

## EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE MK-801, ANTAGONISTA NO COMPETITIVO DE LOS RECEPTORES NMDA, SOBRE LA EVITACIÓN ACTIVA EN RATONES

Rosa Redolat, María del Carmen Carrasco y Vicente M. Simón  
Universitat de València

MK-801 es una dibenzocicloheptenimina con antagonismo no-competitivo del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato). En este experimento se estudian los efectos del MK-801 (0.3, 0.1, 0.003 y 0.001 mg/kg) sobre la evitación activa en ratones Balb/c/JIco. La sesión experimental constó de 60 ensayos en los que se utilizó la luz (10 seg) como EC y shock eléctrico débil (0.28 mA) como EI (10 seg). Los resultados mostraron que la latencia de respuesta fue significativamente más baja en los grupos tratados con 0.1 y 0.3 mg/kg. El número de evitaciones disminuyó únicamente en el grupo tratado con 0.3 mg/kg aunque esta dosis también produjo estereotipias e hiperactividad. Se sugiere que el rango de dosis entre 0.1 y 0.3 mg/kg parece ser el más adecuado en este modelo conductual.

*Effects of acute administration of MK-801, a non-competitive antagonist of NMDA receptors, on active avoidance in mice.* MK-801 is a dibenzocycloheptenimine with non-competitive antagonism of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. In this experiment the effects of MK-801 (0.3, 0.1, 0.003 and 0.001 mg/kg) on active avoidance were studied in Balb/c/JIco mice. The experimental session consisted of 60 trials in which a white light (10 sec) was used as conditioned stimulus and a weak electric shock (0.28 mA) as unconditioned stimulus (10 sec). Results showed that response latency was significantly lower in groups treated with 0.1 and 0.3 mg/kg. The number of avoidance responses decreased only in the group treated with 0.3 mg/kg., although this dose also induced stereotypies and hyperactivity. We suggest that the doses ranging between 0.1 and 0.3 seem to be the most appropriate in this behavioral model.

La neurotransmisión glutamatérgica desempeña un papel relevante en el aprendizaje, la memoria y otras funciones cognitivas, tanto en animales como en sujetos humanos (Collingridge, 1987; Morris, Anderson, Lynch y

Baudry, 1986). Los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) intervienen en diversos tipos de plasticidad neural, como la plasticidad asociada al desarrollo, y en el fenómeno electrofisiológico de la Potenciación a Largo Plazo (Danysz y Archer, 1994). La Potenciación a Largo Plazo es una forma duradera de plasticidad sináptica que se considera actualmente como un destacado mecanismo de almacenamiento de información en el

---

Correspondencia: Rosa Redolat  
Area de Psicobiología  
Facultad de Psicología  
Blasco Ibáñez, 21. 46010 Valencia (Spain)  
E-mail: Rosa.Redolat@uv.es

Sistema Nervioso Central (Caramanos y Shapiro, 1994). Se ha demostrado que los antagonistas de los receptores NMDA bloquean el fenómeno de la Potenciación a Largo Plazo induciendo deterioros cognitivos en una gran diversidad de modelos animales (Mc Entee y Crook, 1993).

En animales jóvenes, la administración de antagonistas de los receptores NMDA induce déficits cognitivos similares a los observados en animales viejos (Pelley-mounter, Beatty y Gallagher, 1990; Spangler, Brenahan, Garofalo, Muth, Heller y Ingram, 1991). Por ello, los déficits en la neurotransmisión glutamatérgica mediada por los receptores NMDA se han propuesto como modelo para estudiar las pérdidas cognitivas asociadas a la edad en animales (Pelley-mounter et al., 1990) y en sujetos humanos (Palmer y Gershon, 1990). En este sentido, se ha observado una relación significativa entre los receptores NMDA y la capacidad de aprendizaje, lo que sugiere que la reducción en la ejecución cognitiva en animales viejos podría ser debida, al menos en parte, a una disminución (que oscila entre el 20 y el 30 %) en el número de receptores NMDA corticales e hipocámpales (Pelley-mounter et al., 1990). Estudios recientes confirman este declive relacionado con la edad en la densidad de receptores NMDA (Scheuer, Stoll, Paschke, Weigel, y Müller, 1995), lo que indica la importancia de la manipulación farmacológica basada en la administración de antagonistas NMDA en el estudio del envejecimiento.

