



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas
Departamento de Ciencias Ambientales

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

Participación de la transmisión serotoninérgica en
la liberación de acetilcolina prefrontocortical
durante la realización de pruebas de memoria de
corto plazo, en la rata

TESIS

que para obtener el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO
(opción Neurociencias)

presenta

María Isabel Pérez Vega

Comité tutelar:

Dr. Ignacio González Burgos (Director)

Dr. Víctor Manuel Alcaráz Romero

Dr. Emilio Gumá Díaz

Dr. Alberto Morales Villagrán

Dedicatorias

A mi pequeña princesa:

Ana Isabel González Pérez

El más bello regalo que me ha dado la vida y la principal razón que me impulsa a ser cada día mejor.

A mis padres:

Que forjaron en mi las bases de lo que soy y que por siempre están en mi corazón

Agradecimientos

A Dios:

Por permitirme cumplir una meta más en mi vida.

Al Dr. Ignacio González Burgos:

Más que un maestro académico, un maestro de vida.

Gracias Maestro

Al Dr. Alberto Morales Villagran:

Por su valioso apoyo y paciencia en la realización del presente trabajo.

A mi Jurado de Tesis:

Dr. Víctor Manuel Alcaraz Romero

Dr. Emilio Gumá Díaz

Dra. Marisela Hernández González

Dr. Alfredo Feria Velasco

Por sus valiosas observaciones y comentarios.

A la Dra. Alma Rosa del Ángel:

Jefe de la división de Neurociencias del CIBO, IMSS; por el apoyo proporcionado para la realización de la presente tesis.

Al Ing. Rogelio Troyo Sanromán:

Por el apoyo brindado en el análisis estadístico de los datos.

A la Dra. Mónica Ureña:

Por su valiosa asesoría en el uso del cromatógrafo

Al Dr. Francisco Javier Pérez Vega y a la Sra. Isabel Reséndiz:

Por abrir las puertas de su hogar y su corazón a mi hija. Pues padre no es solo aquel que engendra un hijo, sino aquel que ama, sufre y esta a tu lado en los momentos tristes y felices de tu vida y eso han sido para Ana Isabel; unos verdaderos padres.

Gracias por amarla y hacerle sentir que siempre esta en su corazón.

Por su invaluable apoyo.

Mil gracias

A la Dra. Esther Olvera y María de la Luz Miranda:

Por el largo y maravilloso camino compartido, por estar siempre dispuestas a escuchar y por su gran apoyo en los momentos difíciles. Pocas personas conocen el valor de la verdadera amistad y ustedes son un ejemplo de ellas.

A mis amigos y compañeros de laboratorio por su ayuda y colaboración desinteresada, pero sobre todo por confiar en mi, por compartir largas jornadas de trabajo y hacer de ellas un evento divertido y llevadero. Gracias Adriana y Cesar.

Al Dr. Cuahutemoc Israel Medrano Espinoza:

Gracias por devolverme la confianza perdida, por mostrarme que la madurez no es cuestión de edad, que hay nuevos horizontes que podemos alcanzar y, que existen personas excepcionales que aun pueden tocar a tu puerta.

Al Lic. Alberto Salvatierra.

Por los bellos momentos compartidos a lo largo de nuestra amistad.

A mi familia:

Por todo el cariño y apoyo brindado.

A todas las personas con quienes formamos mil caminos y en especial a aquellas que de alguna manera contribuyeron en la realización del presente trabajo.

La presente tesis fue realizada en el Laboratorio de Psicobiología de la División de Neurociencias del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán del Instituto Mexicano del Seguro Social, en las instalaciones de la División de Neurociencias del Centro de Investigación Biomédica de Occidente del propio IMSS; y en el Laboratorio de Neurobiología del departamento de Biología Celular y Molecular del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

INDICE

CONTENIDO	PAGINAS
Introducción.....	2
Conceptos básicos de aprendizaje y memoria.....	2
Mecanismos fisiológicos que subyacen a la consolidación de la información.....	12
Antecedentes.....	17
Corteza prefrontal y memoria de corto plazo.....	17
Corteza cerebral, acetilcolina y procesos cognoscitivos.....	21
Neocorteza cerebral, sistema serotoninérgico y aspectos cognoscitivos.....	26
Relación de los sistemas colinérgico y serotoninérgico en procesos cognoscitivos.....	29
Receptores a serotonina y su participación en los procesos de aprendizaje y memoria.....	31
Planteamiento del problema.....	37
Hipótesis.....	38
Objetivo General.....	39

Objetivo Particular.....	39
---------------------------------	-----------

Materiales y Métodos.....	40
----------------------------------	-----------

Sujetos experimentales.....	40
Lesión de aferencias serotoninérgicas a la corteza cerebral prefrontal.....	40
Evaluación conductual.....	41
Estadística para los datos conductuales.....	44
Procedimiento de cirugía y micro diálisis.....	45
Administración de fármacos.....	46
Determinación de la concentración de acetilcolina.....	47
Determinación de la concentración de serotonina.....	51
Estadística.....	51
Histología.....	53

Resultados.....	54
------------------------	-----------

CONDUCTA.....	54
----------------------	-----------

PRUEBA PRE-TRATAMIENTO

Análisis Intergrupar

Análisis intragrupal

PRUEBA POST-TRATAMIENTO

Análisis intergrupar

Análisis intragrupal

RESULTADOS DE LA LIBERACIÓN DE 5-HT Y ACh ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE 8-OH-DPAT Y α-ME-5-HT EN RATAS CON MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO.....	55
--	-----------

Liberación Basal de 5-HT.
Liberación Basal de ACh.
8-OH-DPAT
 α -Me-5-HT

RESULTADOS DE LA LIBERACIÓN DE 5-HT Y ACh EN LA CORTEZA CEREBRAL PREFRONTAL, EN RATAS CON MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO; DURANTE LA REALIZACIÓN DE UNA TAREA DE MEMORIA DE CORTO PLAZO.....57

LIBERACIÓN DE 5-HT
Análisis Intergrupar
Análisis intragrupal

LIBERACIÓN DE ACh
Análisis Intergrupar
Análisis intragrupal

Discusión.....74

Conclusiones Particulares.....90

Conclusión General.....91

Referencias.....92

GLOSARIO DE FIGURAS

Figura 1

Representación esquemática de las diversas regiones cerebrales que participan durante los procesos de aprendizaje y memoria.....13

Figura 2

Conexiones de la corteza cerebral.....14

Figura 3

Circuitos de fibras de conexión a través de las estructuras involucradas en el control motor.....18

Figura 4

Algunos de los diferentes sistemas de neurotransmisión que inervan la corteza cerebral.....23

Figura 5

Inervación colinérgica en el cerebro humano.....24

Figura 6

Diagrama de la inervación serotoninérgica en el cerebro humano.....27

Figura 7

Tipos y subtipos de receptores a serotonina identificados en el tejido cerebral.....32

Figura 8

Esquema del Laberinto de “Biel” utilizado para la realización de las pruebas conductuales de aprendizaje y memoria de corto plazo.....42

Figura 9

Estándares de Colina (Ch) y Acetilcolina (ACh).....50

Figura 10

Estándares de Catecolaminas.....52

Figura 11

Imágenes histológicas de cortes coronales del núcleo del rafé dorsal en los que se aprecian la histología normal en el grupo testigo (A); así como, las características histopatológicas después de la microinyección de la solución vehículo en los animales del grupo control (B); ó después de la aplicación de la neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina utilizada para destruir neuronas serotoninérgicas en los animales experimentales (C).....53

Figura 12

Comparación intragrupal del número de errores cometidos durante el primer ensayo contra aquellos cometidos en los subsecuentes, antes del tratamiento.....60

Figura 13

Comparación intragrupal del número de errores cometidos durante el primer ensayo contra aquellos cometidos en los subsecuentes, después del tratamiento.....61

Figura 14

Comparación intragrupal de la liberación de serotonina (5-HT) y acetilcolina (ACh) prefrontocortical; en las diferentes etapas analizadas durante la resolución del laberinto de Biel de piso firme.....68

GLOSARIO DE TABLAS

Tabla I

Liberación de 5-HT y ACh Antes y Después de la administración de los agonistas 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la CPF.....63

Tabla IIa

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de serotonina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rapé dorsal.....64

Tabla IIb

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de serotonina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rapé dorsal.....65

Tabla IIIa

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de acetilcolina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rapé dorsal...66

Tabla IIIb

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de acetilcolina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rapé dorsal.....67

Resumen

La corteza cerebral prefrontal (CCPF) participa de manera preponderante en la organización temporal de la conducta mediante la organización de las acciones relacionadas con ciertas cualidades cognoscitivas tales como la orientación espacial y el aprendizaje y la memoria de corto plazo (MCP). Dichos procesos se encuentran alterados en el curso de diversas psicopatologías neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer. En nuestro laboratorio hemos encontrado que la desnervación serotoninérgica a la CCPF conduce a una mayor eficiencia en la realización de tareas que requieren de la MCP. Evidencias electrofisiológicas sugieren que la serotonina (5-HT) regula la excitabilidad de neuronas corticales y modula su respuesta a otras aferencias. Sin embargo, la influencia de la 5-HT sobre los mecanismos que sustentan la conducta y, particularmente algunas funciones cognoscitivas como la memoria de corto plazo; no se conocen aún de manera consistente. La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor al que se le ha atribuido una participación importante en la organización de diversas cualidades cognoscitivas. Debido a que los receptores 1A y 2A de 5-HT se encuentran sobre terminales colinérgicas en la CCPF, se evaluó el efecto de los agonistas a los receptores 1A y 2A, 5-HT 8-OH-DPAT y α -Me-5HT, respectivamente; tanto sobre la liberación de ACh prefrontocortical como su efecto sobre la realización de una prueba para evaluar la memoria de corto plazo. Se utilizaron ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley y se conformaron tres grupos. En aquellas de un grupo experimental (E) se lesionó el núcleo del rafe dorsal (NRD) por vía estereotáxica con 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT); a las de un grupo control (C) se les sometió a la cirugía y se aplicó la solución vehículo, en tanto que un grupo testigo intacto (T) no recibió ningún tratamiento. Veinte días después del tratamiento correspondiente cada grupo fue dividido en dos para la realización de experimentos de microdiálisis en la CCPF. Se determinaron las concentraciones basales de 5-HT y ACh mediante HPLC y detección electroquímica. Posteriormente se les aplicó a la mitad de los animales de cada grupo uno de los dos agonistas a través de la sonda de diálisis y se cuantificó la

liberación de ACh y 5-HT. En el grupo C la liberación basal de 5-HT fue mayor respecto a los grupos T y E, en tanto que el grupo E mostró menor liberación respecto a T y a C. En cuanto a la liberación basal de ACh C mostró menor liberación respecto tanto a T como a E. Después de la aplicación de 8-OH-DPAT sólo C mostró menor liberación de ACh, en tanto que, a partir de la aplicación del agonista α -Me-5HT, en todos los grupos se observó una menor liberación de ACh. Los presentes resultados muestran que la 5-HT ejerce un efecto inhibitor sobre la liberación de ACh prefrontocortical y que los receptores 5HT1A y 5HT2A se encuentran involucrados de manera importante en el mecanismo mediante el cual la 5-HT ejerce dicho efecto. Por otro lado, en el presente trabajo se analizó el efecto de los agonistas a dichos receptores 8-OH-DPAT y α -Me-5HT sobre la liberación de 5-HT y ACh prefrontocortical correlativamente con la realización de una prueba para evaluar la memoria de corto plazo en la rata. Se utilizaron tres grupos (T, C y E) de ratas hembras Sprague-Dawley, los cuales fueron sometidos al mismo esquema experimental de cirugía y lesión descrito en el epígrafe anterior. Después de 20 días post-lesión, los animales fueron sometidos a una segunda cirugía para la implantación de una cánula de diálisis en la CCPF y después de un periodo de estabilización los sujetos debieron resolver el laberinto de Biel durante cinco intentos consecutivos. A los grupos T y C se les prefundió la solución vehículo Krebs-Ringer, en tanto que el grupo experimental se dividió en tres grupos a una parte de los animales se les prefundió la solución vehículo (grupo E), a otra el agonista 8-OH-DPAT (grupo 8-OH-DPAT) y a la última, el agonista α -Me-5HT (grupo α -Me-5HT). La colecta de las muestras se realizó durante todo el recorrido del laberinto. Se consideraron aquellas muestras correspondientes a las condiciones de error, brazo largo, meta y descanso. Los animales del grupo E cometieron menos errores a partir del segundo intento mientras los controles lo hicieron a partir del 4º intento. Por su parte, la aplicación del agonista 8-OH-DPAT revirtió los efectos conductuales encontrados en el grupo E; en tanto, que la aplicación del agonista α -Me-5HT provocó que los sujetos cometieran más errores en menos tiempo. En cuanto a la liberación de 5-HT y ACh en las diferentes condiciones, se observaron modificaciones en las diferentes etapas

correspondientes a los diferentes grupos. Sin embargo, no se observó una correlación inversamente proporcional entre la liberación de 5-HT y ACh, lo cual sugiere que posiblemente otros sistemas de neurotransmisión estén involucrados en la organización de los patrones de respuesta conductuales correspondientes a dicha tarea.

Abstract

The prefrontal cerebral cortex (PFC) is a crucial structure for the temporal organization of the cognitive-related motor actions, i.e., spatial orientation, and short-term memory. These cognitive processes has been shown to be affected in the course of some neurodegenerative mental illness such as Alzheimer disease.

The PFC is densely innervated by serotonergic raphe terminals. Recently, we and other authors have shown a close relationship between 5-HTergic activity and cognitive functions, especially during short-term memory. It has been shown that 5-HT modulates the neuronal response to other afferences- such as cholinergic fibers- by presynaptic inhibitory contacts. Despite 5-HTergic modulatory mechanisms of short-term memory organization have not been clearly stated, 1A and 2A 5-HT receptors has been suggested to be closely related to them. In the present experiments we investigated the effect of 8-OH-DPAT and α -Me-5-HT agonists to the 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors, respectively, over the ACh release; in the medial PFC of unanesthetized rats, using *in vivo* microdialysis techniques.

Female Sprague-Dawley adult rats, were used. The animals were divided into three groups. An experimental group; in this group the animals were subjected to a stereotactic lesion on the antero-ventral region of the dorsal raphe nucleus, by using 5,7-dihydroxytryptamine. A sham-operated group was subjected to surgery and the same vehicle solution was given to the brain site corresponding the same stereotactic coordinates. Finally, an intact group of rats was used as a control. Twenty days after surgery, every group were divided into two sub-group; one of these was used to evaluate the 8-OH-DPAT effect and the other to test the agonist α -Me-5-HT. All rats were anesthetized and a microdialysis probe was implanted into the dorsomedial portion of the PFC.

Furthermore, we evaluated the effect of the 8-OH-DPAT and α -Me-5-HT over 5-HT and ACh release, concomitantly with the short-term memory performance.

The application of 8-OH-DPAT and α -Me-5-HT decreased the basal ACh release in the PFC. However, during the behavioral performance the effect was

controversial. While the application of 8-OH-DPAT restored the conductual effects provoked by lesion of DRN to levels “normal”, the perfusion of α -Me-5-HT caused the animals were more active (the animals finish the task in less time but made more errors). The results of the present work shows that 5-HT has an inhibitory effect over ACh release, and that other neurotransmitter systems could be involved in the short-term memory performance.

*PARTICIPACION DE LA TRANSMISION
SEROTONINERGICA EN LA LIBERACION DE
ACETILCOLINA PREFRONTOCORTICAL DURANTE
LA REALIZACION DE PRUEBAS DE MEMORIA DE
CORTO PLAZO, EN LA RATA.*

M. en C. María Isabel Pérez Vega

Tutor:

Dr. Ignacio González Burgos

INTRODUCCION

El hombre está en constante interacción con su medio circundante; recibe sus influencias bajo la forma de *estímulos* y responde a los mismos por *reacciones* que corresponden directamente a la cantidad o cualidad de dichos estímulos (Merani,1964). En toda la serie animal encontramos esta relación pero en diversos niveles, según la jerarquía evolutiva de las especies. A medida que aumenta la complejidad orgánica de los individuos que son biológicamente más evolucionados, la relación estímulo-reacción gana en complejidad en forma correlativa. La adecuación del medio interno al externo exige órganos y funciones intermediarios; el equilibrio se logra -como ocurre en especies superiores y en el hombre- a través de la actividad del sistema nervioso y de funciones por éste controladas (Merani, 1964).

Para lograr el equilibrio en dicho proceso interactivo se conjuntan dos series de fenómenos. Uno interno: los órganos y aparatos orgánicos producen estímulos derivados de su estado y funciones (sensibilidades íntero- y propioceptivas), y; otro externo: la actividad de los seres vivos transforma al medio natural y, consecuentemente, la calidad e intensidad de los estímulos a los que ahora deberá adecuarse el individuo (Merani, 1964). Este *proceso dialéctico* está centrado y dirigido en los animales vertebrados por el sistema nervioso central; cuanto más evolucionada está la especie en lo biológico, dicho proceso es en mayor grado organizado por una porción de éste: la corteza cerebral (Merani, 1964).

CONCEPTOS BASICOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA.

Ubicados en el contexto referido en el epígrafe anterior, el *aprendizaje* puede ser definido como un cambio relativamente permanente de la conducta que resulta de la experiencia (Ardila y Moreno-Benavides, 1982). Así, mediante la practica se favorece la integración de respuestas innatas ya existentes o bien, el establecimiento de nuevas

conexiones cerebrales que en un momento determinado confieren a los organismos la habilidad de responder de manera adecuada en respuesta a la información adquirida del medio ambiente que los rodea y los estimula (Kandel y Hawkins, 1992). Este proceso neuropsicológico mediante el cual los organismos adquieren nueva información del medio o de situaciones a las cuales se ve sometido en su interacción con éste, permite tanto a los hombres como a los animales adaptarse a su medio ambiente mediante el uso de su experiencia y del ajuste de su conducta en respuesta a los eventos que ocurren durante su vida (Thompson, 1984).

Este proceso ha sido dividido en dos tipos (Squire, 1986; Kandel, 1992): 1) *Aprendizaje implícito o procedural* y 2) *Aprendizaje explícito o declarativo*. El *aprendizaje procedural* es filogenéticamente más antiguo y posiblemente representa la capacidad para desarrollar un cúmulo de habilidades orientadas a la consecución de propósitos específicos (Squire, 1986) y que son semejantes a patrones de conducta; se caracteriza por ser lento y por adquirirse a través de la repetición de eventos (realización repetida de ciertas tareas) (Squire, 1986; Kandel, 1992). El *aprendizaje explícito o declarativo* es filogenéticamente más reciente y alcanza su máximo desarrollo en los mamíferos. Requiere de la integridad de estructuras cerebrales localizadas a nivel del lóbulo temporal y especialmente de la formación hipocampal, así como de áreas corticales asociadas (Squire, 1986). Se caracteriza por ser rápido y tiene lugar después de un evento significativo, lo que involucra la asociación de estímulos simultáneos que permiten el almacenaje de información asociado con eventos separados que pasan en un lugar y tiempo determinado (hechos, episodios, listas y eventos de la vida diaria). Esta capacidad permite al individuo recordar y tener un acceso particular a la información que en un momento dado le permite cambiar su conducta (Squire, 1986; Kandel, 1992), en función de estímulos asociados y aparentemente no relacionados con el evento realmente significativo.

