

Influencia del enriquecimiento ambiental sobre los parámetros cognitivo y conductual del ratón Ts65Dn, un modelo de síndrome de Down (*)

Carmen Martínez-Cué (**)

RESUMEN

El ratón Ts65Dn presenta una trisomía parcial de un segmento de su cromosoma 16 que es homólogo al 21 humano, siendo en la actualidad el modelo de síndrome de Down más estudiado. Se ha demostrado que la técnica del enriquecimiento ambiental modifica diversos parámetros fisiológicos cerebrales y mejora el aprendizaje en roedores. Hemos evaluado los efectos del enriquecimiento ambiental sobre las habilidades cognitivas y conductuales de este modelo murino de síndrome de Down. Primero validamos la técnica del enriquecimiento ambiental mediante el estudio de sus efectos sobre la conducta y aprendizaje en el ratón Swiss y, dado que el fondo genético es uno de los determinantes más importantes de la conducta, en la cepa parental del ratón Ts65Dn (el ratón BL6C3H). El enriquecimiento ambiental mejoró el aprendizaje y memoria de los ratones Swiss machos y hembras, pero no de los BL6C3H. En el ratón trisómico, el enriquecimiento redujo parcialmente la actividad

espontánea de las hembras y la incrementó en los machos. La conducta exploratoria en la tabla de agujeros mejoró en todos los grupos enriquecidos, con independencia del sexo o del genotipo. En el laberinto acuático de Morris, que mide el aprendizaje y memoria visoespacial, el enriquecimiento produjo una mejoría de la memoria espacial en las hembras control pero no en los machos control. La ejecución de los cuatro grupos de animales control también fue siempre mejor que la de los trisómicos. El enriquecimiento produjo una mejoría en la ejecución de las hembras trisómicas; sin embargo, deterioró la ejecución de los machos trisómicos. El enriquecimiento no modificó la memoria medida en el test de evitación pasiva, ni en los ratones controles ni en los trisómicos.

Se puede concluir que el enriquecimiento fue capaz de inducir cambios conductuales y de aprendizaje en los ratones trisómicos, pero existen diversos factores que pueden influir el signo de tales cambios. En el presente caso, el sexo fue un factor condicionante ya que mejoró el déficit cognitivo en hembras mientras que lo empeoró en machos. Esto puede deberse a la perturbación que el enriquecimiento provocó en el comportamiento de ratones macho, capaz de alterar los procesos cognitivos, como ha sido demostrado por otros autores en diversos modelos conductuales realizados en ratones.

(*) El presente trabajo es una parte de la Tesis Doctoral presentada y defendida por su autora (sobresaliente *cum laude*), y dirigida por el Dr. Jesús Flórez, catedrático de Farmacología de la Universidad de Cantabria.

(**) Investigadora del Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo, Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Cantabria, Santander (España). (E-mail: martinec@unican.es).

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la utilización de técnicas y programas de estimulación precoz y de atención temprana en sus diversas variantes se encuentran ampliamente difundidas para tratar o prevenir los problemas derivados de la patología del desarrollo. Desde la década de los setenta del pasado siglo, se han ido extendiendo los servicios de atención temprana en los que, combinando intervenciones de carácter psicopedagógico y fisioterapéutico, se pretende paliar limitaciones y promover el mejor desarrollo posible del niño con síndrome de Down. Aunque se considera que, en conjunto, la atención temprana ejerce efectos positivos, resulta más discutible el impacto que pueda producir a largo plazo (Guralnick, 2000).

La base sobre la que se fundamentan los programas de estimulación precoz y atención temprana es la propiedad de la plasticidad del sistema nervioso, merced a la cual es capaz de modificar su estructura y su función de manera estable en respuesta a los estímulos externos e internos que recibe.

¿Hasta dónde puede llegar esta propiedad de la neuroplasticidad en un cerebro que nace genéticamente modificado por una alteración cromosómica, como es el caso de la trisomía del cromosoma 21 que caracteriza al síndrome de Down?

Son muchas las variables que inciden en la realidad humana, lo que hace con frecuencia difícil evaluar los factores positivos y negativos que condicionan el resultado final de la atención temprana sobre un niño con síndrome de Down. Indudablemente, la experimentación con animales en las condiciones de un laboratorio, reduce muchas de esas variables y permite analizar de modo más preciso los resultados de esas influencias.

Los pilares sobre los que basó la realización del presente trabajo fueron los siguientes:

1. La disponibilidad de modelos animales de síndrome de Down, especialmente los ratones que presentan una trisomía parcial de su cromosoma 16: **el ratón Ts65Dn**.
2. La utilización de una técnica fiable y contrastada de estimulación en las primeras semanas de vida del animal, llamada **enriquecimiento ambiental**.
3. La disponibilidad de diversas **técnicas instrumentales** que permiten evaluar y medir los cambios obtenidos en el comportamiento y en la capacidad de aprendizaje de los ratones.

EL MODELO

Se han propuesto diversas estrategias para modelar el síndrome de Down en animales. El cromosoma 16 murino posee en su región distal una serie de genes cuyos homólogos en el ser humano se encuentran en la región crítica «síndrome de Down» del cromosoma 21 humano. Basándose en esta elevada homología se ha propuesto que el ratón con trisomía del cromosoma 16 (el ratón Ts16) podría ser un modelo de síndrome de Down (Epstein et al., 1985). Sin embargo, esta homología no es completa ya que el segmento proximal del cromosoma 16 murino contiene genes localizados en otros cromosomas humanos (el 3, el 8, el 22 y el 16); además, estos animales no son viables.

Debido a las limitaciones del ratón Ts16 se han desarrollado nuevos modelos animales en los que sólo la región homóloga entre el cromosoma 16 de ratón y el 21 humano se encuentre en trisomía, tales como el ratón Ts65Dn (Davisson et al., 1990) y el Ts1Cje (Huang et al., 1997).