Los antagonistas NMDA pueden interferir con la adquisición de respuestas motivadas tanto apetitivas como aversivas (Sanger y Joly, 1991; Murray, Ridley, Snape y Cross, 1995). En relación con la motivación aversiva se ha demostrado que la adquisición de una respuesta de evitación pasiva en ratones y ratas puede verse alterada por la administración de antagonistas NMDA antes del primer ensayo. Estos efectos se han

observado tras la administración tanto de antagonistas competitivos (2-amino-5-fosfonoverato -APV o AP5-) como no competitivos (Penciclidina -PCP- y Dizocilpina -MK801-) del receptor NMDA (Benvenista y Spaulding, 1988; Danysz, Wroblewski, y Costa, 1988; Venable y Kelly, 1990).

El MK-801 (Dizocilpina) es una dibenzocicloheptenimina con un potente antagonismo no competitivo de los receptores NMDA en el hipocampo (Morris et al., 1986; Venable y Kelly, 1990). El MK-801 bloquea la inducción de Potenciación a Largo-Plazo, retarda la adquisición de tareas espaciales y empeora la adquisición de tareas de evitación pasiva (Chiamulera, Costa y Reggiani, 1990; Sanger y Joly, 1991). Además, este antagonista del receptor NMDA puede deteriorar el proceso de plasticidad sináptica que subyace al aprendizaje asociativo (Kehoe, Macrae y Hutchinson, 1996). Sin embargo, los efectos de esta sustancia sobre la evitación activa en ratones no han sido evaluados de forma sistemática. Esta situación resulta injustificada ya que el condicionamiento de evitación activa parece ser un modelo adecuado en el estudio del aprendizaje y del deterioro del mismo asociado a la edad (Fuchs, Martin, Bender y Harting, 1986). Por ello, el principal objetivo de este experimento fue evaluar los efectos del MK-801 sobre la evitación activa en ratones, estableciendo el rango de dosis más adecuado en este modelo de aprendizaje animal.

## Material y método

### *Animales*

Se utilizaron 50 ratones Balb/c/Jlco obtenidos de Iffa Credo (Barcelona, España), con una edad de 73 días al inicio del experimento. Los animales permanecieron alojados en grupos de cinco ratones bajo condiciones estándar de laboratorio con comida y agua "ad libitum" y un ciclo invertido de

luz:oscuridad (fase de luz: 19:00-7:00). Las sesiones experimentales tuvieron lugar durante el período de oscuridad de los animales. Tanto la administración de las inyecciones como las sesiones de entrenamiento en la "shuttle-box" se realizaron con luz roja para no interferir en la fase de oscuridad.

### *Aparato*

Se empleó un sistema de escape-evitación completamente automatizado (Shuttle-Scan, Model SCII, Omnitech Electronics Inc), incluyendo un ordenador PC compatible, una caja de escape-evitación en dos sentidos ("shuttle box") y un "interface" que conectaba la caja al ordenador. La "shuttle box" (45 x 21 x 30 cm) era de plástico opaco, con una pared frontal transparente y una partición vertical con un orificio central que permitía al animal moverse libremente de una parte a otra de la caja. El suelo estaba formado por 36 barras de aluminio conectadas al generador de shock.

### *Procedimiento conductual*

Al inicio de cada test el animal era colocado en el lado izquierdo de la caja. Cada test fue precedido por tres minutos de adaptación a la situación experimental. A continuación el animal realizaba 60 ensayos con un intervalo entre ensayos de 60 seg. En cada ensayo se presentaba durante 10 seg una luz blanca de 6 vatios seguida durante 10 seg de un shock eléctrico de baja intensidad (0.28 mA) acompañado por luz. Todos los animales fueron entrenados en la respuesta de evitación activa 30 min después de la administración i.p. de diferentes dosis del fármaco o de vehículo.

### *Fármaco*

El MK-801 se obtuvo comercialmente de Research Biochemicals Inc. (RBI) y para su

administración se diluyó en suero fisiológico. Cada uno de los grupos recibió una inyección i.p. de MK-801 (0.01, 0.03, 0.1 o 0.3 mg/kg) o de suero fisiológico 30 min antes del experimento. El MK-801 cruza fácilmente la barrera hematoencefálica y por ello puede ser administrado mediante inyección i.p.