Existen diferentes niveles de aprendizaje (Ardila, 1982). Estos aparecen de manera progresiva y acumulativa en la escala filogenética, en función de la

complejidad del sistema nervioso del organismo que los ostenta. Estos niveles se incluyen en alguna de las tres categorías de plasticidad conductual, término sugerido inicialmente por William James en 1890 para referirse a todos los cambios significativos que se presentan en la conducta (Thompson, 1975):

1.-La habituación: definida como la supresión gradual de una respuesta ante la estimulación repetida; es el nivel más bajo de aprendizaje y aparece desde los protozoarios. Es opuesto a la sensibilización, considerada ésta como el aumento en la intensidad de la respuesta ante la estimulación repetida; ésta última se manifiesta desde los organismos anélidos.

2.-El condicionamiento clásico: categoría en la cual un estímulo "neutro" (estímulo condicionado) se aparea con un estímulo incondicionado, dando lugar a una respuesta. La eficiencia de este aprendizaje depende del grado de asociación entre el estímulo incondicionado y el estímulo condicionado.

3.- El aprendizaje instrumental: describe la situación en que el animal debe emitir una respuesta a fin de obtener una recompensa o evitar un castigo. Esta categoría incluye todas las formas de aprendizaje complejo.

La información adquirida durante el aprendizaje se registra y conserva mediante el proceso de memorización. El término "*memoria*" puede definirse como el proceso mediante el cual se retienen los conocimientos y se pueden recordar tiempo después (Squire, 1986; Kandel, 1992). El aprendizaje y la memoria son la parte central de nuestro sentido de individualidad. El aprendizaje es la vía principal para la adaptación conductual y una poderosa fuerza para el progreso social; por lo que la pérdida de la memoria trae como consecuencia la pérdida del contacto inmediato con nosotros mismos, nuestra historia y nuestros semejantes (Kandel, 1992).

Los conceptos de aprendizaje y memoria están estrechamente relacionados. El aprendizaje es un proceso de cambio en la ejecución mediante el entrenamiento, mientras que la memoria se refiere a la persistencia del aprendizaje en un estado que puede ser recordado tiempo después (Squire, 1987).

El aprendizaje es cuantificado o evaluado experimentalmente como la probabilidad de que un organismo responda ante un mismo estímulo diferencialmente sobre la base de una experiencia previa. Esta probabilidad esta basada en la información adquirida previamente y almacenada en la memoria (Funahashi y Kubota, 1994). Así, el aprendizaje y la memoria se relacionan estrechamente dado que el aprendizaje puede considerarse en términos de cambios conductuales originados por algún tipo de estimulación; la información contenida en tal estímulo produce cambios físicos en la estructura del sistema nervioso y dichos efectos han de almacenarse por algún tiempo en éste antes de que pueda derivarse de ellos un cambio conductual; por lo que cualquier medición del aprendizaje depende de la memoria. De igual forma, cualquier estudio de los mecanismos de memorización depende de la interpretación de los cambios que se operan en la funcionalidad del sistema nervioso, en términos del proceso de aprehensión de la información adquirida; esto es, del aprendizaje. Así, en el estudio del proceso de aprendizaje resulta implicado el mecanismo de almacenamiento de la información y viceversa (Thompson, 1975).

Como el aprendizaje y la memoria solo se pueden estudiar indirectamente, se asume que por medio de la conducta se manifiestan los cambios que tienen lugar en regiones cerebrales específicas involucradas en el procesamiento de la información (LeDoux, 1993).

Durante el proceso de aprendizaje diversos sistemas cerebrales participan en la percepción y análisis de la información y cada característica del estímulo es procesada en sitios específicamente localizados (Squire, 1986). Así, la memoria esta "localizada", en el sentido de que determinadas regiones cerebrales representan aspectos específicos de cada evento y esta distribuida en relación con diversos sistemas neurales que participan en la representación de un evento global (Squire, 1986); por lo tanto, la memoria no es un almacén indiferenciado en el que se "guarda" como una unidad la representación de todos los aspectos de cada acontecimiento sino

que esta integrada por tantas fracciones como cuantas diferentes regiones cerebrales participen en el procesamiento y análisis del evento en cuestión (Squire, 1986).

En la literatura las diferentes disciplinas que abordan el estudio de la memoria han utilizado diversos criterios para su clasificación (Thompson, 1984; Squire, 1986; Klein, 1994). De acuerdo al procedimiento que utilicemos para medir o evaluar la memoria se puede clasificar de acuerdo a:

- 1) El contenido (entrada); ya sea material conocido o desconocido, o bien información previamente almacenada.
- 2) Por la forma de evocación (salida); ya sea directa en estudios realizados con humanos por medio del recuerdo libre donde se dan consignas como "dime todo lo que recuerdes de..."; a través del recuerdo con pistas en el cual se pide información específica; por el reconocimiento, mediante el cual se presentan ejemplares estudiados y no estudiados para identificar a los primeros; por la metamemoria, que es una habilidad cognoscitiva de hacer juicios sobre sí mismos, y; mediante la memoria prospectiva, que es el recuerdo de lo pendiente de hacer (memoria de planes, citas, acciones futuras, etc). De manera indirecta -tanto en humanos como en animales de experimentación- reflejada por una mejoría en la ejecución en tareas en las que no se pide memorizar sino sólo procesar o utilizar de alguna manera material que posteriormente se le vuelve a presentar al sujeto (mezclado con material nuevo) como señal de comando para la ejecución de un acto motor, perceptual o cognoscitivo. En este caso hay almacenamiento inconsciente y la memoria es medida a través del mejor rendimiento (mas aciertos, menor tiempo de reacción, etc).
- 3) Por la demanda de esfuerzo (proceso), que puede ser estratégica o con alta demanda de esfuerzo (procesamiento complejo) que requieren de una gran movilización de recursos cognoscitivos y demandan aplicar una estrategia, y automática (sin esfuerzo), que no requieren concentración consciente de la atención, como en el caso de los hábitos o habilidades motoras, cognoscitivas y

perceptuales. A su vez, la de tipo estratégico puede ser atributo-dependiente basada en las características formales o atributos de los estímulos o regla-dependiente basado en la búsqueda y descubrimiento de reglas o leyes que definan cuál combinación de atributos es la relevante (Alcaraz y Gumá, 2001).

Por otro lado, una de las clasificaciones mas general y conceptual es la propuesta por Squire y Zola-Morgan; quienes clasifican a la memoria en 2 tipos: 1) Memoria declarativa (explícita, consciente, intencional o relacional) y 2) Memoria no declarativa (implícita, no consciente, incidental o procedural) (Squire, 1986; Kandel, 1993; Klein, 1994). Las memorias declarativas pueden existir en la forma de un pensamiento verbal o de una imagen no verbal (Klein, 1994). Este tipo de memoria puede formarse a partir de una experiencia única, aunque la práctica puede favorecer la posibilidad para recordar. Se relaciona con la memoria de los hechos (memoria episódica) y de los conceptos (memoria semántica) -particularmente referidos a los humanos-. La memoria episódica contiene recuerdos de acontecimientos específicos que han ocurrido en el pasado y tal información está organizada temporalmente; es decir, un evento precede, se produce al mismo tiempo o sigue a otro evento. La fuente para este tipo de memoria es la estimulación sensorial ya que registra experiencias sensoriales inmediatas y se basa principalmente en impresiones sensoriales directas. Generalmente para la recuperación de memorias episódicas se requiere a menudo un esfuerzo consciente y deliberado. La memoria semántica contiene el conocimiento necesario para la utilización del lenguaje. La información almacenada en este tipo de memoria consta de hechos, ideas, conceptos, reglas, proposiciones, esquemas y escrituras que definen el conocimiento cultural del mundo y esta organizada conceptualmente; la comprensión del mundo cultural constituye la fuente de la memoria semántica y el conocimiento registrado es transmitido mediante el lenguaje. Este tipo de memoria tiene una rica capacidad inferencial y puede descubrir las reglas de una lengua simplemente a partir de la experiencia con esa lengua; el acceso a este sistema de memoria es de manera automática y puede

producirse por consiguiente de manera inconsciente. Aunque podemos ser conscientes del conocimiento almacenado en ambos sistemas de memoria, interpretamos las memorias episódicas como parte de nuestro pasado personal y las memorias semánticas como parte del presente impersonal. Por lo tanto, empleamos el término *recordar* cuándo nos referimos a memorias episódicas y *conocer* para describir las memorias semánticas.

La memoria no declarativa es la memoria sobre habilidades o destrezas que no son necesariamente conscientes; una prueba de una memoria no declarativa sólo puede obtenerse a través de la observación de la ejecución. En esta memoria se representa el conocimiento de cómo hacer las cosas y son almacenadas como resultado de las experiencias del condicionamiento instrumental, aunque pueden representar también reacciones emocionales ante eventos ambientales, como tener hambre al llegar al cine o miedo al atravesar un puente elevado; que son reacciones emocionales que se almacenan como resultado del condicionamiento Pavloviano. Son memorias que se adquieren lentamente a través de la experiencia repetida y no implica un mecanismo de procesamiento único sino de naturaleza diversa.

En Neurología, la clasificación de la memoria esta basada en su antigüedad, es decir en el tiempo que permanece retenido el trazo de memoria. Usualmente en la exploración neurológica es usual dividir en tres plazos a la memoria: 1) inmediata (segundos), 2) a corto plazo o reciente (minutos), y; 3) a largo plazo o remota (días, meses, años) (Klein, 1994).

En Psicofisiología y Neuropsicología, los términos más frecuentes implican una clasificación en tres categorías temporales: 1) Memoria sensorial (ecoica, icónica, etc.), en el orden de fracciones de segundo; 2) Memoria a corto plazo, en el orden de los segundos y hasta no más de un minuto; dentro de ella se incluye como un caso particular la llamada memoria de trabajo, y; 3) Memoria a largo plazo, más allá de 60 segundos (Squire, 1987; Kandel, 1994). Cabe mencionar que todas estas clasificaciones

de la memoria no se superponen ni se repiten dado que sus definiciones temporales y modelos de procesamiento en que se basan no son plenamente coincidentes.

De todas las clasificaciones mencionadas una de las más ampliamente aceptadas y que ha resultado de más utilidad en la práctica y cuenta con mayor respaldo teórico, clínico y experimental es la hipótesis de que existen dos formas de almacén de la memoria: Memoria de corto plazo (MCP) y memoria de largo plazo (MLP); en función del tiempo que la información permanece almacenada (Somjen, 1986; Funahashi y Kubota, 1994). La memoria de corto plazo se refiere al sistema que retiene la información sólo temporalmente en un estado especial mientras ésta es incorporada o transferida a un almacén a largo plazo potencialmente más estable y permanente; esto es, la memoria de largo plazo (Squire, 1987).

MEMORIA DE LARGO PLAZO (MLP): La información que se almacena en este tipo de memoria es difícil de adquirir, pero una vez que se consolida dura mucho tiempo, días o años y en algunas ocasiones, toda la vida del individuo. Este tipo de memoria requiere de la integridad de regiones diencefálicas y temporales mediales que, se sabe, resultan afectadas en pacientes con amnesia (Somjen, 1986; Squire, 1987).

MEMORIA DE CORTO PLAZO (MCP): El término "memoria de corto plazo" ha sido propuesto para describir un almacén de información por un período de tiempo limitado. Este "almacén" de información posee una amplitud de retención temporal breve y su función es organizar y analizar la información. El ser humano es consciente de la información almacenada a corto plazo y permanece de 15 a 20 segundos aproximadamente (Funahashi, 1994); Durante dicho lapso tal información se organiza e interpreta para, virtualmente, producir una huella mnémica más significativa (Doyere y col., 1993; Klein 1994). Este tipo de memoria posee cuatro características adicionales: a) su capacidad de almacenamiento es limitada, de modo que sólo puede mantener una pequeña cantidad de información; b) los recuerdos almacenados pueden alterarse fácilmente por nuevas experiencias; c) tiene una función de repaso, es decir, permite repasar o repetir los recuerdos de experiencias

previas, lo que favorece el recordar la información que es útil para el desarrollo de una tarea dada, y; d) requiere de asociaciones libres entre el estímulo y la respuesta. Este tipo de memoria es independiente de regiones diencefálicas y temporales y se ha propuesto que dependa de una capacidad intrínseca de sistemas de procesamiento cortical (Somjen, 1986; Klein, 1994). La proposición de este sistema se introdujo originalmente como “el almacén a corto plazo” por Atkinson y Shiffrin en 1968. Posteriormente, Baddeley y Hitch (1974) usaron el término “memoria de trabajo” para extender el concepto y para intentar explicar más ampliamente el mecanismo de razonamiento, comprensión y aprendizaje. Baddeley en 1992 definió la memoria de trabajo como un "sistema cerebral" que permite el almacenamiento temporal y la manipulación de la información necesaria para pruebas cognoscitivas complejas como la comprensión del lenguaje, el aprendizaje y el razonamiento. Una característica importante de la memoria de trabajo es que involucra un proceso de almacenaje de información activa, esto es, un proceso por el cual el sistema “lee” la información del sitio donde está almacenada y luego la “trae” de regreso, por lo que continuamente el trazo de memoria se actualiza (Funahashi, 1994), lo que permite al individuo utilizar la información correcta en el momento preciso, en virtud de lo cual es capaz de ignorar información no relevante en ese momento. Este almacén temporal de información provee la continuidad entre nuestro pasado inmediato y nuestra situación presente y que nos permite planear para un futuro inmediato (Toveé y Cohen-Toveé, 1996). Cabe hacer la aclaración de que la MCP y la memoria de trabajo no son sinónimos, sino que esta última es una variedad de la primera con características que la independizan conceptualmente; “memoria de trabajo” describe un espacio de trabajo o *buffer* de memoria en la cual se mantiene información mientras se procesan nuevos datos. Un aspecto clave del concepto de memoria de trabajo es que debe existir más de un componente a procesar; es decir, tiene la capacidad funcional para mantener activo un trazo de memoria y simultáneamente procesar información adicional (Squire, 1987).

Dado que la importancia de un objeto o acción en el presente depende de su importancia en el pasado inmediato, es obvio suponer que las deficiencias en la memoria de corto plazo dan lugar a una gran cantidad de complicaciones psiconeurales como problemas de atención, así como problemas con la organización de la expresión conductual (Toveé y Cohen-Toveé, 1996).

Al parecer, la memoria de corto plazo en los animales tiene una capacidad de almacenamiento y duración mayor que en los humanos. Se ha reportado que la rata puede retener al menos 15 unidades de información en su memoria de corto plazo y en ésta, al igual que en algunos otros animales, la duración puede ser de hasta cuatro horas (Klein, 1994). La memoria de corto plazo les ayuda a los animales en actividades tales como la búsqueda de alimento. Además de conocer que actividades instrumentales específicas le permitirán obtener con éxito el alimento, tienen que saber dónde se encuentra. Cuando un animal explora su ambiente, se encontrará con lugares donde no hay recompensa; y para interactuar de manera eficaz con su medio, ha de recordar que lugares no contienen el estímulo reforzador para evitar volver a esos lugares; así mismo, debe recordar también dónde sí está localizado el mismo para regresar luego a esos lugares (Klein, 1994).

La memoria no se fija al momento del aprendizaje pero continúa y se estabiliza (se consolida) con el paso del tiempo. La consolidación es una característica dinámica de la MLP. No es un proceso automático con un tiempo de duración fijo, ni un evento determinado únicamente durante el proceso de aprendizaje. La consolidación es mejor referida como un proceso hipotético de reorganización neural que guarda la información adquirida, la cual persiste hasta que se olvida. La memoria es afectada por el recuerdo y por la información subsecuentemente almacenada. Esos eventos quizás ejerzan influencia sobre el destino de la memoria reciente y no consolidada a través de la remodelación de la circuitería neural que subyace a la representación original. Así, con el paso del tiempo algunas partes de la representación inicial podrían perderse a través del olvido, mientras que otras partes llegan a ser más

estables y coherentes. En este sentido, el ensamblaje neural que representa la información almacenada podría continuamente ser reorganizado para incorporar información nueva (Klein, 1994).

MECANISMOS FISIOLÓGICOS QUE SUBYACEN A LA CONSOLIDACIÓN DE LA INFORMACIÓN.

Se sabe que diversas regiones cerebrales participan de manera activa durante el proceso de aprendizaje y posteriormente para la consolidación de la información; entre otras, se encuentran el cuerpo estriado, el hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral (McDonald y White, 1993; Prado y Quirarte, 1995; Klingberg y cols, 1996) (Fig. 1). Las conexiones de la corteza cerebral son esenciales para la manifestación de facultades intelectuales y otras expresiones neurales como la percepción e integración de la somestesia en general, la visión y la audición. Dado que, excepto la olfacción, todos los sistemas sensoriales envían información a regiones específicas de la neocorteza, se incrementa la posibilidad de un mejor ajuste de los individuos a su entorno (Fig. 2).

La neocorteza está organizada en regiones separadas que simultáneamente registran características del mundo externo tales como patrones visuales, movimientos o locaciones, entre otras. Se ha propuesto que esta información se almacena en el mismo sistema neural que ordinariamente participa en la percepción, el análisis y el procesamiento de la información que ha sido adquirida durante el proceso de aprendizaje (Squire, 1986).

Se ha demostrado que los procedimientos de habituación y sensibilización (que son formas de aprendizaje muy simples) inducen cambios presinápticos que modifican la liberación del mediador químico. También se ha propuesto que los

cambios sinápticos dependen de eventos bioquímicos ya que se ha demostrado que los inhibidores de la síntesis de proteínas impiden la formación de la MLP y que el aprendizaje induce un aumento en la incorporación de precursores del ácido ribonucleico (ARN) o de proteínas marcadas en el cerebro (Klein, 1994).

Otros estudios han demostrado que ratas criadas en ambientes enriquecidos, en contraste con ratas criadas en condiciones de aislamiento, muestran un aumento en el grosor y peso cortical, en el tamaño de el soma neuronal, en el número y longitud de las dendritas, así como en el diámetro de las terminales sinápticas y en el número de receptores sinápticos. Este tipo de cambios morfológicos también se observan en animales que han sido sometidos a situaciones formales de aprendizaje (Klein, 1994).

En resumen, entre los mecanismos fisiológicos que subyacen al establecimiento de la memoria se observan: cambios en la cantidad del mediador químico liberado en las sinapsis que participan en el proceso, aumentan la síntesis de proteínas neuronales (que se traducen en un aumento en el peso y grosor de la corteza cerebral), incremento de la longitud y grosor de las dendritas, así como en el diámetro de las terminales sinápticas y en el número de receptores posinápticos.

Para explicar los mecanismos por los cuales ocurren los procesos de aprendizaje y memoria, a fines del siglo XIX surgió la Teoría de la Plasticidad Sináptica, la cual aún en la actualidad es la más aceptada. Sugiere que el aprendizaje modifica permanentemente el funcionamiento de sistemas neurales específicos y que este cambio puede reflejar una mejora en el funcionamiento de circuitos neuronales ya existentes o bien, la formación de nuevas conexiones nerviosas. Postula así mismo que posiblemente el aprendizaje tiene que ver con la alteración de las características de transmisión del impulso nervioso al nivel de las sinapsis (Somjen, 1986; Klein, 1994); en virtud de lo cual se propone que ocurre la formación de nuevas conexiones que, de alguna manera, representan la adquisición de nueva información que posteriormente se estructura en circuitos neurales específicos.