En la actualidad el modelo de síndrome de Down más estudiado es el ratón Ts65Dn. Estos animales presentan muchas de las alteraciones fenotípicas presentes en las personas con síndrome de Down (tabla 1). Así, al igual que en la condición humana este ratón presenta similares alteraciones en la morfología neuronal tales como reducciones en el tamaño y celularidad de diversas reducciones cerebrales, degeneración neuronal y modificaciones en el número y tamaño de las sinapsis (Baxter et al.; 2000; Granholm et al., 2000; Holtzman et al. 1996; Insausti et al, 1998; Kurt et al; 2000). El ratón Ts65Dn y las personas con síndrome de Down, presentan alteraciones neuroquímicas (Dierssen et al., 1996; 1997; Lumbreras et al., 2000; Ruiz de Azúa et. al., 2001) y electrofisiológicas similares (Siarey et al., 1997; 1999; Galdzicki et al., 2000; 2001). A nivel conductual ambos muestran un retraso en el desarrollo, menor capacidad de atención y alteraciones de aprendizaje y memoria de diverso índole (Escorihuela et al., 1995a, 1998; Holtzman et al., 1996). Por último, igual que se observa en el síndrome de Down, el ratón Ts65Dn envejece antes, tiene una menor respuesta a estímulos dolorosos, y alteraciones inmunológicas (Martínez-Cué et al., 1999; Paz-Miguel et al., 1999). Por tanto, el ratón Ts65Dn es un buen modelo murino de síndrome de Down.

TABLA 1. Similitudes entre el fenotipo SD y el del ratón Ts65Dn

Alteraciones	Ts65Dn	Síndrome de Down
Neuromorfológicas	↓ En el tamaño y peso de corteza, hipocampo y cerebelo ↓ En densidad neuronal Hipertrofia astrocítica Degeneración neuronal ↓ En el número y morfología sináptica	↓ En el tamaño y peso de corteza, hipocampo y cerebelo ↓ En densidad neuronal Migración y diferenciación neuronal anormal Degeneración neuronal ↓ En el número y morfología sináptica
Neuroquímicas	↓ Eficacia de los sistemas adenilil ciclasa, fosfolipasa C	↓ Eficacia de los sistemas adenilil ciclasa, fosfolipasa C
Electrofisiológicas	↓ Potenciación a largo plazo ↑ Depresión a largo plazo	Modificaciones en potenciales evocados
Conductuales	Retraso en el desarrollo Hiperactividad ↓ Atención Alteraciones del aprendizaje Alteraciones de la memoria Conducta agresiva	Retraso en el desarrollo Hiperactividad ocasional ↓ Atención Alteraciones del aprendizaje Alteraciones de la memoria Alteraciones de la conducta
Otras	Infertilidad en machos ↓ Respuesta al dolor Alteraciones craneofaciales Anomalías en el timo y otras anomalías inmunológicas Envejecimiento rápido	Infertilidad en varones ↓ Respuesta al dolor Alteraciones craneofaciales Anomalías en el timo y otras anomalías inmunológicas Envejecimiento rápido

LOS MÉTODOS

Uno de los objetivos del presente trabajo era desarrollar estrategias terapéuticas para revertir las alteraciones fenotípicas encontradas en el ratón Ts65Dn. Dado que el cerebro es un órgano muy plástico, es decir, es modificado por estímulos que llegan a él, se valoró la posibilidad de que esos estímulos modificaran la cualidad de la función cerebral de estos animales. Uno de los métodos utilizados experimentalmente para manipular el ambiente es el **enriquecimiento ambiental**, que es un paradigma experimental que consiste en mantener animales muy jóvenes en unas condiciones que les proporcionen mucha estimulación física y social.

Se sabe que el enriquecimiento ambiental produce cambios en la morfología cerebral, en su fisiología y en la conducta de roedores, tanto normales como con lesiones cerebrales inducidas artificialmente. A nivel neuromorfológico el enriquecimiento incrementa el volumen y el peso de la corteza cerebral, incrementa la longitud y la ramificación dendrítica y el número de contactos sinápticos (Diamond et al., 1964; Pascual y Figueroa, 1996; Rampon et al., 2000a; Rosenzweig et al., 1972a, b). Todas

estas modificaciones son debidas a modificaciones en la expresión de un gran número de genes muchos de los cuales están relacionados con la estructura, la plasticidad y la transmisión neural (Rampon et al., 2000b). Además, los cambios en el entorno son también capaces de modular la función de diferentes sistemas de neurotransmisión y de incrementar la producción de factores neurotróficos (Rampon et al., 2000b; Rosenzweig et al., 1972b; Torasdotter et al., 1996; 1998; Young et al., 1999). Por último, el enriquecimiento modifica numerosos parámetros conductuales, produciendo una mejoría en funciones sensoriales y motoras, incrementando la actividad exploratoria y mejorando distintos procesos de aprendizaje y memoria (Escorihuela et al., 1994; 1995b; Fernández-Teruel et al., 1992; 1997; Mohammed et al., 1990; Prusky et al., 2000).

Dados los efectos beneficiosos del enriquecimiento sobre las capacidades de aprendizaje y memoria de los ratones, el objetivo general de este trabajo fue analizar la capacidad del enriquecimiento ambiental para revertir los déficits cognitivos que se habían observado en los estudios anteriores realizados en el ratón Ts65Dn (Escorihuela et al., 1995a, 1998).

Hay un gran número de trabajos que demuestran que las diferencias genéticas dentro de una misma especie ejercen una profunda influencia sobre el comportamiento (ver Crawley et al., 1997). Por este motivo antes de analizar la respuesta del ratón trisómico tuvimos que estudiar la conducta de la cepa originaria de la que deriva dicho ratón: el ratón BL6C3H. Además, también comparamos los efectos del enriquecimiento sobre la capacidad cognitiva de la cepa BL6C3H con sus efectos en una cepa estándar de laboratorio: el ratón Swiss.

El enriquecimiento ambiental consistió en mantener durante 7 semanas a grupos de 10 animales en jaulas grandes con varios pisos, escaleras, columpios y túneles. Se introdujeron juguetes de diferentes formas, colores, texturas y olores, y progresivamente se incrementaron las dificultades para acceder a la comida. A continuación se evaluaron los efectos del enriquecimiento en diversos parámetros conductuales y cognitivos.