### *Análisis estadístico*

En cada sesión se analizaron: 1) Número de cruces durante el período de adaptación, 2) Número de cruces entre ensayos, 3) Número de evitaciones, 4) Número de escapes, 5) Latencia de respuesta, y 6) Número de no respuestas. Para analizar estos datos se realizaron ANOVAs en un sentido utilizando el programa estadístico CLR-ANOVA y tomando en consideración el factor "Tratamiento". En los casos apropiados se realizaron pruebas "t" post-hoc, con la corrección de Dunn-Bonferroni.

### *Resultados*

El número de cruces realizados por los animales durante el período de adaptación a la "shuttle box" no fue afectado por el Tratamiento  $F(4,45) = 0.913$ ,  $p < 0.464$ . Tampoco se observaron diferencias entre los grupos en el número de cruces realizados en los IEE (intervalos entre ensayos)  $F(4,45) = 1.228$ ,  $p < 0.3126$  (ver figura 1).

En el ANOVA realizado con respecto al número de evitaciones el factor Tratamiento resultó ser estadísticamente significativo  $F(4,40) = 3.040$ ,  $p < 0.0266$ . Los pruebas a posteriori mostraron que la disminución significativa en el número de respuestas de evitación se daba en los animales tratados con la dosis más alta (0.3 mg/kg de MK-801), en comparación con el grupo control ( $p < 0.05$ ) y en comparación con el grupo tratado con la dosis de 0.03 mg/kg de MK-801

( $p < 0.05$ ) (Ver Figura 1). El ANOVA realizado con el número de escapes mostró que el factor Tratamiento no fue estadísticamente significativo aunque mostró tendencia a la significación  $F(4,45) = 3.709$ ,  $p < 0.058$  (ver figura 2).

En la latencia de respuesta el factor "Tratamiento" también fue estadísticamente significativo  $F(4,45) = 3.709$ ,  $p < 0.0108$ . Las pruebas "t" mostraron que la latencia de respuesta fue significativamente más alta en los grupos tratados con 0.1 y 0.3 mg/kg de MK-801 que en el grupo control ( $p < 0.05$ ) (ver figura 2). El número de no respuestas también fue afectado por el Tratamiento  $F(4,45) = 3.381$ ,  $p < 0.0168$ . Las pruebas post

hoc mostraron que el grupo tratado con 0.3 mg/kg de MK-801 realizó un número significativamente mayor de no respuestas que el grupo control ( $p < 0.05$ ) (ver figura 3).

### Discusión

El dato más destacable del presente experimento es que únicamente la administración de una dosis alta de MK-801 (0.3 mg/kg) alteró la respuesta de evitación, al inducir una disminución significativa en el número de evitaciones mostradas por los animales durante la sesión experimental. Es importante señalar que esta dosis indujo

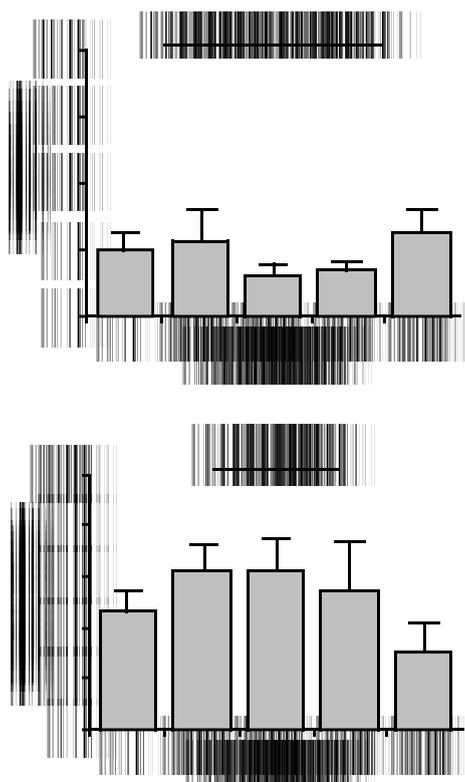


Figura 1. Media del número de cruces realizados por cada uno de los grupos experimentales en el periodo de adaptación y durante los intervalos entre ensayos (IEE). Las barras muestran el error típico de la media.