El término “plasticidad” es un concepto importante en neurobiología; se remite hoy a la capacidad del sistema nervioso de modificar su estructura y /o su actividad funcional en respuesta a presiones ambientales, lesiones o modificaciones en el estado interno del organismo. El organismo está capacitado para adaptarse a los cambios que tienen lugar en una escala de minutos o segundos y las modificaciones del sistema nervioso que operan en esa escala temporal deben implicar cambios en la función de las sinapsis (Frazer y Hensler, 1994). En general, se refiere a la habilidad de los sistemas neurales para ajustarse a las demandas medio ambientales que requieren de una actividad determinada, o del funcionamiento específico de circuitos neurales de una región dada en un momento determinado.

Muchos procesos contribuyen a la plasticidad neuronal. De entre ellos, destaca la habilidad de las células nerviosas para aumentar los niveles de la síntesis y liberación de neurotransmisores en respuesta a una actividad presináptica aumentada (Frazer y Hensler, 1994). En este contexto, se ha sugerido que la memoria se almacena como cambios en el mismo sistema neural que ordinariamente participa en la percepción, el análisis y el procesamiento de la información que se ha aprendido (Squire, 1987; Kostovic, 1990).

ANTECEDENTES

CORTEZA CEREBRAL PREFRONTAL Y MEMORIA DE CORTO PLAZO.

Particularmente referidos a la organización de la MCP, se ha reportado que la corteza cerebral prefrontal (CCPF) participa de manera preponderante (Carlson y cols., 1990; Wilson y cols., 1993; Granon y cols., 1994, Watanabe, 1996). Esta región neocortical recibe profusas aferencias de todas las áreas corticales sensoriales, incluida la corteza visual; tal información es crucial para la asociación discriminativa de señales sensoriales provenientes del ambiente externo, a nivel prefrontal. Tal información es procesada en la CCPF y es transferida al área cortical premotora y de ahí finalmente al área motora en la que se organiza la ejecución voluntaria de acciones motrices, en ocasiones necesarias para la satisfacción de las demandas ambientales que requieren de la evocación de recuerdos a corto plazo (Fig. 3). Así, la corteza frontal desempeña un importante papel en funciones cognoscitivas. En ella subyacen el monitoreo del orden serial de los estímulos sensoriales y resulta crítica para la organización temporal de las acciones motrices, tales como el movimiento voluntario de la musculatura esquelética y la articulación del lenguaje (Noback, 1975; Fuster, 1991, 1993). Asimismo, integra e incorpora a las acciones motoras voluntarias la "carga" emocional organizada y emanada del sistema límbico (Noback, 1975; Fuster, 1991). Adicionalmente, interviene en la seriación temporal de las acciones encaminadas a resolver tareas que requieren de la orientación espacial (Wilson, 1993), en el pensamiento lógico, así como la organización del aprendizaje y la MCP (Peroutka y Snyder, 1981; Fuster, 1993). La función integrativa del orden temporal seriado por parte de la CCPF se basa en la interacción local de circuitos "ordenadores" de los actos motores consecuentes (Fuster, 1991 y 1993). Esto ocurre en virtud de las conexiones sinápticas que la CCPF establece con el área premotora y, posteriormente

con el área motora, mediante fibras de asociación procedentes de las neuronas piramidales de la segunda y tercera capas corticales (Noback, 1975; Mrzljak y cols., 1990), en tanto que las neuronas piramidales gigantes de la quinta capa cortical del área motora, proyectan sus axones y conforman así el haz corticoespinal para producir el movimiento voluntario, lo que permite que la evocación de recuerdos de eventos ocurridos previamente en el corto plazo sean organizados serialmente y se establezcan patrones de respuesta motriz adecuados (House y cols., 1982).

El mayor avance para el entendimiento de la actividad funcional de la CCPF ha venido de la realización de estudios electrofisiológicos realizados en los últimos 20 años; los cuales revelan que neuronas en la CCPF se activan durante el período de retraso de un ensayo de respuesta retrasada, lo que sugiere que las neuronas prefrontales examinadas son la correlación celular del evento mnémico (Carlson, 1990). Otros reportes mencionan que las neuronas prefrontales tienen "campos de memoria", definidos como el disparo máximo de una neurona para la representación de un objeto blanco en una o pocas locaciones del campo visual; se ha observado que son siempre las mismas neuronas que codifican la misma posición. A este respecto, se ha sugerido que cada neurona prefrontal quizás no guarde información de la secuencia total de un movimiento complejo durante el intervalo de tiempo en cuestión, pero posiblemente sí guarde información parcial del movimiento, como una posición blanco o un movimiento específico. Lo anterior ha sido puesto en evidencia a partir del registro de actividad neuronal durante la realización de tareas específicas llevadas a cabo por monos, mismos que muestran diferencias en función de la dirección del movimiento, de la posición de la señal, o bien de actividad no específica (Carlson, 1990; Watanabe 1996).

En el humano y en primates no humanos la parte dorsolateral de la CCPF ha mostrado estar involucrada en el procesamiento de la memoria de trabajo (Carlson, 1990; Granon y cols., 1990). Hallazgos recientes en monos han mostrado que existe una interacción entre la CCPF y áreas de asociación visual involucradas en el

mantenimiento de memoria de trabajo visual. El procesamiento visual en la CCPF del primate puede ser dividido en dos sistemas: el ventral (que codifica el "qué") concerniente a la identificación de un objeto y, el dorsal (que codifica el "dónde") relacionado con la posición espacial relativa del objeto. Los dos sistemas proyectan hacia diferentes áreas corticales; esto es, el sistema ventral proyecta hacia la corteza de la convexidad inferior ventrolateral del surco principal, en tanto que el sistema dorsal lo hace hacia la región dorsolateral de la región prefrontal. En trabajos recientes se muestra que hay una co-activación de estas regiones durante pruebas de memoria espacial y se ha reportado que la inactivación de cualquiera de ambas por congelamiento provoca deficiencias en la realización de dicha tarea; En tanto que las neuronas constitutivas de estas regiones muestran una respuesta sostenida durante el intervalo de retraso (Toveé y Cohen-Toveé, 1996). Así, el perfil de disparo de las neuronas prefrontales está relacionado con la función de registro, memoria y control motor (Carlson, 1990; Fuster, 1991 y 1993).

De acuerdo a estudios neuroanatómicos la CCPF medial de la rata es considerada como el área homóloga a la CCPF dorsolateral del primate; En ambas especies, esta área recibe proyecciones masivas de la porción medial del núcleo dorsomedial del tálamo (Granon y cols., 1994). Por otro lado, existen evidencias de que el campo CA1 y el subículo de la formación hipocampal envían proyecciones directas hacia la CCPF medial ipsilateral, en la rata (Verwer y cols., 1997). En este sentido, la participación de la CCPF medial en pruebas que requieren de la orientación espacial, de conductas secuenciadas y de la MCP, es bien conocida (Verwer y cols., 1997). Tanto el hipocampo como la CCPF juegan un importante papel en el desempeño de pruebas que demandan respuestas ordenadas temporalmente (Verwer y cols., 1997) y se ha podido inducir potenciación de largo plazo (PLP) en la CCPF después de la estimulación eléctrica del hipocampo, lo que sugiere que las proyecciones directas de la formación hipocampal hacia la CCPF están involucradas en procesos de memoria. Además, algunos investigadores sugieren que la CCPF

ejerce un papel crucial en pruebas que requieren un alto control de atención (Granon y cols., 1994).

En el humano, todos los tipos de proyecciones a la CCPF, así como las neuronas del circuito local ya se encuentran desarrolladas al término del período infantil temprano, esto es, al sexto mes postnatal -antes del inicio de funciones cognoscitivas-. El inicio de tales funciones ocurre entre el séptimo y noveno mes postnatal; a partir de ese período, la utilización de glucosa local aumenta en la CCPF y los infantes mejoran gradualmente la realización de ciertas tareas cognoscitivas (Mrzljak y cols., 1990). Debido a la fina remodelación y diferenciación, así como a su topografía y conexiones que establecen, se ha propuesto que las neuronas piramidales de la capa III son las células directamente relacionadas con el procesamiento prefrontocortical de funciones cognoscitivas (Mrzljak y cols., 1990).

En el desarrollo de la CCPF del humano, las etapas de intenso desarrollo dendrítico coinciden con el desarrollo de conexiones aferentes y eferentes. Se ha propuesto que el desarrollo de aferencias y eferencias ejercen influencia sobre el crecimiento dendrítico, de espinas dendríticas y sobre la expansión y orientación espacial del árbol dendrítico (Mrzljak y cols., 1990). La organización básica de las regiones sensitivas y motoras corticales no presentan una diferencia notable entre la rata y el hombre. Sin embargo, en la escala evolutiva ascendente de los mamíferos crece en forma sorprendente la cantidad de corteza de asociación, de zonas de proyección de las vías sensitivas y áreas motoras que proyectan sus fibras a los núcleos motores subcorticales y a neuronas motoras inferiores (Uylings y Van Eden, 1990).

CORTEZA CEREBRAL, ACETILCOLINA Y PROCESOS COGNOSCITIVOS.

La corteza cerebral se encuentra inervada por diversos sistemas de neurotransmisión (Fig. 4) de entre los cuales a partir de trabajos tanto clínicos como

experimentales se ha llegado a la conclusión de que el sistema colinérgico participa de manera importante en el proceso de memoria (Ridley y cols., 1988; Lamberty y Gower, 1991). Este sistema inerva densamente a la corteza cerebral mediante dos fuentes de inervación: proyecciones provenientes de una serie de núcleos localizados en la porción basal del cerebro anterior y de neuronas corticales intrínsecas. Los núcleos localizados en la porción basal del cerebro anterior comprenden una banda extensa de neuronas que se extienden del núcleo septal medial a través de la banda diagonal de Broca hacia el núcleo basal de Meynert. Estos núcleos fueron clasificados por Mesulam (1983) en cuatro grandes grupos. El colinérgico 1 (Ch1) se ubica en la zona septal medial; el colinérgico 2 (Ch2) en la banda diagonal de Broca; el colinérgico 3 (Ch3) en las estructuras olfatorias, y; El grupo 4 (Ch4) en el núcleo basal de Meynert (NBM). Particularmente, la zona cortical prefrontal recibe una densa inervación mediante aferencias provenientes del núcleo basal de Meynert (NBM) (Ray y Nagy, 1978; Parnavelas, 1990; Riekkinen, 1990) (Fig. 5).

Las terminales colinérgicas muestran una distribución laminar marcada en muchas áreas corticales. La organización laminar parece ser debida en su mayor parte a proyecciones aferentes de los núcleos localizados en la porción basal del cerebro anterior, ya que la lesión de tales núcleos provoca la desaparición de dicha laminación. El patrón básico está caracterizado por una densidad moderadamente alta de terminales en las capas I y III, baja densidad en la capa IV, alta densidad en la capa V, y una densidad de variación decreciente en la capa VI (Parnavelas, 1990).

Las neuronas colinérgicas intrínsecas de la corteza cerebral contienen además polipéptido intestinal vasoactivo; algunos estudios han mostrado que estas células se encuentran dispersas a través de las capas II-VI con una gran mayoría presente entre las capas II y III; Principalmente son células bipolares que predominan en las capas II-IV y un número pequeño de células multipolares en las capas V y VI (Parnavelas, 1990). En el humano, el establecimiento de la organización cortical normal al parecer prosigue a una reorganización estructural y de inervación de neurotransmisores. El

cambio histoquímico mayor es la aparición de la innervación colinérgica de la tercera capa de neuronas piramidales asociativas. Este evento tiene su inicio después del primer año postnatal, prosigue gradualmente y alcanza su mayor intensidad en adultos jóvenes (este desarrollo tardío parece ser característico de la corteza cerebral humana). Esta fase tardía y prolongada probablemente refleja un desarrollo prolongado de la modulación cortical asociativa y quizás sea importante para las bases neurales del desarrollo cognoscitivo normal (Kostovic, 1990).

La acetilcolina (ACh) se sintetiza por la reacción de la colina y la acetilcoenzima A (acetil-CoA; la forma activa del ácido acético) que es catalizada por la enzima colin-o-acetiltransferasa. La ACh se encuentra almacenada en vesículas en la región presináptica y es liberada al espacio sináptico por ruptura de la membrana vesicular, cuando la terminal es despolarizada por un potencial de acción. Una vez liberada, la ACh se une con un receptor específico en la membrana postsináptica (Ardila, 1982).

El sistema colinérgico tiene como propiedad la de actuar en vías multisinápticas que permiten inhibir las respuestas que no conducen al reforzamiento; Es decir la actividad colinérgica excitadora ejerce un efecto de inhibición conductual (Ray y Nagy, 1978; Riekkkinen y cols., 1990); Esto es, que la actividad excitadora de la ACh se refleja conductualmente en la supresión de acciones motrices inútiles (Ray y Nagy, 1978).

Algunos estudios reportan que las concentraciones de ACh se encuentran elevadas en animales que estuvieron expuestos a ambientes enriquecidos, así como en animales naturalmente eficientes para resolver laberintos (Ridley y cols., 1988). Así mismo, existen evidencias de que a partir de la administración de antagonistas a receptores de ACh o bien, por la lesión de las vías colinérgicas se producen deficiencias en la ejecución de pruebas tanto de aprendizaje como de memoria (Kametani y cols., 1993). Por otro lado, hay evidencias clínicas de que en algunas neuropatologías en las que se asocian alteraciones en la memoria como la enfermedad

de Alzheimer, las concentraciones de ACh cerebral se encuentran disminuidas y que cuando se administran agonistas colinérgicos o anticolinesterásicos dichas deficiencias son atenuadas (McEntee y Crook, 1991; Kametani y cols., 1993).

Existen reportes que muestran que la actividad eléctrica cortical es regulada por la interacción de los sistemas colinérgico y serotoninérgico, correlativamente con la expresión conductual del aprendizaje y la memoria; y se ha demostrado que para la organización de dichos procesos, ambos sistemas de neurotransmisión actúan de manera interdependiente (Riekkinen y cols., 1990 y 1991; Richter-Levin y cols., 1993; Sirvió y cols., 1994).

NEOCORTEZA CEREBRAL, SISTEMA SEROTONINERGICO Y ASPECTOS COGNOSCITIVOS.

El sistema serotoninérgico inerva la corteza cerebral mediante fibras provenientes de los núcleos del rafé (O'Hearn y cols., 1984; Mamounas y cols., 1991). Las proyecciones serotoninérgicas ascendentes a la corteza cerebral emergen de tres diferentes núcleos localizados en el tallo cerebral: el núcleo del rafé dorsal (NRD), el núcleo del rafé medial (NRM) y el área B9 (O'Hearn y cols., 1984; Mamounas y cols., 1991) (Fig. 6). La inervación cortical por parte de las neuronas constitutivas del NRD guarda una distribución topográfica específica: las zonas más rostrales del NRD e intermedias al fascículo longitudinal medial inervan las regiones más anteriores de la corteza cerebral; por su parte, las zonas mediales hacen lo propio hacia la corteza parietal, en tanto que las regiones más caudales envían fibras hacia la corteza occipital. Dicho patrón de inervación, además, ocurre en un gradiente decreciente desde la corteza frontal hasta la corteza occipital (O'Hearn y cols., 1984) Todas las capas de la CCPF reciben una inervación densa por parte del NRD (Mamounas y

cols., 1991). Por lo anterior, se ha sugerido que las fibras serotoninérgicas ejercen una influencia importante sobre la actividad prefrontocortical (Vanderwolf y cols., 1989).

Existen evidencias de la participación de la serotonina (5-HT) en diversas funciones corticales integrativas y relacionadas con su expresión conductual (Vanderwolf, 1989). Se sabe que terminales nerviosas serotoninérgicas se localizan en sitios de contacto sináptico, así como a manera de terminales libres (McEntee y Crook, 1991; Wilson y Molliver, 1991). Evidencias electrofisiológicas sugieren que la 5-HT regula la excitabilidad de neuronas corticales y que modula la estimulación colinérgica a aquellas mediante contactos presinápticos inhibidores (Quirino y cols., 1985).

Por otra parte, la 5-HT desempeña un papel importante en el control de los estados afectivos, la atención, la conducta sexual, la actividad locomotriz, la ansiedad y la motivación, así como en el aprendizaje y la memoria; entre otros procesos psiconeurales (Richter-Levin y Segal, 1991; Sirvió y cols., 1994). Una base fisiológica posible para un espectro tan amplio de participación de la 5-HT en el control de la conducta se deriva de evidencias experimentales en el sentido de que proyecciones serotoninérgicas ascendentes desempeñan un papel general en la regulación de la actividad de ondas lentas y el patrón correlacionado de disparo neuronal a través de la corteza cerebral (Vanderwolf y cols., 1989). Estudios clínicos sugieren que la disfunción de la actividad serotoninérgica a nivel cerebral desempeña un importante papel en desórdenes neuropsiquiátricos tales como algunos tipos de demencia y psicosis, puesto que se han encontrado que las concentraciones de este neurotransmisor así como de sus receptores se encuentran disminuidos en primates y humanos de edad avanzada, así como en cerebros de sujetos que en vida padecieron demencia tipo Alzheimer (Gross-Isseroff y cols., 1990). Por otro lado, se ha propuesto que la deficiencia de 5-HT causa amnesia en pacientes que presentan psicosis de Korsakoff (McEntee y Crook 1991).

RELACION DE LOS SISTEMAS COLINERGICO Y SEROTONINERGICO EN PROCESOS COGNOSCITIVOS.

Existe una gran cantidad de estudios clínicos y experimentales en los cuales se sugiere que la interacción del sistema serotoninérgico y colinérgico es indispensable para una manifestación conductual adecuada durante la realización de pruebas diversas de aprendizaje y memoria (Riekkinen y cols., 1990, 1991; Yukihiro y cols., 1991). Las neuronas colinérgicas del NBM y aquellas serotoninérgicas del rafé emiten proyecciones que convergen interactivamente en la neocorteza (Sakurai y Wenk, 1990); Esto es, las terminales serotoninérgicas establecen contactos presinápticos con las terminales colinérgicas (Quirion y cols., 1985; Richter-Levin y Segal., 1991; Yukihiro y cols., 1991). De manera semejante, existen fibras procedentes del rafé que inervan los somas neuronales de células colinérgicas del NBM de la región septal que a su vez, inerva a la CCPF (Robinson, 1983; Dunnet y cols., 1990; Richter-Levin y Segal., 1991; Richter-Levin y Segal., 1991). Se desconoce si durante el aprendizaje ocurre una interacción funcional activa entre la 5-HT y la ACh, aunque existen datos que muestran que la lesión del NRD aumenta el recambio colinérgico; Lo anterior sugiere que existe una influencia inhibidora serotoninérgica sobre la ACh en el hipocampo, la corteza cerebral y el cuerpo estriado (Murtha y Pappas., 1994; Richter-Levin y Segal., 1991). Asimismo, evidencias electrofisiológicas recientes muestran que las proyecciones serotoninérgicas actúan conjuntamente con aquellas colinérgicas procedentes de la base del cerebro anterior, que resulta en una regulación de la actividad del disparo neuronal en la corteza cerebral (Vanderwolf y cols., 1989; Vanderwolf, 1989).

A partir de estudios experimentales recientes en los que se midió la concentración y la liberación de 5-HT y ACh en cerebros de animales sometidos a pruebas experimentales, se sugiere que ambos sistemas son mutuamente inhibidores (Robinson, 1983; Richter-Levin y cols., 1993). Sin embargo y por otro lado, se ha

reportado que las proyecciones del NRD hacia la neocorteza no están involucradas en la inhibición de la liberación tónica de ACh por fibras colinérgicas provenientes del NBM y viceversa (Dekker y Thal, 1993).