En las cepas de ratones Swiss y Ts65Dn se estudiaron de forma separada los grupos de machos y hembras. Además, los efectos del enriquecimiento en los ratones Ts65Dn fueron comparados con los conseguidos en sus hermanos nacidos de las mismas camadas pero que no presentaban la trisomía parcial y fueron considerados como controles. En cada grupo experimental, un conjunto de ratones fue criado en las jaulas con enriquecimiento ambiental, mientras que otro conjunto permaneció en las jaulas estándar de laboratorio.

LOS RESULTADOS

En primer lugar se evaluó la influencia del enriquecimiento ambiental sobre la **actividad locomotora** espontánea de los ratones durante 24 horas, en un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (sabido es que los roedores muestran mayor actividad en la oscuridad). Para ello se utilizó el actímetro, un aparato que detecta los cambios producidos por el movimiento de los ratones en un campo magnético. El enriquecimiento no produjo cambios en la actividad locomotora de la cepa parental del ratón trisómico, el ratón BL6C3H, excepto una ligera reducción durante las horas de oscuridad. En el caso de los ratones Ts65Dn se encontró que los machos trisómicos enriquecidos eran más activos que el resto de los animales; mientras que las hembras trisómicas enriquecidas se comportaron de manera contraria, es

decir, fueron menos activas que el resto de los grupos de animales.

Para evaluar los efectos del enriquecimiento sobre la **exploración** se utilizó la prueba de la tabla de agujeros. En esta prueba el aparato consiste en una superficie plana con 4 agujeros en dos de los cuales se esconden objetos. Se observó que los ratones que habían sido enriquecidos eran más exploradores, tanto si eran controles como si eran trisómicos y tanto si eran machos como si eran hembras, aunque el efecto del enriquecimiento fue más acusado en éstas últimas.

Aprendizaje y memoria visoespacial

A continuación analizamos los efectos del enriquecimiento sobre los **déficits cognitivos** encontrados en el ratón Ts65Dn. Para ello se utilizó **la prueba de aprendizaje espacial** del laberinto acuático de Morris. En esta prueba se evalúa la capacidad del ratón de aprender y recordar la manera de escapar de una situación aversiva: un tanque de agua (fig. 1). Para escapar los ratones tienen que aprender a localizar en el tanque una plataforma sumergida dos centímetros por debajo del nivel del agua, para ello pueden ayudarse guiándose con pistas que hay en la habitación (posters, puertas, ventanas, etc.).

Antes de aprender

Plataforma oculta

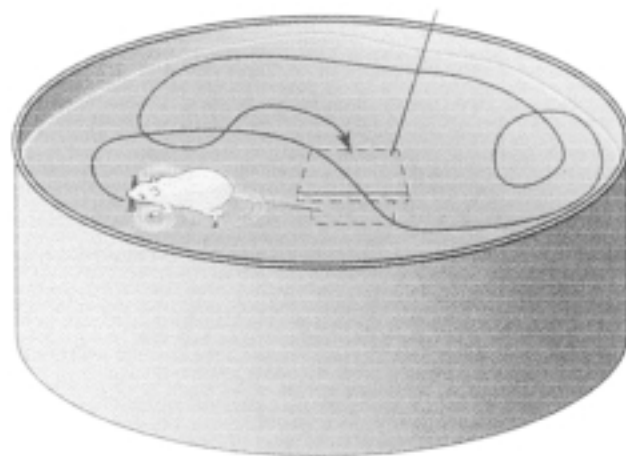


Figura 1.

La capacidad de aprendizaje se evalúa midiendo el tiempo que tarda el animal desde que es colocado en el agua hasta que encuentra la plataforma. Dado que el enriquecimiento

ambiental modificó la velocidad de natación de los animales, hubo que recurrir a medir no los tiempos, sino las distancias recorridas dentro del agua. Lo que habitualmente se hace es someter al animal a pruebas sucesivas en el mismo día y en días consecutivos. Lógicamente el animal aprende, lo que se demuestra por la caída o reducción paulatina de los tiempos de natación a lo largo de las sucesivas sesiones.

El enriquecimiento ambiental mejoró la capacidad de aprender la localización de la plataforma en los ratones Swiss, tanto machos como hembras (fig. 2A). Sin embargo, no modificó la capacidad de aprendizaje de la cepa parental del ratón Ts65Dn, los ratones BL6C3H (fig. 2B). Por otro lado se pudo comprobar que la ejecución de los ratones BL6C3H en esta prueba fue superior a los de la cepa Swiss, ya que a los ratones BL6C3H no enriquecidos les costaba tan poco como a los ratones Swiss enriquecidos aprender la localización de la plataforma. Para evaluar los posibles déficits motores o motivacionales, se realizó una prueba de **aprendizaje guiado**. Consiste esta prueba en que la plataforma es visible ya que emerge dos centímetros por encima del nivel del agua. Se trata de establecer si los distintos grupos de ratones difieren en su capacidad para alcanzar la plataforma cuando ven dónde está. En estas condiciones no se encontraron diferencias en la ejecución de los ratones BL6C3H enriquecidos y no enriquecidos (fig. 2B). En el caso de los ratones Swiss las hembras enriquecidas recorrieron menor distancia para alcanzar la plataforma (fig. 2A), lo que indica que los efectos producidos por el enriquecimiento durante las sesiones en que tenían que aprender la localización de la plataforma podrían ser, en parte, debidos a mejorías en capacidades motoras o motivacionales.

Para evaluar la memoria de los animales respecto al lugar donde se encontraba la plataforma durante el entrenamiento, se retiró la plataforma del tanque y se midió por dónde buscaba el ratón la plataforma, es decir, en qué medida recordaba la localización de la plataforma. De nuevo los ratones Swiss enriquecidos, tanto machos como hembras, demostraron una mejor memoria del lugar donde había estado la plataforma. Sin embargo, al igual que ocurría en las capacidades de aprendizaje, el enriquecimiento tampoco modificó la memoria de los machos BL6C3H.

