa mejora aumenta en las ratas multíparas respecto a las nulíparas, lo cual sugiere la idea de que la mejora del sistema serotoninérgico relacionado con los procesos que acompañan la maternidad, ayudaría a prevenir el declive cognitivo a lo largo del envejecimiento.

En cuanto al aprendizaje, las ratas jóvenes difieren los resultados entre grupos, pero no se encuentran diferencias dentro de un mismo grupo en los diferentes entrenos, lo cual concuerda con los resultados explicados anteriormente, pues los mejores resultados los

obtuvieron las ratas multíparas tratadas con DPAT, pero sus resultados son buenos desde el primer entreno, las capacidades están al máximo desde el principio, por lo que la capacidad de mejora es limitada. En el caso de las ratas viejas, donde se hace patente el declive cognitivo, vemos una mejora significativa durante los entrenos de las ratas tratadas con el agonista DPAT, y en el caso de las ratas multíparas la mejora es aún mayor. Esto es otra evidencia de que en la maternidad repetida se ve mejorado el sistema serotoninérgico. El porcentaje de mejora resultó significativo en los errores cometidos, ya que las ratas viejas multíparas tratada con DPAT cometían menos errores en la búsqueda del *target* que sus controles.

En cuanto a la estrategia seguida, se ve una clara tendencia de aumentar la estrategia directa tanto en las ratas jóvenes como en las viejas, siendo la que aumentó mayoritariamente el grupo de ratas multíparas viejas tratadas con DPAT. Además en el caso de las ratas viejas, se ve un abandono de la estrategia aleatoria, que en el caso del grupo de nulíparas control es utilizada por un 30% de los animales y es una muestra del declive cognitivo.

El uso de una mejor estrategia de búsqueda como la directa a la hora de resolver el test, puede ser un factor clave en la reducción del declive cognitivo asociado a la edad observado en las ratas multíparas.

Los resultados sugieren que la pérdida de los receptores 5-HT como consecuencia del envejecimiento (Heninger et al., 1984; Siever et l., 1989), podría quedar preservada durante la maternidad, al menos parcialmente. Teniendo en cuenta que el test cognitivo utilizado para evaluar la capacidad cognitiva depende de la funcionalidad del hipocampo (Burke y Barnes, 2006; Mora et al., 2007) y que dicha región es rica en receptores serotoninérgicos (Meltzer et al., 1998), los cambios observados podrían tener lugar a nivel del hipocampo que es una región que mantiene una alta plasticidad a lo largo de la edad (Shapiro, 2001).

Hormonas muy relacionadas con la maternidad como es la oxitocina influyen en la producción de otras hormonas como los estrógenos, la dopamina, serotonina, prolactina y endorfinas. Es posible que una sucesiva estimulación del sistema serotoninérgico en las ratas multíparas haya podido contrarrestar el efecto de la edad en cuanto a la disminución de receptores serotoninérgicos, aunque esta hipótesis deberá ser contrastada en futuros estudios.

Conclusiones

De este trabajo experimental podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. Mediante las pruebas comportamentales realizadas, se ha observado un empeoramiento cognitivo al comparar ratas viejas con ratas jóvenes nulíparas, que no se observa en ratas viejas multíparas, lo que apunta a que el proceso de maternidad puede preservar el deterioro cognitivo asociado a la edad.
2. Al comparar los resultados de las ratas jóvenes tratadas con el agonista del receptor 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT, de las tratadas con salino, se han observado mejoras en la latencia de realización del test que corresponden con una mejor estrategia de búsqueda utilizada.
3. En cuanto a las ratas viejas tratadas con el agonista del receptor 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT, se han observado mayores porcentajes de mejora en los errores cometidos al realizar el test de Barnes en las ratas multíparas respecto a las nulíparas que podrían corresponder con una mejor estrategia de búsqueda utilizada, por influencia del sistema serotoninérgico.
4. En conjunto los resultados sugieren que la maternidad frena el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento y parte de este efecto podría estar relacionado con una mejor funcionalidad del receptor 5-HT_{1A}.

Agradecimientos

Quisiera agradecer a todo el departamento de Neurofisiología, el permitirme llevar a cabo este proyecto y exponer los resultados en el 2nd Interational Congres of Psycobiology. Y me gustaría agradecer especialmente a la doctora Susana Esteban la ayuda que me ha brindado durante la realización de todo el trabajo, y a Elena Hernández-Hernández por su ayuda durante el desarrollo de las pruebas comportamentales.