Los efectos de la manipulación farmacológica simultánea de ambos sistemas sobre pruebas de aprendizaje y memoria han mostrado que cuando se aplican fármacos que reducen selectivamente las concentraciones de 5-HT no se altera significativamente la realización de pruebas de aprendizaje y memoria (Richter-Levin y Segal, 1991). Sin embargo, cuando se producen lesiones en ambos sistemas de manera simultánea se observan deficiencias intensificadas respecto a aquellas observadas por lesión única del sistema colinérgico; deficiencias que se restablecen cuando se implanta tejido cerebral fetal proveniente del complejo del rafé (Richter-Levin y Segal, 1991). Por otro lado, el abatimiento de las concentraciones cerebrales de 5-HT por vía sistémica mejora el desempeño de pruebas complejas de discriminación espacial. Sin embargo, tal efecto no se presenta cuando se lesionan las neuronas colinérgicas del NBM; en tanto que la lesión del NBM sola, no alteró la realización de la prueba (McEntee y Crook, 1991; Richter-Levin y cols., 1993). La información mencionada sugiere la existencia una relación importante entre estos dos sistemas de neurotransmisión en la regulación de los procesos de aprendizaje y memoria; sin embargo, no demuestran consistentemente los mecanismos mediante los cuales esta relación se manifiesta.

Particularmente referidos al sistema serotoninérgico, los datos sobre el efecto de la 5-HT sobre el aprendizaje y la memoria son, asimismo, inconsistentes. Por ejemplo, algunos trabajos reportan que la inhibición de la síntesis de 5-HT en roedores mediante el tratamiento con p-clorofenilalanina facilita, impide o no afecta el aprendizaje en un paradigma de evitación activa y, por otro lado, que el tratamiento con antagonistas a 5-HT generalmente produce una mejora en la memoria; sin embargo, existen datos de lo contrario (McEntee y Crook, 1991). No obstante la inconsistencia de lo reportado, en general la mayor cantidad de estos

trabajos sugieren que cuando se inhibe la síntesis o se aplican antagonistas a 5-HT el efecto que se observa es que la eficiencia en pruebas de aprendizaje se mejora (Richter-Levin y Segal, 1991). En concordancia con lo anterior, en trabajos previos realizados en nuestro laboratorio en los que se indujo el abatimiento crónico de la concentración de 5-HT en la CC PF, ya sea mediante la restricción de triptofano en la dieta (González-Burgos y cols., 1998) o bien, mediante la aplicación estereotáxica de 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) en el NRD (Pérez-Vega y cols., 2000); en ambos experimentos se observó una mayor eficiencia en el desempeño de una tarea que requería de los animales la evocación de recuerdos adquiridos hacia el corto plazo, correlativamente con modificaciones en la citoarquitectura de las neuronas piramidales de la tercera capa de la CC PF. Asimismo, se ha reportado que con la aplicación de fármacos que favorecen el aumento en la liberación de 5-HT se producen deterioros en pruebas de aprendizaje y al parecer, una desorganización en la memoria (Richter-Levin y Segal, 1991) y se ha observado que cuando se estimula eléctricamente el NRD los procesos de memoria se ven interrumpidos (Robinson 1983). Sin embargo, existen reportes en los que se aplican inhibidores de la recaptura de 5-HT en terminales nerviosas presinápticas (lo que aumentaría la transmisión serotoninérgica por la elevación en su concentración) y se ha observado que se mejora significativamente la realización de tareas mnémicas, tanto en animales como en humanos (McEntee y Crook, 1991).

RECEPTORES A SEROTONINA Y SU PARTICIPACION EN LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA.

La serotonina ejerce su efecto mediante la activación de sus diversos receptores; Múltiples tipos y subtipos de receptores a 5-HT han sido identificados en el tejido cerebral (Fig.7). Existen concentraciones elevadas de receptores serotoninérgicos en

áreas cerebrales involucradas con el aprendizaje y la memoria, tales como el hipocampo, la amígdala, el cuerpo estriado y la corteza cerebral.

Particularmente en la CC PF se encuentran concentraciones elevadas de receptores 5-HT_{1A/1D}, 5-HT_{2A/2B/2C}, y 5-HT₆ (Pazos y cols., 1985; Andrade y Chaput, 1991a; Andrade, 1992). Diversos reportes involucran al sistema serotoninérgico en la actividad funcional de otros sistemas de neurotransmisión. Consecuentemente, la especificidad del tipo y subtipo de receptor ha sido un aspecto importante a considerar en investigaciones con drogas que afectan este sistema de neurotransmisión, lo que ha derivado en el seguimiento de estrategias para descubrir fármacos que intervengan en tales procesos cognoscitivos. Diversos trabajos reportan que mediante la aplicación experimental de antagonistas a receptores específicos de 5-HT la realización de tareas de aprendizaje y memoria se ven alteradas. Por otro lado, se ha sugerido que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} ejerce influencia sobre funciones cognoscitivas dado que la aplicación de agonistas selectivos a estos receptores altera la realización de pruebas de aprendizaje espacial y evitación pasiva y, por otro lado, que inhiben la actividad rítmica lenta del hipocampo la cual, está relacionada con el aprendizaje y la memoria (Wilkinson y cols., 1994). Asimismo, hay evidencias que indican que la 5-HT participa en la PLP, mecanismo fisiológico de facilitación que también se ha asociado con la organización funcional del aprendizaje y la memoria (Kandel y Hawkins, 1992; Richter-Levin y cols., 1995). La aplicación de antagonistas a 5-HT₃ y de agonistas a 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT₄ facilita la PLP (Boeijinga y cols., 1994; Eglen y cols., 1995). Existen trabajos experimentales que reportan que por medio de la activación de los receptores presinápticos 5-HT_{1A} ó de los receptores 5-HT₄, la 5-HT facilita la liberación de acetilcolina a nivel cortical en condiciones fisiológicas, mientras que tal liberación se inhibe por la activación de los receptores 5-HT₃ (Bianchi y cols., 1991; Consolo y cols., 1996, Feuerstein y cols., 1996). Además, la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} provoca la inhibición de la acción hiperpolarizante tónica de la 5-HT endógena sobre neuronas piramidales

glutamatérgicas (Bowen y cols., 1992) y al parecer, esta modulación no es directa sino que ocurre a través de interneuronas (Bianchi y cols., 1991; Feuerstein y cols., 1996). Por lo tanto, no es posible excluir que en la facilitación del aprendizaje observada tras la activación de los receptores presinápticos 5-HT_{1A} intervengan los sistemas colinérgico y glutamatérgico. Por otro lado, en estudios electrofisiológicos se ha observado que la 5-HT por medio de los receptores 5-HT₂ presenta dos efectos, uno inhibitor y otro excitador (Hoyer y cols., 1994); y que la activación de los receptores 5-HT_{2A} estimula a un grupo de interneuronas GABAérgicas corticales, lo que produce un efecto excitador (Aghajanian y cols., 1994; Mokler y cols., 1994; Gellman y cols., 1996). Así, en la corteza cerebral los receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ al parecer median diferentes efectos fisiológicos de la 5-HT. Se ha observado que en áreas de la corteza donde se encuentran ambos tipos de receptores, los receptores 5-HT₂ se oponen al efecto inhibitor producido por la activación de receptores 5-HT₁ y por otro lado la aplicación iontoforética de ketanserina -la cual bloquea los receptores 5-HT₂- potencia el efecto inhibitor de la 5-HT (Blue y cols., 1988; Andrade, 1992; Ashby y cols., 1994). Por su parte, existen diferencias en la respuesta que inducen los agonistas a los receptores 5-HT_{1A}; por ejemplo, en los receptores presinápticos se comportan como agonistas completos, en tanto que en los receptores posinápticos pueden ser agonistas completos, parciales o incluso antagonistas (VanderMaelen y cols., 1991). En la corteza cerebral existe una cantidad similar de receptores 5-HT_{1A} y de receptores 5-HT_{2A}, aunque difieren en su distribución regional y laminar. Esta distribución posiblemente determina el mecanismo neural mediante el cual la 5-HT actúa sobre las neuronas corticales y por el que ejerce su efecto al activar dichos receptores (Blue y cols., 1988). Particularmente, en cuanto a la participación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en los procesos de aprendizaje y memoria, se han realizado estudios farmacológicos agudos mediante la aplicación sistémica de sustancias relacionadas con la actividad de dichos receptores y, como resultado de ello, existen evidencias experimentales contradictorias. Se ha reportado que agonistas

al receptor 5-HT_{1A} tales como el 8-hidroxi-2-di-n-propilamino tetralin (8-OH-DPAT) mejoran el aprendizaje (Winter y cols., 1987), mientras que otros autores reportan que lo bloquea (Deacon, 1991; Carli y Samanin, 1992; Carli y cols., 1995) o bien, que no ejerce ningún efecto (Nabeshima y cols., 1989; Noda y cols., 1991; Carli y Samanin, 1992; Carli y cols., 1995). Por otro lado, se desconoce el efecto de antagonistas a dicho receptor. En cuanto a la información sobre los efectos de los agonistas al receptor 5-HT_{2A}, aunque se han probado fármacos como el agonista 1-3-m-clorofenil piperazina (mCPP) -que tiene afinidad por varios receptores serotoninérgicos, incluidos los receptores 5-HT_{2C/1B/3-}, se ha reportado que disminuyen la capacidad de aprendizaje (Hoyer y cols., 1994). En cambio, se ha reportado que los antagonistas a receptores tanto 5-HT_{2A} como 5-HT_{2C} mejoran el aprendizaje en animales normales con deficiencias producidas farmacológicamente o por el envejecimiento (Altman y Normile, 1988), aunque se desconocen los mecanismos de acción de ambos efectos.

La distribución topográfica específica de los receptores 5-HT₂ en la corteza cerebral sugiere que pudieran estar asociados con un subgrupo de axones serotoninérgicos provenientes del NRD, los cuales son extremadamente finos, altamente arborizados y tienen varicosidades pleomórficas pequeñas; sin embargo, esta asociación de axones finos con receptores 5-HT₂ no parece ser exclusiva, dado que algunos estudios sugieren que quizás estén asociados con otros receptores tales como los 5-HT₁, los cuales se encuentran concentrados en las capas I, III y V de la propia corteza. Mientras que la distribución general de los receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ es diferente, la sobre posición parcial que presentan en algunas zonas de la corteza sugiere que algunos axones finos quizás interactúan tanto con receptores 5-HT₁ como con receptores 5-HT₂ (Blue y cols., 1988). La asociación estrecha entre estos axones y los receptores 5-HT₂ sugiere que quizás formen un sistema funcional mediante el cual actúen muchas sustancias psicotrópicas (Blue y cols., 1988), ya que la administración crónica de drogas antidepresivas disminuye el número de receptores 5-HT₂ en el cerebro de rata, mientras que otras terapias antidepresivas como la aplicación de

shocks electro convulsivos crónicos inducen el efecto contrario, esto es, aumentan el número de estos sitios (Pazos y Palacios.,1985; Pazos y cols., 1985). Recientemente se ha encontrado que existe una disminución en el número de estos receptores en membranas de células corticales de pacientes que padecieron en vida demencia senil tipo Alzheimer (Pazos y Palacios.,1985; Pazos y cols., 1985). Asimismo hay evidencias de que tanto los receptores 5-HT_{1A} como 5-HT_{2A} se encuentran sobre somas de células colinérgicas localizados en los núcleos septales, así como sobre terminales colinérgicas aferentes a la corteza cerebral; lo que sugiere que este tipo de receptores podría jugar un papel importante en procesos cognoscitivos mediados por estos sistemas. Por otro lado, la aplicación de bloqueadores selectivos a receptores 5-HT₂ fue efectiva para la prevención de amnesia inducida por hipoxia (McEntee y Crook., 1991) y recientemente se ha propuesto que en condiciones normales la 5-HT endógena modula el aprendizaje por medio de la actividad de los receptores 5-HT₂ (Harvey, 1982); Lo anterior basado en evidencias de que agonistas a receptores 5-HT_{2C} mejoran el aprendizaje y que antagonistas a receptores 5-HT_{2A/ 2C} lo bloquean (Hoyer y cols., 1994; Smith y cols., 1994).

Por lo anterior, la manipulación farmacológica intracerebral de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} y el conocimiento de sus efectos sobre la liberación de ACh a nivel prefrontocortical, podría contribuir al esclarecimiento de los mecanismos mediante los cuales la 5-HT modula la expresión conductual de la MCP.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La actividad de la corteza cerebral prefrontal está involucrada de manera preponderante en la organización psiconeural de la memoria de corto plazo. Aquella se encuentra densamente inervada por el sistema colinérgico septal, cuya participación en dicho proceso cognoscitivo es conocida ampliamente. La actividad colinérgica cortical es regulada por la neurotransmisión serotoninérgica y se ha propuesto que en tal proceso interactivo la estimulación de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} pudiera estar directamente relacionada con la organización de la memoria de corto plazo. Sin embargo, los estudios hasta ahora realizados no han establecido los efectos de tal estimulación sobre la actividad colinérgica de manera directa, ni en relación con la manifestación conductual de dicha cualidad cognoscitiva.

HIPOTESIS

a) Si la actividad colinérgica prefrontocortical participa en la organización de la memoria de corto plazo y si, b) por un lado, la serotonina modula la liberación de acetilcolina mediante la estimulación de sus receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} y, c) por el otro, el abatimiento de serotonina produce un desempeño más eficiente en pruebas de memoria de corto plazo; Entonces la aplicación de los agonistas 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT selectivos a los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} respectivamente provocará el restablecimiento “normal” tanto de la concentración de acetilcolina prefrontocortical, así como de la manifestación conductual de la memoria de corto plazo.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el papel que desempeña la transmisión serotoninérgica mediante la manipulación farmacológica de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en la liberación de acetilcolina mediadora de la organización de la memoria de corto plazo.

OBJETIVO PARTICULAR

Cuantificar la concentración de acetilcolina y de serotonina prefrontocorticales en ratas con lesión del núcleo del rafe dorsal, durante la ejecución de pruebas de memoria de corto plazo.

MATERIAL Y METODOS

SUJETOS EXPERIMENTALES

Se utilizaron ratas hembra de 200-250 g de peso de la cepa Sprague-Dawley, las cuales fueron mantenidas a 25° C bajo ciclos normales de luz-oscuridad de 12 x 12 h (07:00-19:00 h) y con acceso libre al agua y al alimento.

LESION DE AFERENCIAS SEROTONINERGICAS A LA CORTEZA CEREBRAL PREFRONTAL

Al inicio del estudio, se conformaron tres grupos de trabajo un grupo considerado como testigo (T; n = 15), un grupo control (C; n = 15), y un grupo experimental (E; n = 45), todos los sujetos fueron sometidos inicialmente a una primera evaluación conductual antes de ser manipulados quirúrgicamente (prueba pre-tratamiento), posterior a esta primera evaluación a los integrantes del grupo experimental se les produjo una lesión por vía estereotáxica en la región anteroventral del núcleo del rafe dorsal (NRD) (Paxinos y Watson, 1986): antero-posterior a Bregma, 8.0 mm; lateral, 2.0 mm; profundidad, 7.2 mm, y; angulación, 19°. Con una jeringa microlítrica se inyectaron 0.5 µl de una solución compuesta de: 1 µg/µl de 5,7-DHT y ácido ascórbico al 0.1% en NaCl al 0.9% (Riekkinen, 1991). Al grupo C se le sometió a la cirugía y se le aplicó la misma solución vehículo en el sitio cerebral correspondiente a las mismas coordenadas estereotáxicas; en tanto que el grupo T no recibió ningún tratamiento. Treinta minutos antes de la cirugía, los animales del grupo E y del grupo C recibieron una dosis de 50 mg/kg de peso de desipramina por vía intraperitoneal para proteger terminales noradrenérgicas (Robinson, 1983), dado que la 5,7-DHT es así mismo tóxica para tales neuronas (Robinson, 1983). El estado de anestesia se indujo mediante la aplicación de 1 mg/kg

de dehidrobenzoperidol 15 min previos a la cirugía y 50 mg/kg de ketamina, por la misma vía.

Veinte días después del procedimiento quirúrgico de lesión los animales integrantes de todos los grupos fueron anestesiados y se sometieron a cirugía para la implantación de una cánula guía y sonda de diálisis en la porción dorsomedial de la CC PF. A los grupos T y C se les prefundió vía diálisis la solución vehículo Krebs-Ringer, en tanto que el grupo E con lesión en el NRD se dividió en tres; un grupo experimental (E, n = 15) al que se le administro la solución vehículo, un grupo experimental al que se le administro el agonista 8-OH-DPAT (grupo 8-OH-DPAT; n = 15) y un tercer grupo experimental al que se le aplico el agonista α -Me-5-HT (grupo α -Me-5-HT; n = 15). Después de un periodo de estabilización de 180 min se procedió a realizar, por segunda vez, la misma prueba conductual para evaluar las posibles modificaciones en la ejecución de la tarea (prueba post-tratamiento).

EVALUACION CONDUCTUAL

Las pruebas conductuales se realizaron durante las fases de metaestro ó diestro del ciclo estral de cada rata, lo cual fue determinado mediante la realización de citologías exfoliativas y su posterior procesamiento mediante la técnica de Papanicolaou (Nezelof y cols., 1975).

La tarea conductual para evaluar la MCP se realizó en una habitación aislada del ruido externo, entre las 14:00 y 16:00 h en presencia de señales visuales externas fijas y constantes, los animales fueron colocados en el punto inicial del laberinto de "Biel" (Vorhees, 1986) de piso firme (González-Burgos y cols., 1998; Pérez-Vega y cols., 2000), con paredes de color blanco de 20 cm de alto (Fig. 8). Se realizaron 5 pruebas consecutivas por animal, en cada una de las cuales éstos debieron recorrer la trayectoria correcta hasta alcanzar el final del laberinto, sitio donde se colocó un bebedero con agua como recompensa, en virtud de que 48 h previas a la realización

de la prueba el agua les fue retirada de su jaula de mantenimiento. Una vez que los animales hubieron ingerido unas gotas de agua, el recipiente les fue retirado inmediatamente y fueron conducidos nuevamente al compartimiento de “descanso”. Se registró el tiempo empleado en recorrer el laberinto, así como el número de errores cometidos, por intento; se considero “error” cuando la cabeza y las extremidades delanteras del animal invadían cualquiera de los puntos ciegos del laberinto. Entre intento e intento se dieron 3 minutos de intervalo y los registros se realizaron por observación directa, así como mediante el análisis del video de la prueba conductual, que fue filmada con el uso de un sistema de seguridad en video con disposición en pantalla, consistente en una cámara compacta de alta resolución. Los registros fueron realizados por dos observadores.