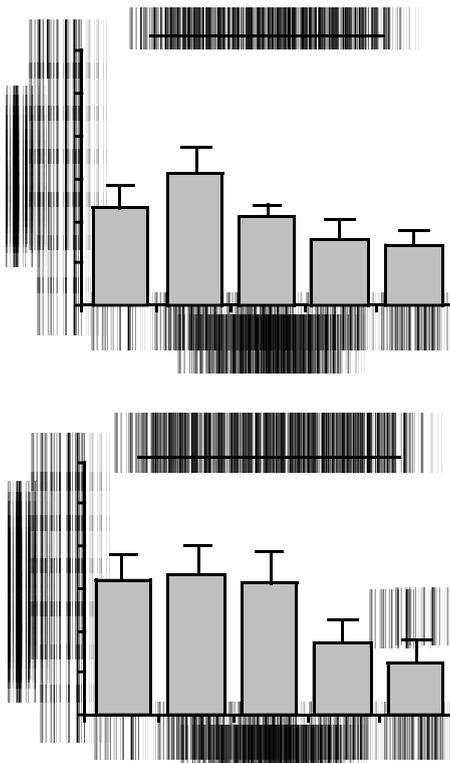


Figura 2. Media del número de respuestas de escape y evitación realizadas por cada uno de los grupos experimentales. Las barras muestran el error típico de la media. +  $p < 0.05$  diferencias respecto al grupo tratado con 0.03 mg/Kg de MK801.

\*  $p < 0.05$  diferencias respecto al grupo control.

también estereotipias e hiperactividad en los animales, confirmando observaciones previamente realizadas por otros autores (Heale y Harley, 1990; Wozniak, Olney, Kettinger, Price y Miller, 1990; Liljequist, 1991). Sin embargo, con una dosis más baja (0.1 mg/kg), con la que los animales no presentaban estos efectos tóxicos, también se incrementó la latencia de las respuesta, aunque no se observaron deterioros significativos en la respuesta de evitación ni en otros parámetros conductuales.

Los resultados obtenidos sugieren que una dosis no tóxica de MK-801 (0.1 mg/kg) puede tener efectos selectivos sobre la tarea de evitación activa, afectando a uno de los

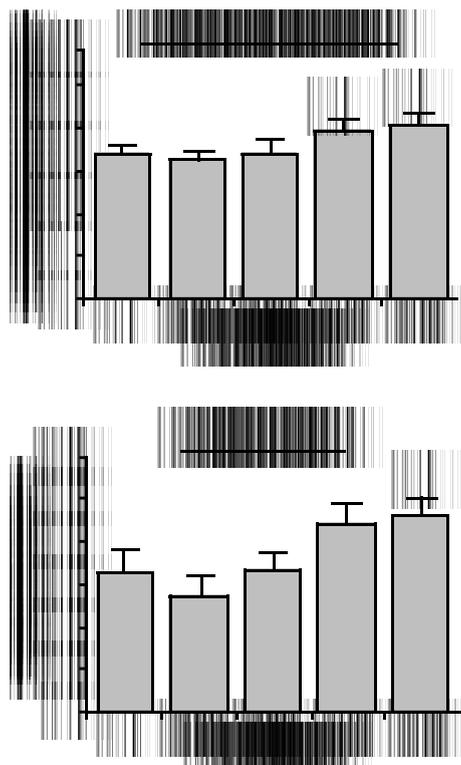


Figura 3. Media de la latencia de respuesta y media del número de no respuestas realizadas por cada uno de los grupos experimentales. Las barras muestran el error típico de la media.

\*  $p < 0.05$  diferencias respecto al grupo control.

parámetros evaluados (latencia de respuesta) pero no a otros (número de evitaciones, escapes y no respuestas). Sin embargo, una dosis mayor (0.3 mg/kg), con la que se observan algunos efectos tóxicos, tiene mayores consecuencias sobre la conducta, aumentando la latencia de respuesta y disminuyendo el número de evitaciones. Estos resultados son similares a los obtenidos previamente en otras pruebas conductuales como el laberinto radial en el que se observó que era necesaria una dosis tóxica de MK-801 (0.2 mg/kg) para alterar la ejecución en dicha tarea de aprendizaje espacial (Wozniak et al., 1990). Es interesante comentar también que en otro procedimiento de aprendizaje espacial, el laberinto circular de Morris, el MK-801 en dosis 0.1 y 0.03 mg/kg bloqueó drásticamente la adquisición de la respuesta en ratas (Heale and Harley, 1990).