Bibliografía:

- Angoa-Pérez, M., Kane, M.J., Sykes, C.E., Perrine, S.A., Church, M.W., Kuhn, D.M. (2014) Brain serotonin determines maternal behavior and offspring survival. *Genes Brain Behav.* 13:579-591.
- Banerjee, S., Poddar, M.K. (2016) Aging –induced changes in brain regional serotonin receptor binding: effect of carnosine. *Neuroscience* 319:79-91.
- Burke, S. N., Barnes, C. A. (2006) Neural plasticity in the aging brain. *Nature Rev. Neurosci.*7:30–40.
- Cabot, A. (2016) Efecte de la maternitat en l'envelliment cerebral. Estudi neuroquimic i comportamental. Treball de fi de grau en biología. Universitat de les Illes Balears. Curs 2015-2016.
- Cirillo, J., Finch, J. B., Anson, J. G. (2017) The impact of physical activity on motor preparation in young adults. *Neurosci. Lett.* 638:196–203.
- Esteban. S., Hernández-Hernández E., Montserrat F.P., de la Cruz A.B., Cabot A., Ramis M.R., Miralles, A., Moranta D., (2017) Motherhood improves cognition in female aged rats. Role of 5-HT1A receptors. 2nd International Iongress of Psychobiology, Avila. P. 22.
- Haider, S., Khaliq, S., Tabassum, S., Haleem, D.J. (2012) Role of Somatodendritic and Postsynaptic 5-HT1A Receptors on Learning and Memory Functions in Rats. *Neurochem. Res.* 37:2161–2166.
- Heninger, G.R., Chrney, D.J., Stenberg, D.E. (1984) Serotonergic function in depression: prolactin response to intravenous tryptophan in depressed patients and healthy subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* 41:398-402.
- Kinsley, C.H., Bardi, M., Karelina, K., Rima, B., Christon, L., Friedenber, J., Griffin, G. (2008) Motherhood induces and maintains behavioral and neural plasticity across the lifespan in the rat. *Arch. Sex. Behav.* 37:43–56.
- Kinsley, C.H., Madonia, L., Gifford, G.W., Tureski, K., Griffin, G. R., Lowry, C., ... and Lambert, K.G. (1999) Motherhood improves learning and memory: Neural activity in rats is enhanced by pregnancy and the demands of rearing offspring. *Nature* 402:137–138.
- Meltzer, C., Smith, G., DeKosky, S., Pollock, B., Mathis, C., Moore, R., y Reynolds, C. (1998) Serotonin in Aging , Late-Life Depression, and Alzheimer ' s Disease: The Emerging Role of Functional Imaging. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 18: 407–430.
- Meneses, A. (1999) 5 HT system and cognition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23:1111-1125.

- Meneses, A., Perez-Gacia, G. (2007) 5-HT(1A) receptors and memory. *Neurosci. Biobehav.Rev.* 31:705-727
- Mora, F., Segovia, G., Del Arco, A. (2007) Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res. Rev.* 55:78-88.
- Pawluski, J. L., Walker, S. K., Galea, L. A. (2006) Reproductive experience differentially affects spatial reference and working memory performance in the mother. *Horm. behav.* 49:143-149.
- Pedišić, Ž., Rakovac, M., Titze, S., Jurakić, D., Oja, P. (2014) Domain-specific physical activity and health-related quality of life in university students. *Eur. J. Sport Sci.* 14:492–499.
- Rodberg, E.M., den Hartog, C.R., Anderson, R.I., Becker, H.C., Moorman, D.E., Vazey, E.M. (2017) Stress Facilitates the Development of Cognitive Dysfunction After Chronic Ethanol Exposure. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2017 Jul 28. doi: 10.1111/acer.13444.
- Shapiro, M. (2001) Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps. *Arch. Neurol.* 58: 874–881.
- Siever, L.J., Murphy, D.L., Slater, S., De La Vega, E., Lipper, S. (1984) Plasma prolactin changes following fenfluramine in depressed patients compared to controls: an evaluation of central serotonergic responsivity in depression. *Life Sci.* 34:1029-1039.
- Tejada, S., Rial, R.V., Coenen, A.M., Gamundi, A., Esteban, S. (2007) Effects of pilocarpine on the cortical and hippocampal theta rhythm in different vigilance states in rats. *Eur. J. Neurosci.* 26:199-206.
- Vankim, N. A., Nelson, T. F. (2013) Vigorous physical activity, mental health, perceived stress, and socializing among college students. *Am. J. Health Promot.* 28:7–15.

Parte de estos resultados han sido presentados por el autor de este trabajo de fin de grado, en el 2nd International Congress of Psychobiology. Ávila 2017.