Durante la realización de una tarea compleja, muchos tipos de información deben estar representados en estados de accesibilidad altamente especiales. Esta información incluye productos de análisis perceptual reciente, planeación de movimientos motores acordes a la información recientemente adquirida y a productos parciales de información guardada en el corto plazo que esperan ser procesados más fuertemente (Squire, 1987). Así, la resolución del laberinto de “Biel” (Fig. 8) requiere que el sujeto siga la trayectoria correcta desde el punto de inicio hasta el final del mismo, sin variación de los requerimientos de resolución de intento a intento, lo cual implica la evaluación de la memoria de corto plazo de referencia; a diferencia de aquella que requiere la actualización de la información a cada ensayo en el transcurso de éstos, denominada memoria de corto plazo activa o memoria de trabajo. Así, la resolución del laberinto requería: 1) aprender la trayectoria y, 2) recordar en cada ensayo los puntos considerados como error y evitar entrar en ellos. Esta prueba no puede ser resuelta por simples asociaciones estímulo-respuesta, ni por la realización repetida de movimientos específicos por parte del sujeto dado que el laberinto esta conformado por una serie de segmentos en forma de “T”, todos de dimensiones semejantes y en los cuales en cada punto de disyunción se debe elegir ya

sea hacia la derecha o hacia la izquierda; una de las elecciones lo lleva ya sea hacia un error o bien hacia la meta y, por otro lado, el lado de elección varía según se avanza en la resolución de la tarea. En el segmento final del laberinto uno de los brazos es más largo que el otro, lo que permite al sujeto identificar que ha llegado a la meta (Fig. 8). Así, la utilización de este laberinto permite al investigador evaluar si el sujeto de experimentación aprende e identifica la trayectoria correcta y así mismo, evaluar la memoria de corto plazo intento a intento sobre la base de la disminución gradual en el número de errores en cada uno de los cinco intentos de los que consiste la prueba. Por otro lado, se ha demostrado que dicho dispositivo es altamente sensible para detectar efectos en el desempeño conductual relacionado con procesos cognoscitivos en roedores, provocados por la administración de fármacos diversos que se sabe que afectan la funcionalidad del sistema nervioso; así como las alteraciones provocadas por lesiones cerebrales. Los resultados obtenidos con la utilización del laberinto de Biel pueden ser interpretados y determinados con un índice alto de confiabilidad sin dar lugar a confusiones en caso de tratarse de un cambio benigno o reversible en la conducta de significado desconocido (Vorhees, 1986). En síntesis, la utilización del laberinto de Biel brinda las ventajas de ser altamente sensible en la detección de daños inducidos por neurotóxicos, los datos obtenidos son reproducibles y no da lugar a falsos positivos.

ESTADÍSTICA PARA LOS DATOS CONDUCTUALES

Los datos conductuales son expresados como mediana \pm cuartiles y se compararon inter- e intragrupalmente. Para el análisis intergrupal de los resultados se utilizó la prueba estadística no paramétrica de varianza de Kruskal-Wallis y la "U" de Mann-Whitney como prueba *post hoc*, y; la prueba de varianza de Friedman y la *post hoc* de rangos señalados y pares igualados de Wilcoxon, para el análisis intragrupal.

PROCEDIMIENTO DE CIRUGIA Y MICRODIALISIS

Los animales integrantes de todos los grupos fueron anestesiados con 1.5 -2.0% de halotano y colocados en un aparato estereotáxico para la implantación de la cánula guía y colocación de la sonda de diálisis. La superficie externa del cráneo fue expuesta y se procedió a realizar un orificio en el mismo de 2 mm de diámetro. La sonda de diálisis (2 mm membrana viva en la punta, BAS, West Lafayette, IN.) Fue colocada en la porción dorso-medial de la corteza cerebral prefrontal en las siguientes coordenadas: antero-posterior a bregma, +2.7 mm; lateral, 0.5 mm; profundidad 1.2 mm; y con un ángulo de 26.5°, de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (1986) para la determinación de coordenadas estereotáxicas del cerebro de la rata. La sonda de diálisis fue asegurada al cráneo con tornillos de acero inoxidable y acrílico. La sonda de diálisis fue perfundida con solución Krebs Ringer oxigenado y compuesto de (mM): NaCl 118, K₂PO₄ 1.25, KCl 4.0, MgSO₄ 1.17, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.2, glucosa 10; a un pH de 7.4. En el brazo de salida de la cánula se conecto un “ by-pass” a través del cual se paso physostigmine 20 µM (inhibidor de la acetilcolinesterasa). La perfusión se realizo a un flujo constante de 3 µl/min.

Después de un período de estabilización de 180 min las muestras de las diálisis fueron colectadas cada 3 min; en cada vial se adicionaron 2µl de una solución estándar compuesta de: 3.0 ml de ácido acético glacial en aproximadamente 950 ml de agua grado HPLC con pH ajustado a 5-5.5, 5 ml de ProClin 1% (reactivo microbicida), ajustada a 1.0 L; con la finalidad de preservar en buen estado las muestras y evitar la contaminación de las mismas. Los viales fueron guardados a -20°C. Inmediatamente después de la colecta de las muestras éstas fueron divididas en dos para la determinación de las concentraciones de 5-HT y ACh por separado, en dos diferentes sistemas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). A las ratas de los diferentes grupos se les administró el compuesto correspondiente a un tiempo “cero” después de la colecta de diez muestras de liberación basal, la concentración de

liberación basal en cada uno de los grupos fue determinada como un promedio de la concentración obtenida en las diez muestras colectadas 15 min antes de la administración de los fármacos correspondientes (Cuadra y cols., 1994). Las muestras “problema” se colectaron para su análisis consecutivamente desde el punto inicial de cada ensayo y se realizaron colectas consecutivas en: a) los puntos de error; b) en los momentos posteriores al arribar al brazo mayor del laberinto y previo a la meta; c) al momento de llegar a la meta del laberinto, y; d) en el período de reposo en su jaula de mantenimiento después de cada ensayo. Solo se consideraron para su análisis las muestras colectadas en aquellos sujetos de cada grupo que hubieren invadido totalmente y permanecido, en cada uno de los sitios de interés el tiempo suficiente para colectar las muestras requeridas. Lo anterior con el fin de establecer una correlación entre los niveles de liberación de transmisores con cada fase de la resolución del laberinto. Al final del experimento los animales fueron sacrificados por decapitación, el cerebro fue removido y se verificó el sitio de inserción de la cánula en la CCPF, así como el sitio de lesión en el NRD (Nezelof, 1975).

ADMINISTRACION DE FÁRMACOS

Debido a que la información hasta ahora existente comunica diferentes efectos a distintas dosis de la aplicación de los fármacos agonistas a los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en diferentes regiones cerebrales y por medio de diferentes vías de aplicación; en el presente trabajo se utilizaron tres grupos de animales T, C y E (los cuales fueron tratados exactamente igual que los grupos correspondientes referidos con anterioridad) estos grupos fueron divididos en dos (n = 10 c/u) para la aplicación de 8-hidroxi-di-n-propilamino tetralin (8-OH-DPAT) y de α -Me-5-HT, agonistas a los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}, respectivamente; con el objeto de probar la dosis correspondiente de acuerdo a su constante de inhibición (pKi) específica al receptor 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} respectivamente de cada uno de ellos y así determinar el tiempo en el

cual la aplicación de los fármacos produjera un efecto mantenido sobre la liberación de ACh al nivel de la CCPF. Una vez obtenida dicha información, las drogas administradas vía diálisis se disolvieron en la solución vehículo Krebs-Ringer y a los animales integrantes de los grupos 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT se les aplicó la dosis correspondiente de 8-OH-DPAT y de α -Me-5-HT agonistas a los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}, respectivamente; y se procedió a realizar su segunda prueba conductual. Por otro lado, a los integrantes del grupo T, C y E sólo se les aplicó la solución vehículo y, al igual que al resto de los animales, se les sometió a una segunda prueba conductual para evaluar la MCP. La perfusión se inició en el tiempo “cero” y se mantuvo constante a través del estudio.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ACETILCOLINA.

La concentración de ACh en las muestras de diálisis (5 μ l) fue determinada por HPLC y detección electroquímica (Fig. 9) . La fase móvil (pH 8.5 ± 0.05) consistió de 6.9 g NaH₂PO₄, 0.18 g Na₂EDTA y 5 ml de ProClin (reactivo microbicida) en 995 ml de agua grado HPLC. La fase móvil fue filtrada y desgasificada antes de ser bombeada a un flujo de 135 μ l / min. (bomba Waters 515 HPLC) a través de una columna analítica de microboro (ACh / Ch BAS Unijet 530 x 1 mm) acoplada a una postcolumna con reactor enzimático inmovilizado el cual contenía acetilcolinesterasa para convertir la ACh a colina y acetato; además, contuvo colina oxidasa, la cual convierte la colina en betaína y peróxido de hidrógeno. La detección electroquímica finalmente se realizó por medio del uso de un detector electroquímico (LC-4B, BAS, West Lafayette, IN). El electrodo de trabajo de platino estuvo a un potencial de 0.45V. La columna se mantuvo a una temperatura constante de 35°C (Cuadra y cols., 1994).

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE SEROTONINA

La concentración de 5-HT en la fracción de diálisis fue determinada por HPLC y detección electroquímica de acuerdo al método de Marsden y Joseph (1986), con el uso de una bomba Waters 515, de columnas C18 de 30 cm de longitud por 0.5 cm de diámetro y de un detector BAS amperométrico LC 4B a un voltaje de oxidación de 0.85V, en un rango de sensibilidad de 50 nA. La fase móvil consistió de NaH_2PO_4 0.1mM, EDTA 0.1mM y ácido octano-sulfónico 2mM, con un pH 3.78, en una forma isocrática con 10 % de metanol, a una velocidad de flujo de 0.8ml/min. Este método permite la determinación de varias monoaminas, que incluyen norepinefrina, dopamina y 5-HT, así como de sus metabolitos (Fig. 10).

ESTADISTICA

Los datos son expresados como media \pm E.E.M. y fueron comparados inter- e intragrupalmente. Para comparar las diferencias entre el grupo testigo y los grupos tratados se utilizó el método de análisis de varianza (ANOVA) y como prueba *post hoc* la prueba de Tukey; para el análisis intragrupal se utilizó igualmente la prueba estadística de ANOVA para grupos relacionados y la prueba *post hoc* de Tukey, a un valor de significancia menor o igual a 0.05.

La concentración de ACh y 5-HT fue determinada mediante la comparación del pico mas alto de cada muestra con un estándar interno, con el uso de un integrador (Waters 740 Data Module). La cantidad de 5HT y ACh en los dializados está representada como fmol/fracción.

HISTOLOGIA

El encéfalo fue extraído y post fijado en formaldehído al 4% amortiguado en fosfatos y después de 24 h. el núcleo del rafé dorsal fue disecado. Posteriormente al procesamiento histológico de rutina, se realizaron cortes coroneles seriados de 10 μm de espesor y estos fueron teñidos con violeta de cresilo (Nezelof y cols; 1975) para verificar la ubicación y extensión del área lesionada (Fig. 11).

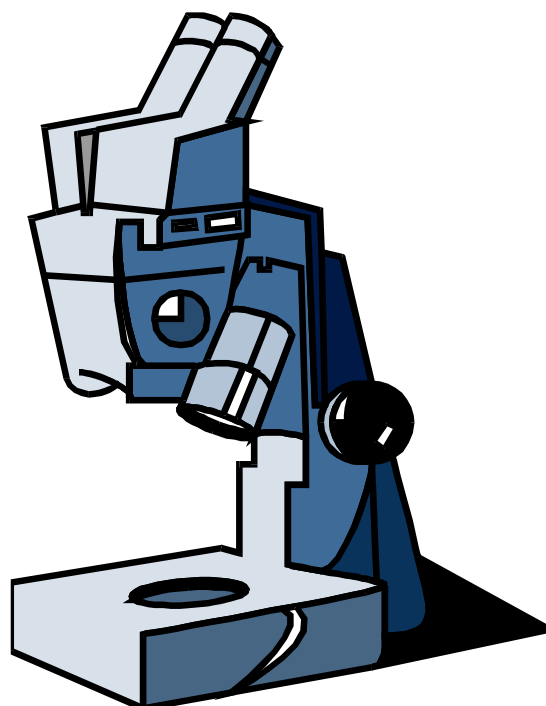
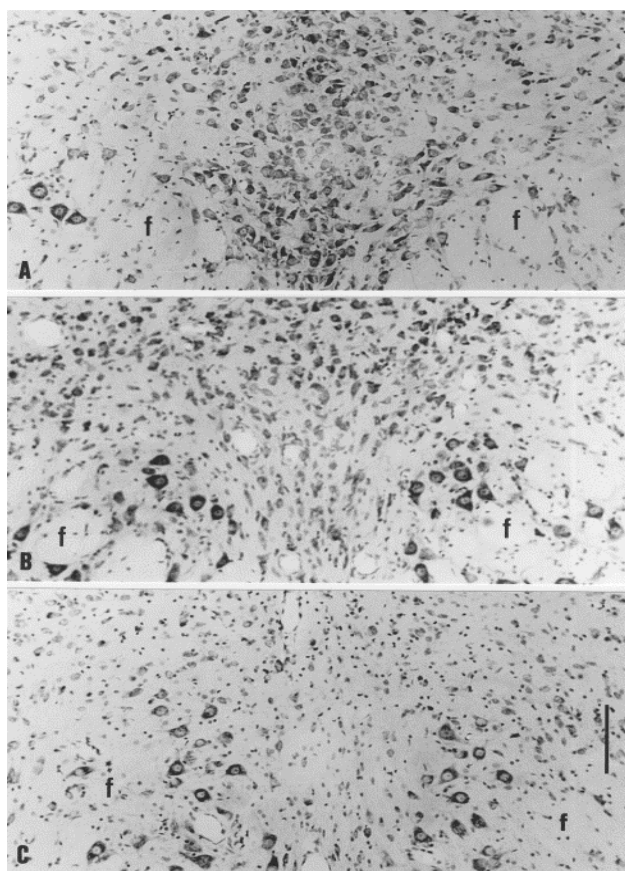


Fig. 11. Imágenes histológicas de cortes coroneles del núcleo del rafé dorsal en los que se aprecian la histología normal en el grupo testigo (A); así como, las características histopatológicas después de la microinyección de la solución vehículo en los animales del grupo control (B);ó después de la aplicación de la neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina utilizada para destruir neuronas serotoninérgicas en los animales experimentales (C). Nótese la ausencia casi total de neuronas en el grupo lesionado, así como la mayor cantidad de glía en este último respecto a los grupos testigo y control. (f): Fascículo longitudinal medial. Violeta de cresilo, 25X.

RESULTADOS

CONDUCTA

PRUEBA PRE-TRATAMIENTO

Análisis Intergrupar

No hubo diferencias significativas ni en el número de errores cometidos ni en el tiempo empleado para resolver la tarea entre ninguno de los tres grupos estudiados (T, C y E) en ninguno de los cinco intentos.

Análisis intragrupal

El número de errores cometidos por los animales de los grupo E y C fue significativamente menor en el 4º y 5º intentos, en tanto que en el grupo T lo fue en el 2º, 4º y 5º intentos (Fig. 12).

PRUEBA POST-TRATAMIENTO

Análisis intergrupar

En la prueba post-tratamiento no se registraron diferencias entre ninguno de los grupos en los intentos 1 y 5; pero en el intento número 2 tanto los integrantes del grupo C como aquellos del grupo 8-OH-DPAT cometieron mas errores que los integrantes del grupo α -Me-5HT. Por otro lado, en el intento 3 se registro en el grupo C y α -Me-5HT un mayor número de errores con respecto al grupo T y 8-OH-DPAT. En cuanto al intento número 4, se registro un mayor número de errores en el grupo T con respecto al los grupos E, 8-OH-DPAT y α -Me-5HT; y por su parte los integrantes

del grupo control registraron un aumento significativo en el número de errores cometidos al compararlos con el grupo E.

Análisis intragrupal

Los animales del grupo E cometieron menor número de errores y disminuyeron el tiempo empleado para la resolución de la tarea a partir del 2º intento en comparación tanto con los del grupo T, como con los del grupo 8-OH-DPAT, los cuales hicieron lo propio a partir del 3º intento; en tanto que el grupo α -Me-5H disminuyó significativamente su número de errores a partir del 4º intento y el tiempo empleado para la realización de la prueba conductual a partir del 2º intento (Fig. 13).

RESULTADOS DE LA LIBERACIÓN DE 5-HT Y ACh ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE 8-OH-DPAT Y α -ME-5-HT EN RATAS CON MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO.

Liberación Basal de 5-HT

El valor basal de la liberación de 5-HT en los diferentes grupos expresado en fmol/fracción fue de 29.66 ± 2.80 en el grupo T ($n = 12$), 57.42 ± 8.34 en el C ($n = 14$) y 18.57 ± 2.52 en el E ($n = 14$). Dichos resultados representan una disminución significativa en la liberación de 5-HT en el grupo E de 34.53% ($p = 0.01$) y 65.93% ($p = 0.0001$) respecto a los grupos T y C respectivamente. Por otro lado, en el grupo C la liberación fue significativamente mayor (92.21%; $p = 0.004$) en comparación con el grupo T (Tabla I).

Liberación Basal de ACh

El valor basal de ACh expresado en fmol/fracción fue de 839.68 ± 193.49 en el grupo T ($n = 12$), 253.36 ± 36.45 en el C ($n = 14$) y 612.62 ± 71.85 en el E ($n = 14$). Estos valores representan una reducción significativa en la liberación de ACh en el grupo C de 69.87% ($p = 0.005$) y 58.59% ($p = 32.39034E-05$) con respecto a los grupos T y E; Mientras que entre los grupos E y T no se registraron diferencias significativas (Tabla I).

8-OH-DPAT

Después de la administración de 8-OH-DPAT (80 nM), entre los grupos T y E no hubo diferencias significativas pero, en el grupo C se registro una disminución significativa con respecto a los grupos T y E (Tabla I).

La aplicación local de 8-OH-DPAT en la CCPF en el grupo T ($n = 6$; 478.5 ± 80.72) y E ($n = 7$; 538.2 ± 85.82) no alteró significativamente la liberación de ACh en la CCPF en comparación con la liberación basal, pero en el grupo C sí se registro una disminución significativa ($n = 7$; 162.99 ± 20.33 , $p = 0.032$). Los valores representan una disminución significativa de 65.94% ($p = 0.0008$) y 69.72 % ($p = 0.0001$) en el grupo C con respecto a los grupos T y E respectivamente (Tabla I).

α -Me-5-HT

Después de la aplicación local de α -Me-5-HT (63 μ M) en la CCPF no se registraron diferencias significativas entre los diferentes grupos (Tabla I). Con respecto a la liberación basal, la aplicación de α -Me-5-HT en la CPF provocó una reducción significativa en la liberación de ACh en los grupos T ($n = 6$; 77.72 ± 22.70), C ($n = 7$; 126.89 ± 26.70) y E ($n = 7$; 64.50 ± 13.08). Dichos valores representan una

disminución en el grupo T de 90.75% ($p = 0.0004$), en el C de 49.92% ($p = 0.006$) y en el grupo E de un 89.48% ($p = 2.42928 \times 10^{-10}$) (Tabla I).

RESULTADOS DE LA LIBERACIÓN DE 5-HT Y ACh EN LA CCPE, EN RATAS CON MICRODIÁLISIS EN LIBRE MOVIMIENTO; DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TAREA DE MEMORIA DE CORTO PLAZO

LIBERACIÓN DE 5-HT

Análisis Intergrupar

Etapa Error: sólo se registraron diferencias significativas en la etapa de error en el intento numero 3, donde se registro en el grupo α -Me-5HT una liberación mayor de 5-HT con respecto al grupo E y, en el intento 5 en el cual de igual manera se detecto una mayor cantidad de 5-HT en el grupo α -Me-5H comparativamente con los grupos T y E (Tabla IIa).

Etapa Brazo largo: Con excepción del intento número 4 en donde se registro una liberación mayor de 5-HT en el grupo 8-OH-DPAT respecto al grupo T, no hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos analizados (Tabla IIa).

Etapa Meta: Solo se registraron diferencias significativas en la liberación de 5-HT entre el grupo α -Me-5HT y el grupo T y C en el intento número 1, en el cual se detecto una liberación mayor de 5-HT en el grupo α -Me-5HT (Tabla IIb).