A continuación abordamos el estudio del efecto del enriquecimiento ambiental sobre la capacidad de aprendizaje del ratón trisómico. Los ratones Ts65Dn tanto machos como hem-

bras mostraron mayor dificultad para aprender la localización de la plataforma. Este hecho ya había sido descrito por nuestro grupo y por otros laboratorios en el caso de los machos trisómicos, pero es la primera vez que se describe en hembras. Estas diferencias fueron debidas a diferencias en capacidad de aprender y recordar la localización de la plataforma, ya que al realizar la misma prueba pero con la plataforma visible no se encontraron diferencias entre controles y trisómicos, fueran machos o hembras, lo que excluye que la mayor dificultad de los ratones Ts65Dn fuera debida a una peor capacidad de nadar o a una menor motivación para encontrar la plataforma.

El enriquecimiento ambiental produjo una mejoría significativa en el aprendizaje de las hembras, tanto de las controles (fig. 2D) como de las trisómicas (fig. 2F). Durante la fase de aprendizaje guiado, las hembras controles enriquecidas siguieron mostrando mejor ejecución que las no enriquecidas, lo que sugiere que, en parte, la mejoría inducida por el enriquecimiento en este grupo podría ser debida a mejorías motoras o motivacionales. Sin embargo, en las hembras trisómicas la mejoría inducida por el enriquecimiento parece ser debida a mejorías en los procesos cognitivos.

En cambio, el enriquecimiento ambiental no ejerció efectos positivos sobre el aprendizaje de los machos controles (fig. 2C), al igual que ocurría en el caso de los machos de su cepa parental, los BL6C3H, en los que el enriquecimiento tampoco modificó la capacidad de aprendizaje. Pero además, el enriquecimiento deterioró la ejecución de los machos Ts65Dn (fig. 2E), ya que éstos mostraban mayores dificultades para aprender la manera de escapar del tanque que los Ts65Dn no enriquecidos. Este hecho podría ser debido a que la estimulación recibida durante el enriquecimiento no hubiese sido positiva para ellos. Los ratones machos son muy agresivos, y es posible que el vivir en grupos tan grandes y sometidos a mucha estimulación durante tanto tiempo hubiesen resultado estresantes para los trisómicos, de modo que interfiriera con su capacidad de aprendizaje.

También se encontraron diferencias en la ejecución de los ratones machos y hembras en esta prueba, ya que las hembras control tuvieron una ejecución peor que los machos control y las hembras trisómicas también presentaron mayores dificultades que los machos trisómicos. Sin embargo, el enriquecimiento ambiental hizo desaparecer los déficits encontrados en hembras controles y trisómicas. En la prueba de platafor-

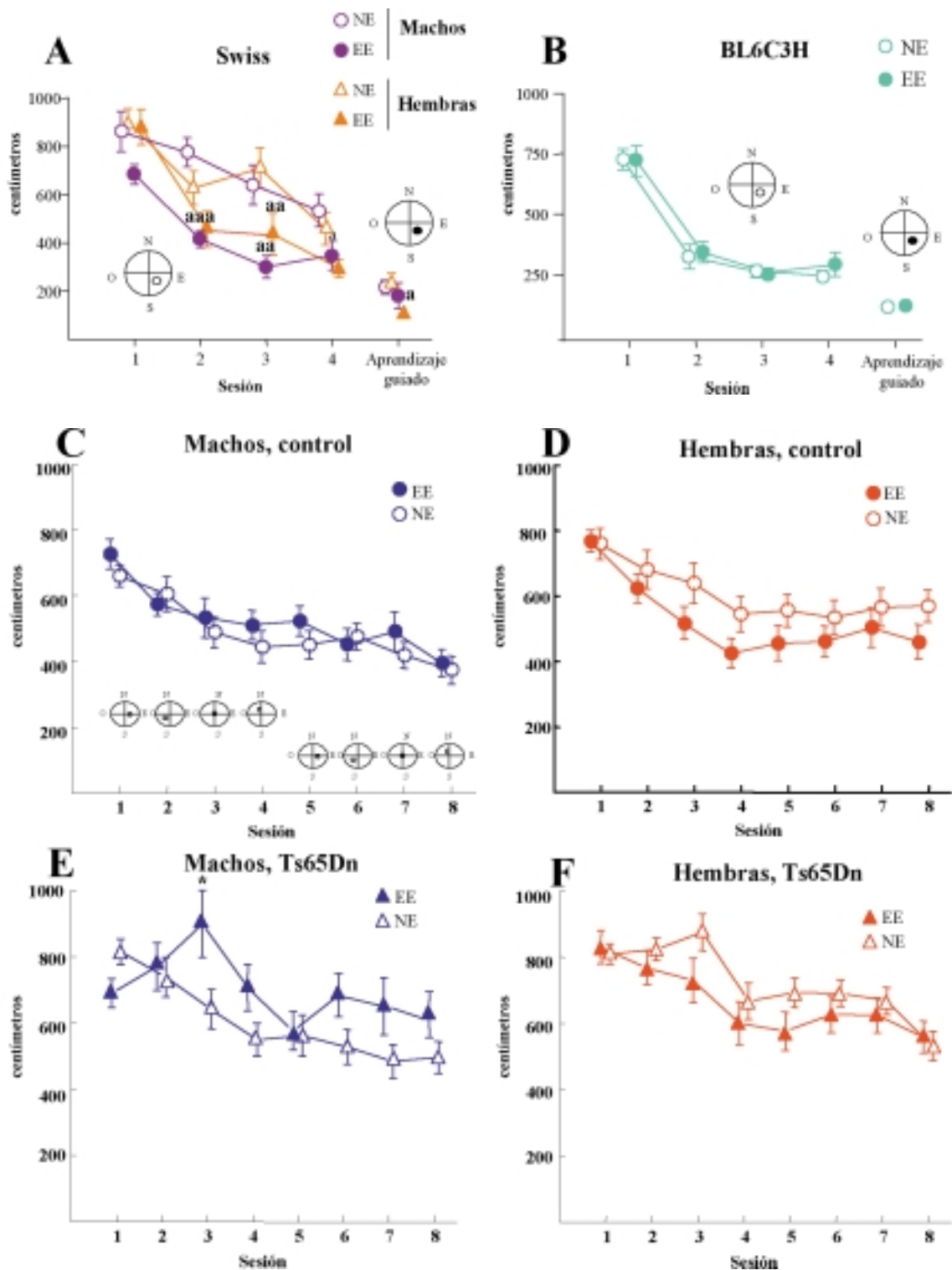


Figura 2. Media \pm E.E.M. de la distancia total recorrida por ratones Swiss machos y hembras (A) y BL6C3H machos (B); controles machos (C) y hembras (D) y trisómicos machos (E) y hembras (F) enriquecidos y no enriquecidos a lo largo de las sesiones de adquisición. a: $p < 0.05$, aa: $p < 0.01$, aaa: $p < 0.001$, SW NE. Prueba Duncan tras ANOVA significativo *: $p < 0.05$. Prueba *t* de Student.