Nuestros resultados sugieren que el rango entre 0.1 mg/kg y 0.3 mg/kg parece ser el más adecuado para estudiar los efectos conductuales del MK-801 en el modelo de evitación activa, y que dicho rango de dosis debería ser más ampliamente explorado. En esta prueba conductual la administración de la dosis más elevada de MK-801 (0.3 mg/kg) tuvo efectos disruptores sobre la conducta del animal. Estos resultados coinciden con estudios previos acerca de los efectos del MK-801 en otras tareas conductuales. Tonkiss y Rawlins (1991) observaron en ratas que dosis de 0.4 y 0.3 mg/kg indujeron un marcado deterioro motor, dificultad en comer y deterioro en la exactitud de la elección en una tarea de memoria espacial (laberinto en T). Con dosis más bajas (entre 0.25 y 0.2 mg/kg) también se observaron deterioros en la exactitud de la elección, aunque únicamente cuando la demora era más larga (20 seg). Experimentos previos también han mostrado que la tarea de evitación pasiva empeora tras la administración de este fármaco en un rango de dosis similar al utilizado en nuestro experimento con evitación ac-

tiva (Benvenha y Spaulding, 1988). Así, se ha demostrado que el MK-801 induce déficits de ejecución en tareas de evitación pasiva en un rango de dosis que va desde 0.1 a 1 mg/kg, tanto en ratas como en ratones (Smith, Gzlerlak y Coffin, 1994).

La interpretación de los resultados en estudios que utilizan antagonistas de los receptores NMDA se ve complicada por el hecho de que el deterioro de la memoria es sólo uno de los posibles mecanismos por los cuales estas sustancias alteran la ejecución en tareas de aprendizaje. Estos agentes pueden inducir también deterioros en funciones sensoriales y motoras, que podrían dificultar la interpretación de los resultados al interferir con la ejecución de la tarea (Wozniak et al., 1990; Malenfant, O'Hearn y Fleming, 1991). La mayoría de trabajos, con algunas excepciones (Malenfant et al., 1991), no han controlado el posible papel de estas variables. Sin embargo, en nuestro estudio comprobamos que las dosis de MK-801 administradas a los animales no tuvieron efectos significativos sobre el número de cruces efectuados entre ensayos o durante el período de adaptación, parámetros que pueden utilizarse como una medida indirecta de la actividad motora de los animales y permiten sugerir que las dosis utilizadas no indujeron un marcado deterioro motor. Por otra parte, resulta difícil excluir totalmente posibles déficits sensoriales inducidos por la administración sistémica de MK-801, tal como ha sido sugerido previamente en otros trabajos (Whishaw y Auer, 1989; Murray et al., 1995). Sin embargo, la dosis de 0.1 mg/kg que también alteró la latencia

de respuesta en el presente estudio, parece inducir una alteración mínima en los procesos sensoriales (Delay, 1996).

El modelo de evitación pasiva ha sido uno de los más utilizados para estudiar los efectos de los antagonistas glutamatérgicos sobre el aprendizaje, aunque hay que señalar que este modelo también posee notables limitaciones metodológicas y de interpretación (Miształ y Danysz, 1995). Por ello, en base a los resultados obtenidos en el presente experimento, podemos sugerir que la respuesta de evitación activa podría ser útil en este sentido, aunque futuras investigaciones deberían evaluar el rango de dosis sugerido por nuestros datos con períodos de administración más prolongados con el fin de confirmar de modo definitivo la utilidad de este procedimiento. Los estudios acerca de los efectos de diferentes antagonistas del receptor NMDA sobre el modelo de evitación activa pueden ayudarnos a determinar cuál es el papel específico que desempeñan los diferentes receptores del glutamato en los procesos de aprendizaje y memoria (McEntee y Crook, 1993). Del mismo modo, poseen importantes implicaciones para el tratamiento de las alteraciones de memoria que se observan tanto en el envejecimiento normal como patológico. La prueba de evitación activa junto con la administración de antagonistas del receptor NMDA podría ser un modelo útil para correlacionar los cambios asociados a la edad en la densidad de los receptores NMDA con cambios en la ejecución de diferentes tareas conductuales, tal como otros autores han demostrado en la tarea de evitación pasiva (Scheuer et al., 1995).