Etapa de descanso: Durante esta etapa en el intento numero 2 y 5 se registro una mayor cantidad de 5-HT en el grupo α -Me-5HT con respecto a los grupos T, C y E, en el intento 1 y en comparación con los grupos 8-OH-DPAT, C y T en el intento 5; En tanto que en el grupo E se detecto una mayor liberación de 5-HT en el intento 3 con respecto a los grupos T y C; y en el intento 5 respecto a los grupos T y 8-OH-DPAT (Tabla IIb).

Análisis intragrupal

En el análisis intragrupal no se registraron diferencias significativas en ninguno de los grupos analizados en las diferentes etapas de estudio al comparar la liberación del primer intento contra los subsecuentes a excepción del grupo T en la etapa de descanso en donde solo se registro una mayor liberación de 5-HT en el intento 1 con respecto al intento 2 (Fig.14).

LIBERACIÓN DE ACh

Análisis Intergrupar

Etapas Error: solo se registraron diferencias significativas en el intento número 4, donde se registro en el grupo C y 8-OH-DPAT una liberación mayor de ACh con respecto al grupo T (Tabla IIIa).

Etapas Brazo largo: Con excepción del intento número 3 en donde se registro una liberación mayor de ACh en el grupo C respecto al grupo T y E, no hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos analizados (Tabla IIIa).

Etapas Meta: Solo se registraron diferencias significativas en la liberación de ACh entre el grupo C y el grupo 8-OH-DPAT y E en el intento número 4, en el cual se detecto una liberación mayor de 5-HT en el grupo C. Por otro lado, en el intento 5 se detecto una mayor liberación de ACh el grupo E comparativamente con los grupos T y 8-OH-DPAT (Tabla IIIb).

Etapas de descanso: Durante esta etapa en el intento número 2 se registro una mayor cantidad de ACh en el grupo C con respecto al grupo 8-OH-DPAT; en el intento 3, con respecto a los grupos T, E, 8-OH-DPAT y α -Me-5HT; en el intento 4

con respecto al los grupos E y 8-OH-DPAT y en el intento 5 en comparación con los grupos T y 8-OH-DPAT (Tabla IIIb).

Por su parte en el intento 3 se registro una liberación mayor de ACh en el grupo T y con los grupos 8-OH-DPAT, C y T en el intento 5; En tanto que en el grupo E se detecto una mayor liberación de 5-HT en el grupo T y α -Me-5HT en el intento 3 con respecto al grupo 8-OH-DPAT.

Análisis intragrupal

En el análisis intragrupal no se registraron diferencias significativas en ninguno de los grupos analizados en las diferentes etapas de estudio al comparar la liberación de ACh del primer intento contra los subsecuentes (Fig. 14)

DISCUSIÓN:

En el presente trabajo los animales utilizados fueron hembras; en virtud de que las ratas hembras muestran una actividad mayor de la enzima que sintetiza 5-HT, una capacidad alta de almacenamiento de la misma en neuronas serotoninérgicas, así como una sensibilidad superior a la expresión de conductas asociadas a la actividad serotoninérgica (Delgado, 1989); por otro lado, y para evitar la posible influencia de los niveles hormonales en la realización de las pruebas conductuales éstas fueron realizadas entre los períodos de anestro, esto es, entre metaestro y diestro.

Con relación al estudio conductual antes del tratamiento y en la comparación intergrupar del número de errores cometidos, no se registraron diferencias significativas entre ninguno de los tres grupos. Por su parte, el análisis intragrupal reveló que los animales de los grupos E y C disminuyeron significativamente su número de errores en el 4º y 5º intentos, en tanto que los del grupo T hicieron lo propio en el 2º, 4º y 5º intentos. La baja significativa de errores en el 2º intento por parte del grupo T y el posterior aumento en el 3º, pudiera considerarse como poco relevante puesto que esto pudiera ser debido a un comportamiento azaroso por parte de los animales del grupo, dado que la disminución y el subsiguiente aumento en el número de errores cometidos sugiere que aún no habían aprendido la tarea; sin embargo, la reducción de errores en el 4º y 5º intentos -en los que permaneció constante dicha disminución- sugiere un aprendizaje sostenido. En experimentos previos realizados en nuestro laboratorio en los que se utilizó el mismo paradigma para evaluar la MCP (González-Burgos y cols., 1998), los sujetos del grupo testigo describieron una curva de aprendizaje semejante a la descrita por los animales en el presente trabajo; por lo anterior, se sugiere el establecimiento de una curva de aprendizaje normal en este paradigma conductual, en el que a partir del 4º intento los animales normales comienzan a disminuir significativamente su número de errores.

Lo anterior demuestra que se partió de una muestra homogénea y por lo tanto, que el estudio conductual fue metodológicamente confiable.

En cuanto al estudio conductual posterior al tratamiento, el análisis intergrupar mostró que no hubo diferencias entre ninguno de los tres grupos en cuanto al número de errores cometidos por los animales correspondientes a cada grupo. En el análisis intragrupal se observó que los animales del grupo E disminuyeron significativamente su número de errores a partir del 2º intento, mientras que los del grupo T lo hicieron a partir del 3º intento. Por otro lado, el análisis intragrupal antes y después del tratamiento mostró que no hubo diferencias significativas entre los tres grupos, a excepción del segundo intento en el que los animales del grupo E disminuyeron de manera significativa su número de errores. Lo anterior demuestra por un lado, que los animales del grupo lesionado aprendieron más rápido que los grupos T y C; y por otro, que el grupo E alcanzó un nivel óptimo de aprendizaje más pronto que los de los otros dos grupos puesto que a partir del segundo intento disminuyó significativamente su número de errores y se mantuvo así hasta el final de la prueba, lo cual los integrantes del grupo T lo lograron hasta el tercer intento. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos cuando se compararon intergrupalmente; los animales del grupo E al inicio de la prueba cometieron un número de errores semejante al de los grupos T y C; pero en el segundo intento, aunque los tres grupos disminuyeron su número de errores, los integrantes del grupo lesionado los disminuyó aún más que los otros dos grupos; sin embargo, esto no se reflejó estadísticamente al analizar intergrupalmente el número de errores por intento; pero al realizar el análisis intragrupal, la reducción significativa de errores en el segundo intento por parte del grupo E -comparado contra su primer ensayo-, se puso de manifiesto claramente; lo cual, no ocurrió con los otros dos grupos en los que esto se hizo evidente hasta el tercer intento.

Estos datos sugieren que los animales con lesión del NRD pudieron desarrollar mecanismos neurales plásticos que pudieron dar lugar a un aprendizaje más rápido y eficaz.

Se ha reportado que las fibras serotoninérgicas tienen un efecto inhibitor / facilitador sobre las terminales colinérgicas tanto septales como sobre aquellas procedentes del núcleo basal magnocelular aferentes al hipocampo y a la corteza cerebral frontal, respectivamente (Kostovic, 1990); ambas, regiones de las cuales se conoce su participación en la organización del aprendizaje y la memoria (Dunnett y cols., 1990; Fuster, 1993). A este respecto, se sabe que la actividad colinérgica excitadora ejerce un efecto de inhibición conductual (Ray y Nagy, 1975; Riekkinen y cols., 1990); esto es, que la actividad excitadora de la ACh se refleja conductualmente en la supresión de acciones motrices inútiles (Pazos y cols., 1985). Así, los hallazgos del presente trabajo pudieran ser el reflejo de la actividad colinérgica excitadora "submodulada", en virtud de la denervación de terminales serotoninérgicas procedentes del núcleo dorsal del complejo del rafé que, en condiciones normales, establecen conexiones presinápticas directas con terminales colinérgicas (Pazos y Palacios, 1985; Watanabe, 1996) o bien, ejercen efectos mediante mecanismos de influencia indirectos (Lamberty y Gower, 1991). De esta manera, tal supresión de conductas inútiles se traduciría en la ejecución de la tarea conductual con menor número de errores, esto es, con una mayor eficiencia, como de hecho ocurrió en el grupo E. Lo anterior, con base en que existen evidencias de que la serotonina ejerce un efecto inhibitor / facilitador sobre la transmisión colinérgica a través de sus receptores (McEntee y Crook, 1991). En este sentido, se sabe que diversos tipos de receptores a 5-HT se encuentran localizados tanto sobre terminales como sobre somas de grupos de células colinérgicas localizados en la base del cerebro anterior, en el septum medial, en la banda diagonal de Broca y en el NBM, así como en el hipocampo y la neocorteza parietal y frontal (Costall y cols., 1990; Gross-Isserof y cols., 1990; Andrade, 1992; Nyakas y cols., 1997).

Por otro lado, la aplicación de 8-OH-DPAT en la CCPF en animales con lesión del NRD revirtió el efecto provocado por la lesión en dicho núcleo ya que en el análisis intragrupal tanto los integrantes del grupo T, como los del grupo 8-OH-DPAT, disminuyeron su número de errores y el tiempo empleado para la resolución de la tarea a partir del 3º intento; en tanto que la aplicación de α -Me-5HT en la CCPF en sujetos con lesión del NRD provocó que los sujetos cometieran mas errores en menos tiempo, ya que disminuyeron su número de errores de manera significativa hasta el 4º intento pero a partir del 2º intento disminuyeron el tiempo empleado para la resolución de la tarea conductual.

Existen datos experimentales que relacionan la baja concentración de 5-HT con un aumento en la conducta impulsiva o impulsividad, Este rasgo instrumental se podría conceptualizar como la incapacidad para evitar una respuesta prematura, para retrasar la respuesta voluntaria o, para tolerar el retraso en la gratificación, esto es, el sujeto prefiere elegir una recompensa pequeña, pero esperar poco tiempo; que una recompensa que implica mayor tiempo en la espera. Experimentos al respecto indican que ratas con lesión de las vías serotoninérgicas ascendentes muestran un aumento en la impulsividad, hace a los sujetos menos tolerantes y hay una respuesta desinhibidora general (Buhot y cols., 2000). Sin embargo, no se ha determinado como la lesión serotoninérgica provoca tal comportamiento. Los resultados del presente estudio sugerirían que los animales del grupo E posiblemente respondieron impulsivamente. Sin embargo, éstos presentaron un comportamiento que les permitió esperar e indagar a la entrada de un punto ciego antes de evitar o cometer el error (datos obtenidos a partir del monitoreo por circuito cerrado de TV), además cometieron cierto número de errores antes de llegar a la meta. Lo anterior, sugiere el control de la ansiedad por llegar al reforzador. Al respecto la administración sistémica de agonistas serotoninérgicos ha mostrado un aumento en la respuesta prematura semejante a lo registrado en el presente trabajo, lo que permite suponer que la disminución parcial de 5-HT en la CCPF inducida de manera experimental

condiciona que la impulsividad interfiera en menor grado durante los procesos de aprendizaje y memoria. Por lo anterior se sugiere que los animales con denervación serotoninérgica presentan un “control inhibitor” de interferencias internas y ambientales, que podría estar favorecido por la baja concentración de 5-HT, en la inteligencia de que dicho control inhibitor esta organizado por la corteza prefrontal (Fuster, J. M. 1999) y; por otro lado, si la serotonina es particularmente activa en inhibición conductual y si su inactivación facilita la realización de pruebas difíciles entonces es posible que el papel de la serotonina en funciones cognoscitivas sea la de modular la señal de ruido en el Sistema Nervioso central que es una función crucial para la formación de los trazos de memoria (Buhot y cols., 2000). De acuerdo a los resultados obtenidos con la aplicación de los agonistas serotoninérgicos utilizados en el presente trabajo podemos constatar que la serotonina modula sutilmente y de manera distinta la actividad conductual relacionada con procesos cognoscitivos en los organismos, lo cual parece depender del tipo de receptor estimulado.

De la mayoría de los trabajos publicados emergen inconsistencias acerca del mecanismo por el cual la serotonina esta involucrada en funciones de memoria o en sus disfunciones. Esto se atribuye probablemente a la estrategia global utilizada para la aplicación de determinados fármacos; lo cual, modifica el sistema serotoninérgico de manera generalizada y su interacción con otros sistemas de neurotransmisión. Así el resultado de tal manipulación no afecta procesos de memoria específicamente sin afectar otras conductas, las cuales por si mismas están reguladas por 5-HT a través de su efecto sobre diferentes tipos de receptores (Buhot y cols., 2000).

Si las funciones de memoria son principalmente controladas por otros sistemas de neurotransmisión como el glutamatérgico y el colinérgico, entonces es claro que la serotonina actúa conjuntamente con esos transmisores (Buhot y cols., 2000) y el principal enfoque de estudio podría ser el papel que desempeñan los diferentes receptores, más que la serotonina por sí misma.

En virtud del cúmulo de evidencias que apuntan a la existencia de una relación entre la actividad serotoninérgica y colinérgica en la regulación de la actividad eléctrica cortical; así como, en el procesamiento cortical de información y, por otra parte del desconocimiento de los mecanismos reguladores de tal relación nos propusimos evaluar el efecto de la denervación serotoninérgica prefrontocortical sobre la liberación de acetilcolina cortical correlativamente a la resolución de una prueba para evaluar la memoria de corto plazo, para contribuir al conocimiento del papel funcional que la 5-HT pudiera ejercer en la organización de la memoria de corto plazo.

Actualmente, el concepto de plasticidad es importante en neurobiología; en general se refiere, a la habilidad de los sistemas neuronales para enfrentar las demandas requeridas por el organismo en el corto y largo plazo ya sea en su actividad o función (Frazer y Hensler, 1994). Uno de los procesos que contribuyen a la plasticidad neuronal es la habilidad de aumentar la cantidad de síntesis de neurotransmisor así como, su liberación en respuesta a una actividad neuronal aumentada. Se ha reportado que las células del sistema serotoninérgico cuentan con esta capacidad y; se ha observado que el requerimiento de aumentar la síntesis de 5-HT en un corto periodo de tiempo puede cambiar las propiedades cinéticas de la enzima triptofano hidroxilasa, sin necesidad de aumentar la síntesis de más moléculas de dicha enzima. En contraste, situaciones que requieren un periodo largo de síntesis y liberación de 5-HT, esto resulta de un aumento en la síntesis de mas moléculas de la enzima. Así, la destrucción parcial de células serotoninérgicas da lugar a un aumento en la síntesis de 5-HT en terminales residuales (Frazer y Hensler, 1994).

Lo anteriormente expuesto podría explicar el aumento en los niveles de 5-HT observados en el grupo C dado que, la manipulación quirúrgica en el NRD provoca una ligera pérdida neuronal en esta zona así como, daño a algunos cuerpos celulares serotoninérgicos que envían fibras hacia la CCPF como puede observarse en la foto

micrografía (Fig. 11), lo cual no sucedió en el grupo E en donde se registra una disminución significativa de los niveles de 5-HT prefrontocortical correlativamente con una pérdida masiva de cuerpos celulares de neuronas serotoninérgicas en el NRD comparado con los grupos T y C; pérdida provocada por la infusión del neurotóxico 5,7-DHT utilizado en este trabajo. Por otro lado, en el grupo C se observó que la liberación basal de ACh en la CCPF disminuyó un 69.87% respecto al grupo T y que la lesión en el NRD con 5,7-DHT en el grupo E no provocó modificaciones significativas en la liberación basal de ACh cortical respecto al grupo T. Los efectos observados podrían ocurrir a través de mecanismos directos puesto que receptores a 5-HT se encuentran localizados sobre terminales colinérgicas en la CCPF (Buhot y cols., 2000). Asimismo, los resultados del presente trabajo podrían ser debidos a la puesta en marcha de mecanismos plásticos indirectos; esto es, mediante la activación de algunos receptores específicos a 5-HT localizados sobre otras terminales diferentes a las colinérgicas. Dado que, diversos datos involucran al sistema serotoninérgico en la modulación fisiológica de otros sistemas de neurotransmisión (Consolo y cols., 1996; Fuerstein y cols., 1996; Giovannini y cols., 1998; Buhot y cols., 2000) tales como el glutamatérgico (Giovannini y cols., 1998; Buhot y cols., 2000), el dopaminérgico (Consolo y cols., 1996; Giovannini y cols., 1998; Buhot y cols., 2000), GABAérgico (Buhot y cols., 2000) entre otros. Se sabe que heteroreceptores 5-HT_{1B} se encuentran localizados sobre la superficie de interneuronas GABAérgicas en la corteza frontal (CF) e indirectamente facilitan la liberación de ACh en esta región cortical (Buhot y cols., 2000). Por otro lado, se sabe que receptores del tipo 5-HT₂ ejercen una influencia directa sobre células piramidales de la CF (Buhot y cols., 2000) y sobre aquellos localizados en la vía NBM-CF en donde su estimulación facilita la liberación colinérgica en la CF (Buhot y cols., 2000). Así, pudiera ser que mediante un fenómeno de plasticidad transináptica los niveles de 5-HT liberados por las terminales correspondientes en los diferentes grupos tuviesen repercusiones funcionales en las neuronas ulteriores de los circuitos implicados y de esta manera, inducir alteraciones

en la liberación de ACh prefrontocortical. Lo anteriormente expuesto podría ser uno de los mecanismos por los que la liberación de ACh no se vió modificada en el grupo E. Así, conjuntamente con lo anterior los datos obtenidos en el presente trabajo demuestran que el sistema serotoninérgico ejerce un efecto modulador sobre el sistema colinérgico al nivel de la CCPF y su efecto parece depender de los niveles circulantes de los mismos.

Se sabe que los receptores serotoninérgicos se presentan en elevadas concentraciones en áreas cerebrales involucradas con el aprendizaje y la memoria como el hipocampo, la amígdala, el cuerpo estriado y la corteza cerebral. Particularmente en la CCPF se encuentran concentraciones elevadas de receptores 5-HT_{1A} / 1D, 5-HT_{2A} / 2B / 2C, y 5-HT₆ (Pazos y cols., 1985; Andrade y Chaput, 1991^a; Andrade, 1992).

Los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} se encuentran presentes en concentraciones elevadas en diferentes zonas de la neocorteza y particularmente en región anterior; lo cual sugiere que estos receptores se encuentren involucrados en funciones cognoscitivas o integrativas a nivel cortico-frontal (Frazer y Hensler, 1994). Se ha comunicado que ambos tipos de receptores se encuentran localizados post-sinápticamente en esta región cerebral dado que la destrucción de fibras serotoninérgicas a la CF con 5,7-DHT no disminuye el número de estos sitios de unión (Frazer y Hensler, 1994). Particularmente referidos a los receptores 5-HT_{1A} los trabajos hasta ahora publicados tanto conductuales como neuroquímicos del efecto de agonistas y antagonistas a dichos receptores sobre procesos cognoscitivos y sobre la liberación de ACh reportan datos contradictorios (Herremans y cols., 1995; Warburton y cols., 1997; Buhot y cols., 2000); lo cual parece depender de la vía de administración, dosis aplicada, prueba utilizada y región cerebral analizada. En el presente trabajo la aplicación de 80 nM de 8-OH-DPAT no produjo cambios significativos, excepto en el grupo C en donde se observó una disminución significativa en la liberación de ACh respecto al grupo T y E. Por otro lado, la

aplicación de 63 μ M de α -Me-5-HT en la CCPF provocó una disminución significativa en la liberación de ACh cortical en todos los grupos analizados respecto a su liberación basal. En relación con lo anterior posiblemente el efecto del α -Me-5-HT sea el resultado de una hipersensibilidad por denervación de sus respectivos receptores ya que se ha reportado que la disminución en la exposición de un tejido a su transmisor endógeno da lugar a una hipersensibilidad, o respuesta exagerada de los receptores a su agonista exógeno lo cual podría ser resultado de un aumento en la densidad de sus receptores postsinápticos o bien por una sobre activación de los mismos (Frazer y Hensler, 1994). Por otro lado, la aplicación de 80 nM de 8-OH-DPAT en la CCPF no produjo cambios significativos en ninguno de los grupos, excepto en el grupo C en donde se observó una disminución significativa en la liberación de ACh respecto al grupo T y E grupos en los que se puede apreciar una leve disminución de los niveles de ACh después de la aplicación del agonista serotoninérgico antes mencionado; pero dicha disminución no llega a ser significativa respecto a la liberación basal. En trabajos publicados con anterioridad en los que se utiliza el agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT han reportado efectos diferentes sobre la liberación de ACh, lo cual parece depender de la región cerebral analizada, la vía de administración; así como, de la dosis administrada que generalmente oscila de 10 μ M a 300 μ M cuando es aplicada localmente mediante el uso de micro diálisis (Winter y Petti, 1987; Wilkinson y cols., 1994). Posiblemente con la administración de dosis mayores el efecto antes mencionado se vería más acentuado bajo el mismo esquema experimental. Por otro lado, se sabe que la respuesta funcional de una región cerebral determinada a la acción parcial de un agonista puede diferir de acuerdo a la tasa de recambio de sus respectivos receptores; así, ante la aplicación de un agonista parcial la respuesta funcional de una región cerebral con una proporción alta de recambio de receptores puede producir una respuesta máxima igual a la que produciría la aplicación de un agonista total, mientras que la respuesta funcional de una zona con bajo recambio de receptores, el agonista parcial puede actuar como un

antagonista (Wilkinson y cols., 1994). Así, sobre la base de los resultados obtenidos, el presente trabajo demuestra que la 5-HT modula directamente la liberación de ACh al nivel de la CCPF mediante la importante participación de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}.