ma visible también se encontraron diferencias significativas en la ejecución de machos y hembras. Al igual que se observaba durante la fase de adquisición, cuando veían la plataforma las hembras no enriquecidas tuvieron peor ejecución que los machos, y esta diferencia desapareció tras el enriquecimiento; lo que indica que

las diferencias descritas entre machos y hembras no enriquecidos parecen ser debidas a una peor capacidad motora o a menor motivación, pero no a diferencias en capacidad de aprendizaje.

Nos interesaba saber también si los cambios observados en la capacidad cognitiva como consecuencia del enriquecimiento ambiental se

debían a modificaciones en la estrategia empleada por los ratones. A pesar de que la plataforma iba cambiando de posición en cada una de las sesiones, estaba siempre situada en una zona central, por tanto los ratones deberían haber buscado la plataforma por la zona central del tanque de agua. Pues bien, la mejoría provocada por el enriquecimiento ambiental se debió fundamentalmente a que los ratones nadaron más por la zona central que por la periférica: mejoraron su estrategia. En cambio, el empeoramiento se debió a un incremento de búsqueda en la zona periférica. Es decir, los machos trisómicos enriquecidos, así como las hembras trisómicas no enriquecidas, que fue-

ron los grupos que peor ejecución demostraron, recorrieron un porcentaje mayor de distancia por la periferia del aparato (fig. 3A) y, por tanto, uno menor por el centro (fig. 3B). Su estrategia era menos adecuada ya que buscaban la plataforma por donde nunca había estado.

Otro aspecto que quisimos investigar fue, dentro de la memoria espacial, el tipo de memoria que más podía ser afectada por el enriquecimiento: la memoria operacional o a corto plazo, y la memoria de referencia o a largo plazo. Para ello hubimos de utilizar un paradigma especial, repitiendo dos veces la misma posición de cada entrada del animal en el tanque, con una separación de 60 segundos entre

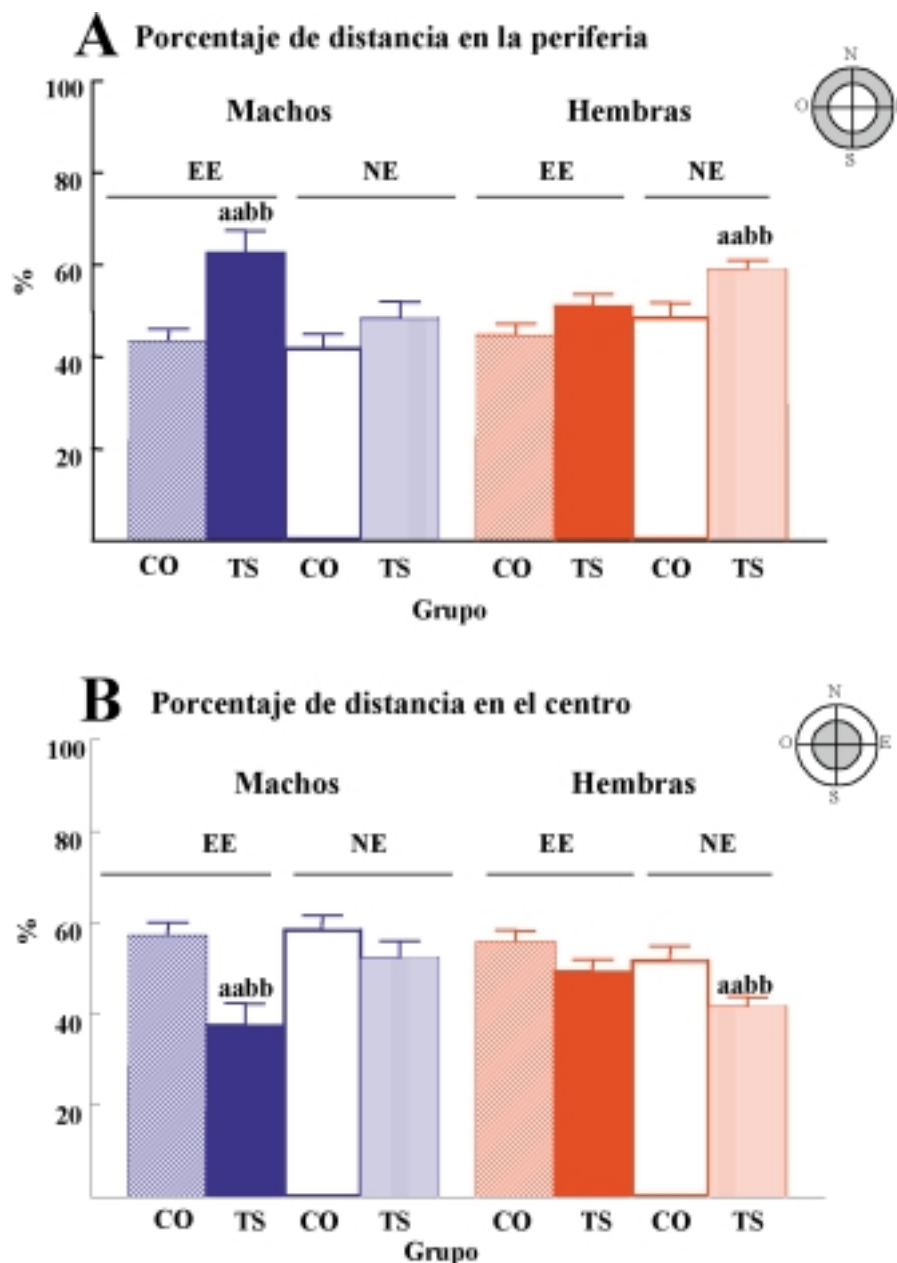


Figura 3. Media \pm E.E.M. del porcentaje medio de distancia recorrida en la periferia (A) y centro (B) del aparato por los distintos grupos de ratones machos y hembras. aa: $p < 0.01$ TS vs. CO.; bb: $p < 0.01$ EE vs. NE. Prueba Duncan tras ANOVA significativo.

cada entrada de cada pareja. Lo lógico sería pensar que, si el animal tenía buena memoria a corto plazo, en la segunda entrada (entrada par) la respuesta del animal fuese igual o mejor que tras la primera, pero no peor.