Motherhood improves cognition in female aged rats. Role of 5-HT_{1A} receptors

Esteban S., Hernández-Hernández E., Montserrat F.P., de la Cruz A.B., Cabot A., Ramis M.R., Miralles, A., Moranta D.
Laboratory of Neurophysiology, University of Balearic Islands, Spain.

INTRODUCTION. Working memory (WM) is a key function for several higher-order cognitive functions whose declines in late adulthood is considered one of the main contributing factors of cognitive impairment in elderly. As motherhood is accompanied by functional changes in the nervous system, the aim of this work was to analyze the impact of repeated motherhood on the cognitive decline associated to aging in female rats. In addition serotonergic system was analyzed since exert profound influence on different elements of maternal behavior and cognitive processes.

METHODS The hippocampus dependent test 8-arm radial maze was used to analyze changes of the spatial WM throughout the age in two groups of female rats (nulliparous and mothers). Trials were judged complete when rats had chosen all 8 arms or spent 20 min in the trial; re-entered or non-entered arms were computed as errors. After this, the levels of serotonin were measured in hippocampus by HPLC. Additionally, it was investigated the functionality of 5-HT_{1A} receptors by comparing the effect of 8-OH-DPAT (0.3mg/kg, i.p.) on spatial learning using the Barnes test in both experimental groups at the different ages. In the Barnes maze, strategies used to find the target were analyzed along with the time spent and errors committed.

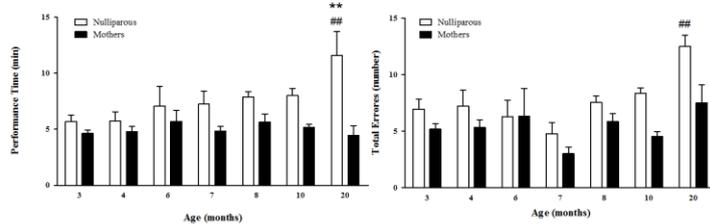


FIG. 1. Effects of motherhood in rats on the eight-arm radial maze test compared with nulliparous female rats. Bars represent means \pm standard error of the mean (SEM) of the time spent to complete the test (A) and the sum of errors made during the test (B). ** $p < 0.01$ comparing both groups, (##) $p < 0.01$, comparing 3 and 20 months (Two-way ANOVA followed by bonferroni post-hoc)

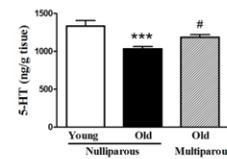


FIG. 2. Effects of motherhood in rats on 5-HT content in hippocampus; *** $p < 0.001$ comparing young and old nulliparous rats, (#) $p < 0.05$, comparing multiparous and nulliparous rats (One-way ANOVA followed by bonferroni post-hoc)

Table 1. Acute effect of 8-OH-DPAT (DPAT, 0.3 mg/kg, i.p.) on Barnes test

Group	Latency (sec)			Errors (number)		
	Saline	DPAT	% DPAT improvement	Saline	DPAT	% DPAT improvement
Nulliparous	57.2 \pm 9.4	40.8 \pm 9	28.5 \pm 5.9	5.8 \pm 0.78	5.2 \pm 1.3	9.5 \pm 2.3
Multiparous	50.0 \pm 11.6	25.2 \pm 11.4	49.6 \pm 18	5.0 \pm 1.46	1.2 \pm 0.37	76 \pm 7.4 *

* $p \leq 0.05$ comparing the improvement induced by DPAT versus saline (%) in mothers respect to nulliparous rats by t-test

RESULTS. A cognitive impairment associated with aging was observed in nulliparous control rats as the time required to complete the test increased significantly from 3 to 20 months (Fig 1 A) accompanied by a significant augment in errors (Fig 1 B) and a decrease in the serotonin levels (Fig 2). At contrary, multiparous females did not show significant differences in WM with age and showed greater levels of serotonin than control female rats at 20 months. Activation of the 5-HT_{1A} receptor induced an improvement in the performance of the Barnes test at 20 months that involved decrease in the time spent to complete the task and number of errors (Table 1) and was more pronounced in multiparous than in nulliparous rats respective to saline group. It was observed that multiparous rats used more efficient searching strategies to find the target (serial and direct respect to the random) than nulliparous rats.

CONCLUSION

Altogether, the results suggest that motherhood slows the cognitive decline associated to aging and part of this effect could be related to better functionality of the 5-HT_{1A} receptor.

This work has been performed thanks to grants from the Ministerio de Economía y Competitividad of the Spanish Government, numbers SAF2014-55903-R (MINECO).