En el presente trabajo la aplicación local en la CCPF del agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT revirtió los efectos conductuales provocados por la lesión del NRD. En cuanto a la aplicación del α -Me-5-HT agonista al receptor 5-HT_{2A} se observa que los sujetos realizaron en menor tiempo la tarea conductual ya que a partir del 2º intento disminuyeron de manera significativa el tiempo empleado para la resolución de la tarea conductual; sin embargo, el número de errores lo disminuyeron a partir del 4º intento, quizás la aplicación del agonista al receptor 5-HT_{2A} provoca que los sujetos sean más impulsivos al momento de explorar un ambiente novedoso; sin embargo, esta impulsividad no los hace más eficientes (en cuanto a cometer menos errores) para resolver la tarea conductual. Cabe mencionar que debido a la falta de agonistas selectivos para diferenciar entre los diferentes miembros de la familia de receptores 5-HT₂, muchas de las correlaciones funcionales y clínicas de los receptores 5-HT_{2A} quizás involucren o sean también atribuidas a los receptores 5-HT_{2C} (Buhot y cols., 2000). En base a lo anterior, en el presente trabajo se utilizaron los agonistas serotoninérgicos 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT (éste último recientemente sintetizado) con afinidad alta a los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} respectivamente y la dosis administrada localmente en la CCPF vía diálisis se calculó en base a la constante de inhibición (pK_i) de los agonistas a su receptor (Kennet, 2000). Por otro lado, cabe mencionar que en los trabajos hasta la fecha publicados en los que se mide la liberación de ACh cerebral mediante el uso de microdiálisis generalmente se aplica en el medio de perfusión, inhibidores de la acetilcolinesterasa tales como la physostigmine, neostigmine y heptylphysostigmine lo que provoca un aumento dosis dependiente en la liberación de ACh cerebral; así como, de otros neurotransmisores como la norepinefrina y la dopamina entre otros (Cuadra y cols.,

1994; Giovannini y cols., 1998). Así, con la finalidad de evitar posibles modificaciones en la liberación de los diferentes neurotransmisores incluidos 5-HT y ACh; la aplicación de physostigmine fue administrada a través de un "by pass" conectado directamente a la salida de la cánula de diálisis.

Se sabe que la liberación de 5-HT en la corteza prefrontal (CPF) en general, ejerce un efecto inhibitor sobre las neuronas localizadas en esta región cerebral; esto debido a que la 5-HT induce potenciales sinápticos inhibidores mediante la excitación de interneuronas GABAérgicas (Marek y Aghajanian., 1998); y produce su acción mediante la activación de sus numerosos receptores (Steketee, 2003). Así, mientras que la 5-HT de manera general es un neurotransmisor inhibitor en la CC PF, receptores específicos a ella quizás producen diferentes efectos (Steketee, 2003). Con relación a esto, se ha reportado que la 5-HT produce despolarización en neuronas corticales, probablemente debido a una disminución en la conductancia de K^+ ; y este efecto es bloqueado por la aplicación de ritanserina y cinancerina antagonistas a los receptores 5-HT₂ y por otro lado la hiperpolarización de las neuronas asociada con un aumento en la conductancia se observó después de la aplicación de antagonistas a receptores 5-HT₂ y por la aplicación selectiva de 8-OH-DPAT agonista al receptor 5-HT_{1A}. En base a lo anterior se infiere que las neuronas piramidales corticales contienen por lo menos dos tipos de receptores a 5-HT (5-HT_{1A} y 5-HT₂) cuya activación produce efectos opuestos sobre el potencial y conductancia de membrana (Frances Davies y cols., 1987). En general la activación del receptor 5-HT_{2A} potencia la transmisión glutamatérgica de neuronas piramidales: 1) facilita la liberación de glutamato de aferentes glutamatérgicas y 2) atenúa las corrientes producidas en neuronas piramidales por GABA_A. Por otro lado, los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} han sido localizados sobre neuronas piramidales de la CC PF (Jakab y cols., 1998; Steketee, 2003). En contraste a lo que sucede con la activación de los receptores 5-HT_{2A} en la CC PF, la activación de los receptores 5-HT_{1A} inhibe la actividad glutamatérgica cortical (Steketee, 2003). Antagonistas al receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} (BMY 7378)

inducen la activación de células piramidales y la aplicación del agonista 8-OH-DPAT mimetiza el efecto inhibitorio de la 5-HT sobre las células piramidales (Steketee, 2003). Así, la 5-HT puede facilitar la transmisión excitadora por medio de la activación de los receptores 5-HT_{2A} localizados sobre aferentes glutamatérgicas a la CCPF y puede inhibir la transmisión excitadora por medio de la activación de los receptores 5-HT_{1A} localizados sobre neuronas piramidales; estos efectos quizás se vean reflejados conductualmente en lo observado en los sujetos a los que se les aplico el agonista al receptor 5-HT_{2A} los cuales muestran una mayor actividad motora y; lo observado con los sujetos a los que se les aplica el 8-OH-DPAT en los que se observa una mayor inhibición conductual durante la resolución del laberinto.

En diversas regiones corticales y de manera predominante en la CCPF se ha registrado una densidad alta de receptores 5-HT_{2A} y se ha reportado que prácticamente todas las células piramidales exhiben este tipo de receptores; así, se encuentra una concentración mayor de este tipo de receptores en las capas III y V (Jakab y Goldman-Rakik, 1998) debido a que estas capas contienen gran cantidad de células piramidales; así como, de dendritas apicales de las mismas. Se sabe que la concentración del receptor y del ligando en determinada región determinan la efectividad fisiológica de dicha interacción (Jakab y Goldman-Rakik, 1998) en este sentido es importante remarcar que la concentración de 5-HT además parece ser alta en dicha zona del micro ambiente cortical, ya que una densa banda de receptores 5-HT₂ localizados sobre la capa V coincide con un espeso plexus de axones serotoninérgicos (Blue y cols., 1988; Mamounas y cols., 1991). Se ha postulado que receptores 5HT_{2A} acumulados en el segmento denominado como "cuello de botella" de la dendrita apical de las células piramidales, desempeñan un papel estratégico en el control de disparo de la corriente dendrítica que pasa a través de la dendrita apical y alcanza el soma. La manipulación de canales iónicos a lo largo de la dendrita apical de la célula piramidal puede provocar la amplificación o el disparo del flujo de información (Jakab y Goldman-Rakik, 1998), y la localización de los receptores 5-

HT_{2A} es estratégica en la modulación de esos canales iónicos. Por otro lado, se ha sugerido que este mecanismo de disparo en la dendrita apical juega un papel importante en la memoria de trabajo la cual refleja la capacidad de las neuronas en cortezas de asociación para guardar información "en línea"; lo cual está asociado con el procesamiento temporal de información (Funahashi y Kubota., 1994; Jakab y Goldman-Rakic, 1998). El árbol dendrítico de las células piramidales recibe aferencias intrínsecas y sensoriales en toda su extensión pero, probablemente en parte debido al mecanismo de disparo de los canales iónicos de la dendrita apical, solo una fracción de esos estímulos alcanza el soma y resulta el disparo celular durante la realización de una conducta normal. Parece ser que la activación de un pequeño número de receptores 5-HT_{2A} favorece la realización de tareas que requieren de la memoria de trabajo debido a que algunos agonistas aumentan la actividad en direcciones preferentes y disminuyen la actividad de una dirección no preferente en células piramidales de monos durante la realización de una tarea de aprendizaje espacial (Jakab y Goldman-Rakic, 1998). Sin embargo, la activación excesiva de estos receptores quizás provoque un deterioro puesto que agonistas a este receptor alteran la respuesta de inhibición latente en ratas (Jakab y Goldman-Rakic, 1998). Estudios previos realizados en nuestro laboratorio mostraron que la administración crónica de una dieta restringida en triptófano (precursor de la 5-HT) a ratas deteriora la realización de pruebas de aprendizaje espacial (Olvera-Cortés y cols., 1998) y correlativamente con ello se observó una disminución significativa en el número de espinas dendríticas en neuronas piramidales del campo CA1 del hipocampo, región cerebral que se sabe participa de manera importante en la organización de dicha cualidad psiconeural (Pérez-Vega y cols., 1998). Sin embargo, en animales sometidos al mismo esquema de restricción de triptófano en la dieta; así como, en animales con lesión del NRD con 5,7-DHT (selectiva a neuronas serotoninérgicas que envían fibras a la CC PF) el desempeño de una tarea que requería de los animales la evocación de información adquirida en el corto plazo fue más eficiente (Pérez-Vega y cols., 1998,

2000) correlativamente con modificaciones importantes en la cito arquitectura neuronal de las células piramidales de la III^a capa de la CCPF (González-Burgos y cols., 1996; Pérez-Vega y cols., 2000). Lo anteriormente expuesto conjuntamente con los datos obtenidos en el presente trabajo; demuestran la importante participación del sistema serotoninérgico en la modulación de procesos cognoscitivos a través de la activación de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} mediante la modulación de la liberación de ACh cortical.

Sin embargo, cabe mencionar que no hay una correlación directa de un aumento de 5-HT y una disminución de ACh y viceversa en los diferentes grupos; por lo que posiblemente la serotonina ejerce un efecto modulador en la liberación de ACh y; su efecto dependa del tipo de receptor estimulado, ya sea para generar un efecto inhibitorio o estimulador en la liberación de ACh con una tendencia a alcanzar los niveles normales a través de la activación de diferentes sistemas de transmisión ya que se ha reportado que la activación de receptores posinápticos 5-HT_{1A} estimula la liberación de dopamina, la cual actúa sobre receptores D₁ que a su vez, estimula la liberación de ACh (Consolo y cols., 1996) y; que interneuronas hipocámpicas expresan receptores 5-HT₂ los cuales, al ser activados, facilitan la liberación de sustancia P y que ésta a su vez, estimula la liberación de ACh a través de los receptores NK1 presentes en terminales colinérgicas (Fuerstein y cols., 1996). Así diversos datos involucran al sistema serotoninérgico en la fisiología de otros sistemas de neurotransmisión. Por lo que posiblemente la mayor eficiencia en la realización de la segunda prueba conductual por parte de los animales lesionados sea el resultado de un des-balance entre diversos sistemas de neurotransmisión que confluyen en la CCPF (Richter-Levin y cols., 1991, 1993, 1995) y; los efectos observados en los diferentes grupos no sean únicamente con relación a cambios en la liberación de ACh y 5-HT sino generados quizás por modificaciones en la liberación de otros sistemas involucrados en dichos procesos cognoscitivos como el dopaminérgico glutamatérgico y GABAérgico. Trabajos publicados recientemente sugieren que la 5-

HT estimula la liberación de dopamina vía receptores 5-HT_{1A} ya que la administración sistémica de MKC-242 o 8-OH-DPAT agonistas al receptor 5-HT_{1A} aumentan la concentración de dopamina extracelular en la CCPF (Steketee, 2003) y la infusión de WAY100636 antagonistas a este receptor bloquean el efecto del agonista MKC-242. Estos efectos ocurren después del tratamiento con 5,7-DPAT (neurotoxina a 5-HT), lo que sugiere que la acción de los agonistas es a través de receptores localizados post-sinápticamente (Steketee, 2003). Por otro lado, se ha reportado que la infusión de M100,907 antagonista al receptor 5-HT_{2A} puede aumentar y disminuir los niveles de dopamina (Steketee, 2003). La razón de esas diferencias aun no es clara. Se ha sugerido que la activación del receptor 5-HT_{2A}, modula más que inhibir o estimular la transmisión dopaminérgica; así pues, quizás el efecto de la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} localizados sobre interneuronas o neuronas glutamatérgicas, sobre la transmisión de la dopamina depende del grado de activación tanto de los sistemas de neurotransmisión inhibidores como excitadores. Por lo que el análisis del efecto de la denervación serotoninérgica sobre los sistemas antes mencionados ayudaría a explicar con mayor claridad los efectos observados; así como, la evaluación del efecto postsináptico después de la lesión del NRD sobre la concentración, cinética y ubicación de ambos tipos de receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en la CCPF, podría ayudar a dilucidar el mecanismo mediante el cual la 5-HT ejerce su acción en el ámbito de la CCPF.

Con base a lo anterior y específicamente referidos al efecto encontrado en el presente trabajo con la manipulación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} se propone que la 5-HT produce dos efectos conductuales contrarios lo cual depende del tipo de receptor estimulado y; por otro lado, que la participación conjunta de ambos receptores en la organización de la memoria de corto plazo es importante para una manifestación conductual adecuada.

El desarrollo de herramientas más específicas tanto de farmacología y biología molecular podrían contribuir a un mejor entendimiento de las funciones de

los diferentes tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos en sitios anatómicos específicos que sean de particular importancia en desordenes neuropsiquiátricos como la depresión y ansiedad, así como en procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer.

CONCLUSIONES PARTICULARES

La denervación serotoninérgica prefrontocortical provocó una mayor eficiencia en la resolución de la tarea de aprendizaje y memoria de corto plazo.

El sistema serotoninérgico ejerce un efecto modulador sobre la actividad del sistema colinérgico al nivel de la CCPF.

La aplicación local de 8-OH-DPAT (80 nM) -agonista al receptor 5-HT_{1A}- revirtió los efectos conductuales observados por la lesión del NRD.

La aplicación de α -Me-5-HT (63 μ M) -agonista al receptor 5-HT_{2A}- provoca que los sujetos con lesión del NRD resuelvan en menor tiempo la tarea conductual utilizada para evaluar la memoria de corto plazo (sean más activos durante la resolución de la tarea); pero requieran de mas intentos para aprender la trayectoria correcta.

CONCLUSIÓN GENERAL

La transmisión serotoninérgica procedente del núcleo dorsal del rapé aferente a la corteza cerebral prefrontal modula la expresión conductual de la memoria de corto plazo y; asimismo ejerce un efecto modulador sobre la liberación de acetilcolina prefrontocortical a través de la participación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} durante la realización de pruebas de memoria de corto plazo, en la rata.

REFERENCIAS

- 1) Aghajanian, G. K., & Marek, G. J. (1994) Serotonin-activated cortical interneurons: physiology and pharmacology. 5-HT Third IVPHAR satellite meeting on serotonin. July 30-August 3. Chicago, IL. pp.47.
- 2) Alcaraz, V. M. & Gumá-Díaz, E. (2001). Texto de Neurociencias cognitivas. Manual Moderno, Instituto de Neurociencias (U d G) y Facultad de Psicología (UNAM) México, D. F.
- 3) Altman, H. J., & Normile, H. J. (1988). What is the nature of the role of serotonergic nervous system in learning and memory: prospect for development of an effective treatment strategy for senile dementia. *Neurobiol. Aging*. 9:627-38.
- 4) Andrade, R. (1992). Electrophysiology of 5-HT_{1A} receptors in the rat hippocampus and cortex drug. *Dev. Brain Res.* 26:275-86.
- 5) Andrade, R. & Chaput, Y. (1991a). 5-hydroxytryptamine₄-like receptors mediate the slow excitatory response to serotonin in the rat hippocampus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257:930-7.
- 6) Ardila, A. & Moreno-Benavides, C. (1982). Aspectos biológicos de la memoria y el aprendizaje. México: Trillas Ediciones.
- 7) Ashby, C. R., Edwards, E. & Wang, R. (1994). Electrophysiological evidence for a functional interaction between 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in the rat medial prefrontal cortex. An iontophoretic study. *Synapse*. 17:173-81.
- 8) Bianchi, C., Siniscalchini, A., & Bean, L. (1991). 5-HT_{1A} agonists increase and 5-HT₃ agonists decrease acetylcholine efflux from the cerebral cortex of freely-moving guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.* 101:448-52.
- 9) Blue, M. E., Yagaloff, K. A., Mamounas, L. A., Harting, P. R., & Molliver, M. E. (1998). Correspondence between 5-HT₂ receptors and serotonergic axons in rat neocortex. *Brain Res.* 453:315-28.

- 10) Boeijinga, P. H., Meigel, I., Limonta, S. & Boddeke, H. W. G. M. (1994). Different effects of 5-HT_{1B} receptors on slow and fast synaptic activation in rat subicular cortex. 5-HT Third IUPHAR Satellite Meeting on Serotonin. July 30- August 3. Chicago, IL. pp.155.
- 11) Bowen, D. W., Francis, P. T., Pangalos, M. N., Stephens, P. H., & Procter, A. W. (1992). Treatment strategies for Alzheimer's disease. *The Lancet*. 339:132-3.
- 12) Buhot, M. C., Martin, S. & Segu, L. (2000). Role of serotonin memory impairment. *Ann. Med.* 32(3):210-21.
- 13) Carli, M. & Samanin, R. (1992). 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin impairs spatial learning in a water maze: role of postsynaptic 5-HT_{1A}. *Br. J. Pharmacol.* 105:720-26.
- 14) Carli, M., Luschi, R., Garafalo, P. & Samanin, R. (1995). 8-OH-DPAT impairs spatial but not visual learning in a water maze: role of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors in the hippocampus. *Behav. Brain Res.* 67:67-74.
- 15) Carlson, S., Tanila, H., Pertovaara, A. & Lähteenmäki, A. (1990). Vertical and horizontal coding of space in the monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Res.* 527:145-9.
- 16) Consolo, S., Ramponi, S., Ladinsky, H. & Baldi, G. (1996). A critical role for D1 receptors in the 5-HT_{1A} mediated facilitation of in vivo acetylcholine release in rat frontal cortex. *Brain Res.* 707:320-3.
- 17) Costall, B., Barnes, J. M., Hammon, M., Muller, W. E. & Briley, M. (1990). Biochemical models for cognition enhancers. *Pharmacopsychiatry*. Feb 23, suppl. 2:88-9.
- 18) Cuadra, G; Summers, K. & Giacobini, E. (1994). Cholinesterase inhibitor effects on neurotransmitters in rat cortex *in vivo*¹. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270:277-83.
- 19) Davies, M. F., Deisz, R. A., Prince, D. A. & Peroutka, S. J. (1987). Two distinct effects of 5-hydroxytryptamine on single cortical neurones. *Brain Res.* 423:347-352.