#### Referencias

- Benvenha, M.J. y Spaulding, T.C. (1988). Amnesic effect of the novel anticonvulsant MK-801. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 30: 205-207.
- Caramanos, Z. y Shapiro, M.L. (1994). Spatial Memory and N-Methyl-D-aspartate receptor antagonists APV and MK-801: Memory impairment depends on familiarity with the en-

- vironment, drug dose and training duration. *Behavioral Neuroscience*, 108: 30-43.
- Chiamulera, C., Costa, S. y Reggiani, A. (1990). Effect of NMDA and strychnine-insensitive glycine site antagonists on NMDA-mediated convulsions and learning. *Psychopharmacology*, 102: 551-552.
- Collingridge, G. (1987). The role of NMDA receptors in learning and memory. *Nature*, 330: 604.
- Danysz, W., Wroblewski, J.T. y Costa, E. (1988). Learning impairment in rats by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Neuropharmacology*, 27: 653-656.
- Danysz W. y Archer, T. (1994). Glutamate, learning and dementia - selection of evidence. *Amino acids*, 7: 147-163.
- Delay, E.R. (1996). Effects of MK-801 on acquisition, retention and cross-modal transfer of active avoidance behavior in rats. *Psychobiology*, 24: 195-201.
- Fuchs, A., Martin, J.R., Bender, R. y Harting, J. (1986). Avoidance acquisition in adult and senescent rats. *Gerontology*, 32: 91-97.
- Heale, V. y Harley, C. (1990). MK-801 and AP5 impair acquisition, but not retention, of the Morris milk maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 36: 145-149.
- Kehoe, E.J., Macrae, M. y Hutchinson, C.L. (1996). MK-801 protects extinction in the rabbit nictitating membrane preparation. *Psychobiology*, 24: 127-135.
- Liljequist, S. (1991). Genetic differences in the effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists on locomotor activity in mice. *Psychopharmacology*, 104: 17-21.
- Malenfant, S.A., O'Hearn, S. y Fleming, A.S. (1991). MK-801, an NMDA antagonist, blocks acquisition of a spatial task but does not block maternal experience effects. *Physiology and Behavior*, 49: 1129-1137.
- Mc Entee, W.J. y Crook, T.H. (1993). Glutamate: its role in learning, memory and the aging brain. *Psychopharmacology*, 11: 391-401.
- Misztal, M. and Danysz, W. (1995). Comparison of glutamate antagonists in continuous multiple-trial and single-trial dark avoidance. *Behavioral Pharmacology*, 6: 550-561.
- Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G., Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319: 774-776.
- Murray, T.K., Ridley, R.M., Snape, M.F. y Cross, A.J. (1995). The effect of dizocilpine (MK-801) on spatial and visual discrimination tasks in the rat. *Behavioral Pharmacology*, 6: 540-549.
- Palmer, A.M. y Gershon, S. (1990). Is the neuronal basis of Alzheimer's disease cholinergic or glutamatergic?. *Psychobiology*, 18: 298-304.
- Pellymouner, M.A., Beatty, G. y Gallagher, M. (1990). Hippocampal (3H)-CPP binding and spatial learning deficits in aged rats. *Psychobiology*, 18: 298-234.
- Sanger, D.J. y Joly, D. (1991). Effects of NMDA receptor antagonists and sigma ligands on the acquisition of conditioned fear in mice. *Psychopharmacology*, 104: 27-34.
- Scheuer, K., Stoll, S., Paschke, U., Weigel, R. y Müller, W.E. (1995). N-Methyl-D-Aspartate receptor density and membrane fluidity as possible determinants of the decline of passive avoidance performance in aging. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 50: 65-70.
- Smith, R.D., Gzerlak, M.E. y Coffin, V.L. (1995). Felbamate, a novel antiepileptic agent, does not affect cognition in rodents. *Behavioural Pharmacology*, 5: 365-368.
- Spangler, E.L., Brenahan, E.L., Garofalo, P., Muth, N.J., Heller, B., Ingram, D.K. (1991). NMDA receptor channel antagonism by dizocilpine (MK-801) impairs performance of rats in aversively motivated complex maze tasks. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 40: 949-958.
- Tonkiss, J. y Rawlins, J.N.P. (1991). The competitive NMDA antagonist AP5, but not the non-competitive antagonist MK-801 induces a delay-related impairment in spatial working memory in rats. *Experimental Brain Research*, 85: 349-358.
- Venable, N. y Kelly, P.H. (1990). Effects of NMDA receptor antagonists on passive avoidance learning and retrieval in rats and mice. *Psychopharmacology*, 100: 215-221.
- Whisaw, I.Q. y Auer, R.N. (1989). Immediate and long-lasting effects of MK-801 on motor activity, spatial navigation in a swimming pool and EEG in the rat. *Psychopharmacology*, 98: 500-507.
- Wozniak, D.F., Olney, J.W., Kettinger, L., Price, M. y Miller, J.P. (1990). Behavioral effects of MK-801 in the rat. *Psychopharmacology*, 101: 47-56.

Aceptado el 6 de agosto de 1997