Se encontró que los efectos del enriquecimiento fueron más acusados en la memoria a corto que a largo plazo. Es decir, la mejoría en ejecución en hembras tanto controles como trisómicas fue más marcada en las pruebas pares que en las impares (fig. 4B): memoria a corto plazo. Del mismo modo, el empeoramiento en la ejecución encontrado en los machos trisómicos tras el enriquecimiento fue en las pruebas pares (fig. 4A).

Memoria no espacial: la evitación pasiva

A continuación analizamos los efectos del enriquecimiento en una prueba de memoria no

espacial, la prueba de la evitación pasiva. El aparato consistió en una caja con dos compartimentos, uno claro y otro oscuro. El ratón tiende espontáneamente a ir a los espacios oscuros; pero en esta prueba se le enseña a asociar el espacio oscuro (en principio, el más apetecible) con una consecuencia desagradable, la administración de una descarga eléctrica. De esta manera, en la siguiente ocasión en que se realiza la prueba, el ratón debe recordar esa asociación y demora el tiempo que tarda en penetrar en su ambiente preferido, el oscuro. Este tiempo es el que se toma como índice de recuerdo.

El enriquecimiento ambiental no modificó la capacidad de los ratones BL6C3H machos o de los Ts65Dn machos y hembras de recordar a corto o largo plazo que la entrada en el compartimento oscuro tenía una consecuencia desagradable, ya que no se encontraron diferencias en la capacidad de los distintos grupos de ratones de

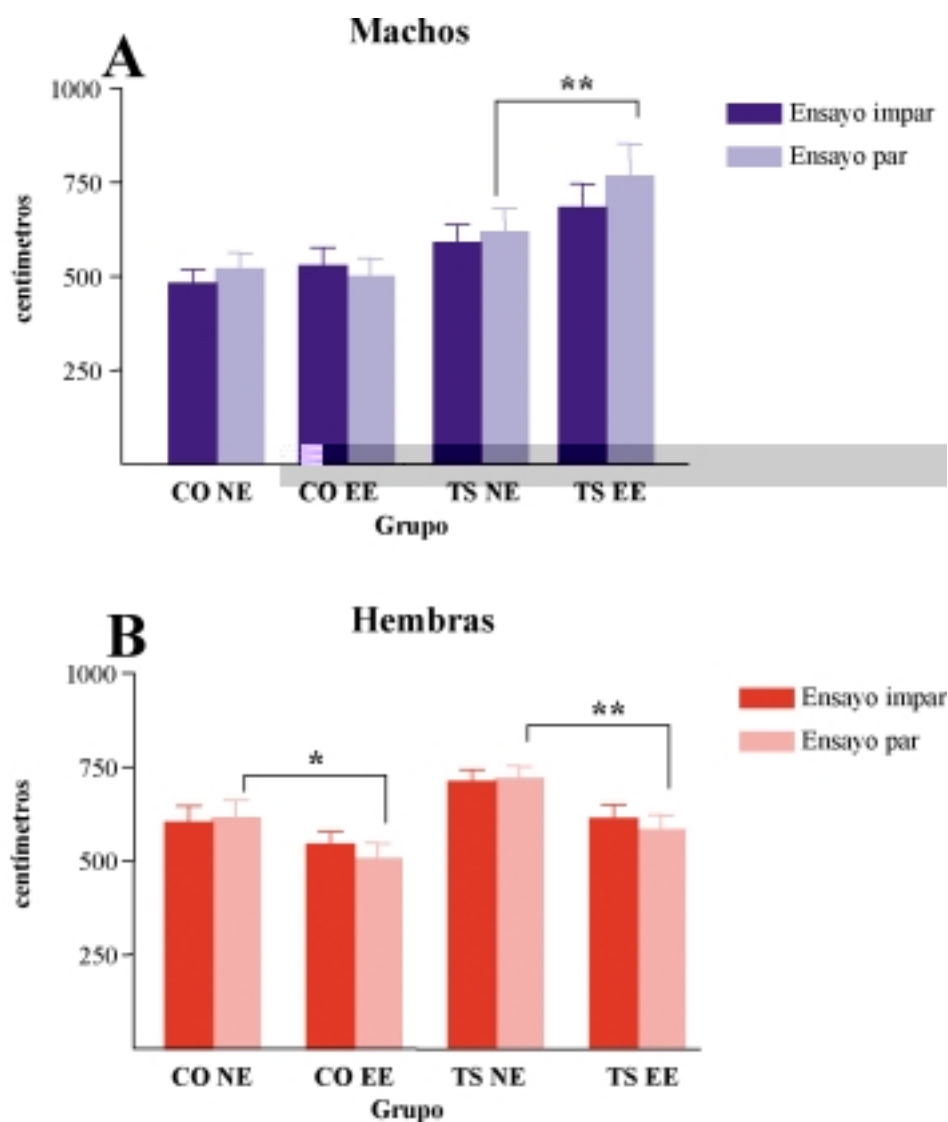


Figura 4. Media \pm E.E.M. de la distancia recorrida en los ensayos impares y pares por los distintos grupos de ratones macho (A) y hembra (B). *. $p < 0.05$, **. $p < 0.01$. Prueba *t* de Student.

inhibir su tendencia a entrar en el compartimento oscuro (fig. 5A y B). Sin embargo, los ratones machos y hembras enriquecidos, tanto Ts65Dn como controles, se mostraron mucho más activos que los no enriquecidos, hecho que coincide con la mayor exploración mostrada por los animales enriquecidos en la prueba de la tabla de agujeros descrita anteriormente.

CONCLUSIONES

El enriquecimiento ambiental produjo importantes modificaciones en los patrones cognitivo y conductual de los tres tipos de ratones analizados. Así, el enriquecimiento moduló la actividad locomotora espontánea de los ratones Ts65Dn de manera diferente en machos y hembras, incrementando la actividad en machos y disminuyéndola en hembras. Además, el enriquecimiento incrementó la conducta exploratoria de todos los ratones analizados. Por otro lado, el enriquecimiento favoreció el aprendizaje y memoria de los ratones machos y hembras Swiss aunque no produjo cambios en estas medidas en ratones BL6C3H. El tratamiento

ambiental mejoró las capacidades de aprendizaje y memoria de las hembras tanto controles como trisómicas ayudando a revertir el déficit de estas últimas, aunque en machos no modificó el aprendizaje de los controles y empeoró la ejecución de los Ts65Dn. Sin embargo, el enriquecimiento no modificó el aprendizaje y memoria de los ratones en la prueba de evitación pasiva.

El hecho de que el enriquecimiento no favoreciera, e incluso empeorara, el aprendizaje espacial de los ratones trisómicos macho no debe ser interpretado con ligereza, y menos hacer una falsa extrapolación a la especie humana. Indica, eso sí, que no toda estimulación es útil en cualquier circunstancia, sino que ha de adaptarse en función de cuáles sean las características del sujeto estimulado.

Estos resultados demuestran que, a pesar de las alteraciones patológicas que la trisomía produce en el ratón Ts65Dn, su cerebro responde a manipulaciones ambientales. Por consiguiente, estos datos abren la posibilidad de que intervenciones de otra naturaleza puedan influir positivamente en la conducta de estos animales.

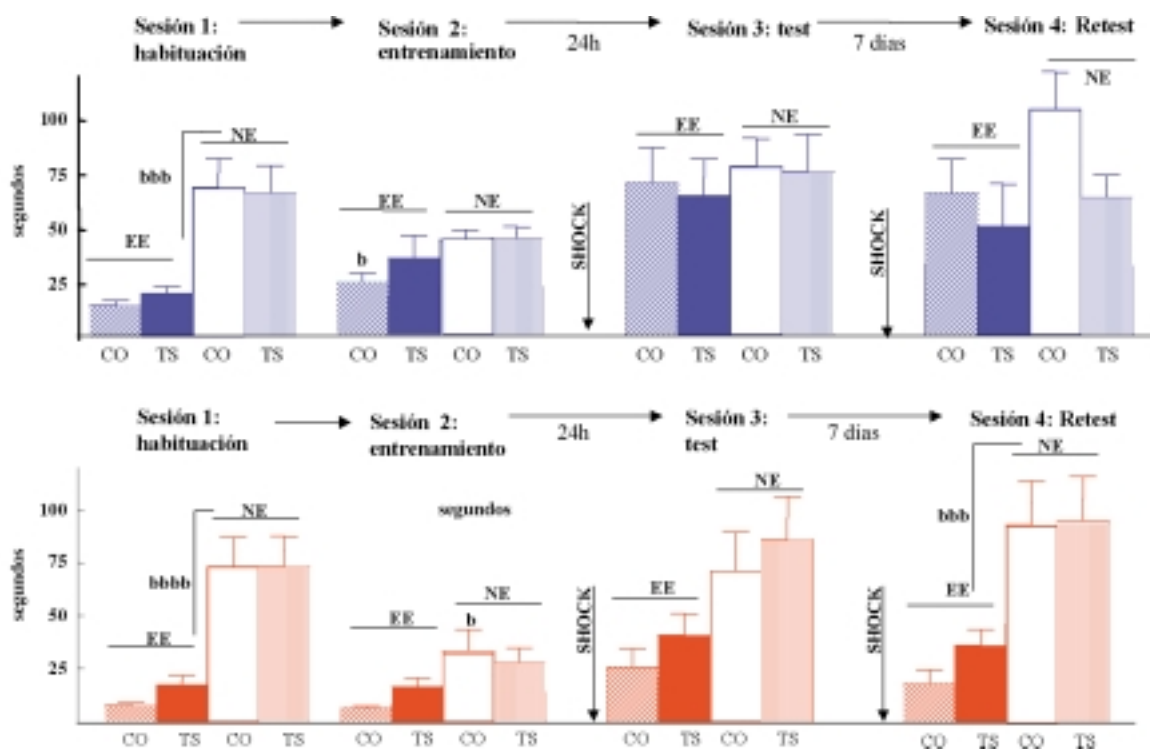


Figura 5. Media \pm E.E.M. de la latencia de entrada en el compartimento oscuro en las sesiones de habituación, entrenamiento, test y retest de la prueba de evitación pasiva que realizan los ratones TS y CO enriquecidos y sin enriquecer machos (A) y hembras (B). b: $p < 0.05$ bb: $p < 0.01$, bbb: $p < 0.001$ EE vs. NE, prueba Duncan tras ANOVA significativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Baxter LL, Moran TH, Richtsmeier JT, Troncoso J, Reeves R. Discovery and genetic localization of Down syndrome cerebellar phenotypes using the Ts65Dn mouse. *Hum Molec Genet* 2000; 9: 195-202.
- Crawley, J.N., Belknap, J.K., Collins, A., Crabbe, J.C., Frankel, W., Henderson, N., Hitzemann, R.J., Minner, L.L., Silva, A.J., Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R. Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacol* 1997; 132: 107-124.
- Davissón 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*. New York, Wiley-Liss 1990. p 263-280.
- Diamond MC, Krech D, Rosenzweig MR. The effects of an enriched environment on the histology of the rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 1964; 123: 111-120.
- 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. *Develop 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.
- Epstein CJ, Cox DR, Epstein LB. Mouse trisomy 16: an animal model of human trisomy 21 (Down syndrome). *Ann N Y Acad Sci* 1985; 450: 157-168.
- Escorihuela RM, Tobeña A, Fernández-Teruel A. Environmental enrichment reverses the detrimental action of early inconsistent stimulation and increases the beneficial effects of postnatal handling on shuttlebox learning in adult rats. *Behav Brain Res* 1994; 61: 169-173.
- 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* 1995a; 199: 143-146.
- Escorihuela RM, Tobeña A, Fernández-Teruel A. Environmental enrichment and postnatal handling prevent spatial learning deficits in aged hypoemotional (Roman high avoidance) and hyperemotional (Roman low avoidance) rats. *Learning and Memory* 1995b; 2: 40-48.
- 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.
- Fernández-Teruel A, Escorihuela RM, Nuñez JM, Gomà M, Driscoll P, Tobeña A. Early stimulation effects on novelty-induced behavior in two psycho-genetically-selected rat lines with divergent emotionality profiles. *Neurosci Lett* 1992; 137: 185-188.
- Fernández-Teruel A, Escorihuela RM, Castellano B, González B, Tobeña A. Neonatal handling and environmental enrichment effects on emotionality, novelty/reward seeking, and age-related cognitive and hippocampal impairments: focus on the roman rat lines. *Behav Genet* 1997; 27: 513-526.
- Galdzicki Z, Huang W, Siarey R, Balbo A, Rapoport SI. Abnormal synaptic plasticity and elevated brain myoinositol in Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *9th International Chromosome 21 and Down Syndrome Workshop*, Bar Harbor, Maine, 2000.
- Galdzicki Z, Siarey R, Pearce R, Stoll J, Rapoport SI. On the cause of mental retardation in Down syndrome: extrapolation from full and segmental trisomy 16 mouse models. *Brain Res Rev* 2001; 35: 115-145.
- Granholm A-CE, 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.
- Guralnick MJ. Relaciones entre desarrollo y sistemas de intervención temprana en el síndrome de Down. En J Rondal, J Perera, L Nadel (eds.). *Síndrome de Down: Revisión de los últimos conocimientos*. Madrid, España 2000, p. 85-102.
- Holtzman DM, Santucci D, Kilbridge J, Chua-Couzens J, Fontana DJ, Daniels SE, Johnson RM, Chen K, Sun Y, Carlsson E, Alleva E, Epstein CJ, Mobley WC. Developmental abnormalities and age-related neurodegeneration in a mouse model of Down syndrome. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996; 93: 13333-13338.
- Huang T-T, Sago H, Carlson EJ, Smith DJ, Killbridge J, Brodsky G, Bleskan J, Chen XN, Patterson D, Korenberg JR, Rubin EM, Mobley WC, Epstein CJ. Identification and characterization of a new partial trisomy 16 mouse model (Ts108Cje) for Down syndrome. *7th International Workshop on Human Chromosome 21*. Berlin, sept. 1997.
- 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.
- 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.
- Lumbreras MA, Baamonde C, Lubec G, Martínez-Cué C, Dierssen M, Sallés J, Flórez J. Brain adenylyl cyclase and phospholipase C signaling pathways in Down syndrome and Alzheimer's disease. *9th International Chromosome 21 and Down Syndrome Workshop*, Bar Harbor, Maine, 2000.
- Martínez-Cué C, Baamonde C, Vallina IF, Lumbreras MA, Dierssen M, Flórez J. Reduced responsiveness to pain in Ts65Dn mice. *NeuroReport* 1999; 10: 1119-1122.
- Mohammed AH, Winblad B, Ebendal B, Lärkfors L. Environmental influence on behaviour and nerve growth factor in the brain. *Brain Res* 1990; 528: 62-72.
- Pascual R, Figueroa H. Effects of preweaning sensorimotor stimulation on behavioral and neuronal development in motor and visual cortex of the rat. *Biology Neonate* 1996; 69: 399-404.
- Paz-Miguel JE, Flórez R, Sanchez-Velasco P, Ocejo-Vinyals G, Escribano de Diego J, López de Rego J, Leyva-Cobian F. Reactive oxygen intermediates during programmed cell death in the thymus of the Ts(1716)65Dn mouse, a murine model for human Down's syndrome. *J Immunol* 1999; 163: 5399-5410.
- Prusky GT, Reidel C, Douglas RM. Environmental enrichment from birth enhances visual acuity but not place learning in mice. *Behav Brain Res* 2000; 114: 11-15.
- Rampon C, Tang Y-P, Goodhouse J, Shimizu E, Kyin M, Tsien JZ. Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nature* 2000a; 3: 238-244.

- Rampon, C., Jiang, C.H., Dong, H., Tang, Y.P., Lockhart, D.J., Schultz PG, Tsien JZ, Hu Y. Effects of environmental enrichment on gene expression on the brain. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000b; 97: 12880-12884.
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Diamond MC. Chemical and anatomical plasticity of brain: Replications and extensions. En J. Gaico (ed.), *Macromolecules and Behavior* 1972a; p. 205-277.
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Diamond MC. Brain changes in response to experience. *Scientific American*, 1972b; 226: 22-29.
- Ruiz de Azúa I, Lumbreras MA, Zalduegui A, Baamonde C, Dierssen M, Flórez J, Sallés J. Reduced phospholipase C- β activity and isoform expression in the cerebellum of Ts65Dn mouse: a model of Down syndrome. *J Neurosci Res* 2001; 66: 540-550.
- 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.
- Torasdotter M, Metsis M, Henriksson BG, Winblad B, Mohammed AH. Expression of neurotrophin-3 mRNA in the rat visual cortex and hippocampus is influenced by environmental conditions. *Neurosci Lett* 1996; 218: 107-110.
- Torasdotter M, Metsis M, Henriksson BG, Winblad B, Mohammed AH. Environmental enrichment results in higher levels of nerve growth factor mRNA in the rat visual cortex and hippocampus. *Behav Brain Res* 1998; 93:83-90.
- Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nature Medicine* 1999; 5: 448-453.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece el apoyo recibido de la Fundación Marcelino Botín, el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF99-0092-C02-02), el Real Patronato sobre Discapacidad y el Gobierno Vasco.