- 20) Deacon, R. M. J. (1991). Pharmacological studies of a rat delayed non-match task as an animal model of dementia. *Drug. Dev. Res.* 24:67-79.
- 21) Dekker, A. J. & Thal, L. J. (1993). Independent effect of cholinergic and serotonergic lesions on acetylcholine and serotonin release in the neocortex of the rat. *J. Neurochem. Res.* 18:277-83.
- 22) Delgado, P. L., Charney, D. S., Price, L. H., Landis, H. & Heninger, G. R. (1989). Neuroendocrine and behavioural effects of dietary tryptophan restriction in healthy subjects. *Life Sci.* 45:2323-2332.
- 23) Doyere, V., Burette, F., Negro, Cr. & Laroche, S. (1993). Long Term potentiation of hippocampal afferents and efferents to prefrontal cortex: Implications for associative learning. *Neuropsychology.* 10:1031-53.
- 24) Dunnett, S. B., Wareham, A. T. & Torres, E. M. (1990). Cholinergic blockade in prefrontal cortex and hippocampus disrupts short-term memory in rats. *Neuroreport.* 1:61-4.
- 25) Eglen, R. M., Wong, E. H., Dumuis, A. & Bockaert, J. (1995). Central 5-HT₄ receptors. *TIPS.* 16:391-8.
- 26) Feuerstein, T. J., Gleichauf, O. & Landwehrmeyer, G. B. (1996). Modulation of cortical acetylcholine release by serotonin the role of substance P interneurons. *Arch. Pharmacol.* 354:618-26.
- 27) Frazer, A. & Hensler, J. G. (1994). *Basic neurochemistry.* New York. Raven press.
- 28) Funahashi, S. & Kubota, K. (1994). Working memory and prefrontal cortex. *Neurosci. Res.* 21:1-11.
- 29) Fuster, M. J. (1991). The prefrontal cortex and its relation to behaviour. *Prog. Brain Res.* 87:201-11.
- 30) Fuster, M. J. (1993). Frontal lobes. *Curr. Op. Neurobiol.* 3:160-5.
- 31) Gellman, R. L. & Aghajanian, G. K. (1994). Serotonin 2 receptors mediated excitation of interneurons in piriform cortex: antagonism by atypical antipsychotic drug. *Neuroscience.* 58:515-25.

- 32) Giovannini, M. G., Cecarelli, I., Molinari, B., Goldfarb, J. & Blandina, P. (1998). Serotonergic modulation of acetylcholine release from cortex of freely moving rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 285(3):219-25.
- 33) González-Burgos, I., Pérez-Vega, M. I., Del Angel-Meza, A. R. & Feria-Velasco, A. (1998). Effect of tryptophan restriction on short-term memory. *Physiol. Behav.* 63:165-9.
- 34) Granon, S., Vidal, C., Thinus-Blanc, C., Changeux, J. P. & Poucet B. (1994). Working memory, response selection, and effortful processing in rats with medial prefrontal lesions. *Behav. Neurosci.* 108:883-91.
- 35) Gross-Isseroff, R., Salama, D., Israeli, M. & Biegon, A. (1990). Autoradiographic analysis of age- dependent changes in serotonin 5-HT₂ receptors of the human brain postmortem. *Brain Res.* 519:223-7.
- 36) Hamon, M., Bougoin, S., Gozlan, H., Hall, M. D., Goetz, S., Artaud, F. & Hoern, A. S. (1984). Biochemical evidence for the 5-HT agonist of PAT (8-hydroxy-2-di-N-propilamino)-tetralin in the rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 100:263-70.
- 37) Harvey, J. A. (1994). Serotonergic function in cognition. 5-HT Third IUPHAR Satellite meeting on serotonin. July 30- August 3. Chicago, IL., pp. 8.
- 38) Herremans, A. H. J., Hijzan, J. H., Oliver, B. & Slangen, J. L. (1995). Serotonergic drugs effects on a delay conditional discrimination task in the rat: involvement of the 5-HT_{1A} receptors in working memory. *J. Psychopharmacol.* 9:242-50.
- 39) House, E. L., Pansky, B. & Siegel, A. (1982). *Neurociencias. Enfoque sistemático.* México: McGraw Hill Ediciones.
- 40) Hoyer, D., Harting, P. R. & Humphre, P. P. A. (1994). International union of pharmacology classification for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol. Rev.* 347:157-203.

- 41) Jakab, R.L. & Goldman-Rakik, P.S. (1998). 5-Hydroxytryptamine_{2A} serotonin receptors in the primate cerebral cortex: Possible site of action of hallucinogenic and antipsychotic drugs in pyramidal cell apical dendrites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95:735-40.
- 42) Kametani, H., Spangler, E. L., Bresnahan, E. L., Kobayashi, S., Long, J. M. & Ingram, D. K. (1993). Impaired acquisition in a 14-unit T-maze following medial septal lesions in rats is correlated with lesions size and hippocampal acetylcholinesterase staining. *Physiol. Behav.* 53:221-28.
- 43) Kandel, E. R. & Hawkins, R. D. (1992). The biological basis of learning and individuality. *Sci. Am.* September : 53-60.
- 44) Kennett, G. A. (2000). Serotonin receptors and their function. *TOCRIS*.
- 45) Klein, S. B. (1994). *Aprendizaje. Principios y aplicaciones*. México: McGraw Hill Ediciones.
- 46) Klingberg, T., Kawashima, R. & Roland, P. E. (1996). Activation of multi-modal cortical areas underlies short-term memory. *Eur. J. Neurosci.* 8:1965-71.
- 47) Kostovic, I. (1990). Structural and histochemical reorganisation of the human prefrontal cortex during perinatal and postnatal life. *Prog. Brain. Res.* 85:223-40.
- 48) Lamberty, Y. & Gower, A. J. (1991). Cholinergic modulation of spatial learning in mice in a Morris-type water maze. *Arch. Pharm. Ther.* 309 : 5-19.
- 49) LeDoux, P. (1993). Emotional memory: in search of systems and synapses. *Brain mechanism. Annals New York Academy Sci.* 17 : 149-57.
- 50) Mamounas, L. A., Mullen, C. A., O'Hearn, E. & Molliver, M. E. (1991). Dual serotonergic projections to forebrain in the rat: Morphologically distinct 5-HT axons terminals exhibit differential vulnerability to neurotoxic amphetamine derivatives. *J. Comp. Neurol.* 314 : 558-86.
- 51) Marek, G. J. & Aghajanian, G. K. (1998). The electrophysiology of prefrontal serotonin systems: Therapeutic Implications for mood and Psicosis. *Soc. Biol. Psych.* 44 : 1118-1127.

- 52) McDonald, R. J. & White, N. M. (1993). A triple Dissociation of memory systems: hippocampus, amigdala, and dorsal striatum. *Behav. Neurosci.* 107:3-22.
- 53) McEntee, W. J. & Crook, T. H. (1991). Serotonin, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology.* 103:143-9.
- 54) Merani, A. L. (1964). *Psicobiología*. México: Grijalbo Ediciones.
- 55) Mokler, D. J., Dixon, M. & Stambaugh, L. (1994). Electrical stimulation of the raphe nucleus as a discriminative stimulus: generalisation to (+/-)- DOI. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48:1041-5.
- 56) Mrzljak, L., Harry, B. M., Uylings, G., Cobert, G., Eden, V. & Judá's, M. (1990). Neuronal development in human prefrontal cortex in prenatal and postnatal stages. *Prog. Brain Res.* 85:185-222.
- 57) Murtha, S. J. E. & Pappas, B. A. (1994). Neurochemical, histopathological and mnemonic effects of combined lesions of the medial septal y serotonin afferent to hippocampus. *Brain Res.* 651:16-26.
- 58) Nabeshima, T. K., Itoh, K., Kawashima, K. & Kameyama, T. (1989). Effects of 5-HT₂ receptor antagonist on cicloheximide- induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem. Behav.* 32: 787-90.
- 59) Nezelof, C., Galle, P. & Hinglais, N. (1975). *Exámenes de laboratorio (Técnicas microscópicas)*. España: JIMS Ediciones.
- 60) Noback, Ch. & Demarest, R. J. (1975). *The human nervous system. Basic principles of neurobiology*. USA: McGraw Hill Ediciones.
- 61) Noda, Y., Ochi, Y., Shimada, E. y Oka, M. (1991). Involvement of central cholinergic mechanism in RU- 24969- induced behavioural deficits. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 38:441-46.
- 62) Nyakas, C., Oosterink, B. J., Keijser, J., Felzaghj, K., De Jong, G. L., Korf, J. & Luiten, P. J. (1997). Selective decline of 5-HT_{1A} receptor binding sites in rat cortex, hippocampus and cholinergic basal forebrain nuclei during aging. *J. Chem. Neuroanat.* 13:53-61.

- 63) O'hearn, E. & Molliver, M. E. (1984). Organisation of raphe-cortical projections in rat: a quantitative retrograde study. *Brain Res. Bull.* 13:709-26.
- 64) Parnavelas, J. G. (1990). Neurotransmitters in the cerebral cortex. *Prog. Brain Res.* 85:223-40.
- 65) Paxinos, G. & Watson, Ch. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. USA: Academic Press, Inc.
- 66) Pazos, A. & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain I: Serotonin-1 receptors. *Brain Res.* 346:205-30.
- 67) Pazos, A., Cortés, R. & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res.* 346:231-49.
- 68) Pérez-Vega, M. I., Feria-Velasco, A. & González-Burgos, I. (2000). Prefrontocortical serotonin depletion results in plastic changes of prefrontocortical pyramidal neurons, underlying a greater efficiency of short-term memory. *Brain Res. Bull.* 53(3)291-3000.
- 69) Peroutka, S.J. & Snyder, S.H. (1981). Two distinct serotonin receptors: regional variations in receptor binding in mammalian brain. *Brain Res.*, 208, 339-347.
- 70) Prado-Alcalá, R. & Quirarte, G. L. (1995). Un modelo de memoria de largo plazo. *Temas selectos de neurociencias.* México.
- 71) Quirion, R., Richard, J. & Dam, T. V. (1985). Evidence for the existence of serotonin type-2 receptors on cholinergic terminals in rat cortex. *Brain Res.* 333:345-9.
- 72) Ray, D. & Nagy, Z. M. (1978). Emerging cholinergic mechanism and ontogeny of response inhibition in the mouse. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92:335-49.
- 73) Richter-Levin, G., Greenberger, V. & Segal, M. (1993). Regional specificity of raphe graft-induced recovery of behavioural functions impaired by serotonergic / cholinergic lesions. *Exp. Neurol.* 121:221-28.
- 74) Richter-Levin, G. & Segal, M. (1991). The effects of serotonin depletion and raphe grafts on hippocampal electrophysiology and behaviour. *J. Neurosci.* 11:1585-96.

- 75) Richter-Levin, G., Canevari, L. & Bliss, T. V. P. (1995). Long-term potentiation and glutamate release in the dentate gyrus: links to spatial learning. *Behav. Brain Res.* 66:37-40.
- 76) Ridley, R. M., Samson, N. A., Baker, H. F. & Johnson, J. A. (1988). Visuospatial learning impairments following lesion of the cholinergic projection to the hippocampus. *Brain Res.* 456:71-87.
- 77) Riekkinen, P. Jr., Sirvio, J. & Riekkinen, P. (1990). Interaction between raphe dorsalis and nucleus basalis magnocellularis in spatial learning. *Brain Res.* 527:342-45.
- 78) Riekkinen, P. Jr., Sirvio, J., Valjakka, A., Miettinen, R. & Riekkinen, P. (1991). Pharmacological consequences of cholinergic plus serotonergic manipulations. *Brain Res.* 552:23-6.
- 79) Robinson, S. E. (1983). Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus, cortex and striatum. *Life Sci.* 32:345-353.
- 80) Sakurai, Y. & Wenk, G. L. (1990). The interaction of acetylcholinergic and serotonergic neural systems on performance in a continuous non-matching to sample task. *Brain Res.* 519:118-21.
- 81) Steketee, J. D. (2003). Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitisation to psychostimulants. *Brain Res. Rev.* 41 : 203-228.
- 82) Sirviö, J., Riekkinen, P. Jr., Jäkälä, P. & Riekkinen, P. J. (1994). Experimental studies on the role of serotonin in cognition. *Progress. Neurobiol.* 43:363-79.
- 83) Smith, R. L., Barrett, R. J., Grotewil, M. S. & Sanders- Bush, E. (1994). Behavioural evidence for functionally distinct classes of serotonin 5-HT_{2A} antagonist. 5-HT Third IUPHAR Satellite Meeting on serotonin. July 30- August 3, Chicago, IL., pp. 71.
- 84) Somjen, E. (1986). *Neurofisiología*. México: Panamericana Ediciones.
- 85) Squire, L. R. (1986). Mechanisms of memory. *Science.* 232:1612-18.
- 86) Squire, L. R. (1987). *Memory and brain*. NY. Oxford University Press.

- 87) Stevens, Ch. F. (1993). Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. *Cell*. 72 (10 suppl.):55-63.
- 88) Thompson, R. F. (1975). *Introducción a la psicología fisiológica*. México: Harla Ediciones.
- 89) Thompson, R. F. (1984). *Fundamentos de psicología fisiológica*. México: Trillas Ediciones.
- 90) Toveé, M. J. & Cohen-Toveé, E. M. (1996). Working Memory: Trouble in mind. *Curr. Biol*. 6:13-5.
- 91) Uylings, H. B. M. & Van Eden, C. G. (1990). Qualitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog. Brain Res*. 85:31-62.
- 92) VanderMaelen, C. P; Wilderman, R. C. & Gehlbach, G. (1991). Electrophysiological studies of the effects of buspirone on serotonergic neurons. *Buspirone: mechanisms and clinical aspects*. USA: Academic Press.
- 93) Vanderwolf, C. H., Leung, L. W. S., Baker, G. B. & Stewart, D. J. (1989). The role of serotonin in the control of cerebral activity: studies with intracerebral 5,7-dihidroxytryptamine. *Brain Res*. 504:181-91.
- 94) Vanderwolf, C. H. (1989). A general role for serotonin in the control of behaviour: Studies with intracerebral 5,7- dihidroxytryptamine. *Brain Res*. 504:192-8.
- 95) Verwer, R. W. H., Meijer, R. J., Van Vum, H. F. M. & Witter, M. P. (1997). Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. *Hippocampus*. 7:397-402.
- 96) Vorhees, Ch. V. (1986). Methods for assessing the adverse affects of foods and other chemicals on animal behavior. *Nutr. Rev. Suppl*. 44:185-92.
- 97) Warburton, E. C., Harrison, A. A., Robbins, T.W. & Everitt, B.J. (1997). Contrasting effects of systemic and intracerebral infusions of the 5-HT_{1A} receptors agonist 8-OH-DPAT on spatial short-term working memory in rats. *Behav. Brain Res*. 84: 247-58.

- 98) Watanabe, M. (1996). Reward expectancy in primate prefrontal neurones. *Nature*. 382:87.
- 99) Wilkinson, L. O; Middlemiss, D. N. & Hutson, P. H. (1994). 5-HT_{1A} receptor activation increases hippocampal acetylcholine efflux and motor activity in the guinea pig: agonist efficacy influences functional activity *in vivo*¹. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270:656-62.
- 100) Wilson, M. A. & Molliver, M. E. (1991). The organisation of serotonergic projection to cerebral cortex in primates: retrograde transport studies. *Neuroscience*. 44:555-70.
- 101) Wilson, F. A. W., Scalaide, S. P. O. & Goldman-Rakic, P. S. (1993). Dissociation of objects and spatial processing domains in primate prefrontal cortex. *Science*. 260:1955-58.
- 102) Winter, J. C. & Petti, D. T. (1987). The effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin and other serotonergic agonist on performance in a radial maze: A possible role for 5-HT_{1A} receptors in memory. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 27:625-28.
- 103) Yukihiro, N., Yoshiaki, O., Etsuko, S. & Makoto, O. (1991). Involvement of central cholinergic mechanisms in RU-24969-induced behavioural deficits. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 38:441-46.

Tabla IIa

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de serotonina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rafe dorsal

Etapas Error

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	97.6 \pm 27.03	186.57 \pm 52.25	111.52 \pm 24.83	65.34 \pm 12.52	53.17 \pm 13.34
C	54.72 \pm 7.08	104.5 \pm 34.25	85.69 \pm 18.12	73.86 \pm 7.68	116.43 \pm 37.99
E	77.62 \pm 18.82	109.72 \pm 18.82	60.78 \pm 12.98	98.48 \pm 22.79	88.06 \pm 13.06
8-OH-DPAT	82.29 \pm 23.79	71.09 \pm 14.49	92.32 \pm 12.97	96.12 \pm 22.55	120.99 \pm 14.06
α -Me-5-HT	164.42 \pm 17.7	158.6 \pm 45.34	156.2 \pm 28.63 \diamond	152.54 \pm 33.53	217.84 \pm 59.9 \diamond *

Brazo largo

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	180.17 \pm 114.5	275.99 \pm 186.23	107.26 \pm 70.5	35.93 \pm 10.84	79.66 \pm 25.7
C	89.45 \pm 36.28	50.25 \pm 7.11	49.54 \pm 5.01	71.52 \pm 7.16	191.02 \pm 90.36
E	65.55 \pm 17.36	114.71 \pm 28.45	213.09 \pm 56.81	104.03 \pm 33.97	208.94 \pm 55.52
8-OH-DPAT	79.27 \pm 17.13	142.09 \pm 13.03	153.14 \pm 27.32	123.35 \pm 14.35 *	92.98 \pm 16.66
α -Me-5-HT	197.60 \pm 30.12	211.18 \pm 57.93	193.95 \pm 69.13	91.10 \pm 26.39	285.74 \pm 86.79

Las cifras representan el promedio \pm E. E. M.

T = grupo testigo; C = grupo control; E = grupo experimental; 8-OH-DPAT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco 8-OH-DPAT; α -Me-5-HT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco α -Me-5-HT.

*: Significativamente diferente de T; 4: Significativamente diferente de C; \diamond : Significativamente diferente de E; β : Significativamente diferente de 8-OH-DPAT, a $p \leq 0.05$.

Tabla IIb

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de serotonina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rafe dorsal

Etapla Meta

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	76.74 \pm 30.36	79.12 \pm 21.67	40.34 \pm 12.12	61.85 \pm 22.83	32.25 \pm 6.92
C	57.95 \pm 3.17	141.02 \pm 42.39	61.26 \pm 12.23	117.77 \pm 48.73	92.25 \pm 34.46
E	87.76 \pm 29.1	122.57 \pm 23.9	180.8 \pm 33.73	141.48 \pm 26.8	161.44 \pm 24.12
8-OH-DPAT	101.33 \pm 19.5	135.6 \pm 16.95	117.9 \pm 35.77	107.99 \pm 16.21	89.54 \pm 13.94
α -Me-5-HT	240.47 \pm 57.31 * 4	169.72 \pm 30.94	240.65 \pm 103.78 *	155.41 \pm 60.96	177.16 \pm 63.41

Etapla Descanso

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	239.48 \pm 124.81	46.87 \pm 16.9	52.92 \pm 14.67	40.59 \pm 9.18	77.82 \pm 26.9
C	54.42 \pm 4.66	44.74 \pm 6.1	83.46 \pm 11.93	71.99 \pm 7.33	107.85 \pm 26.97
E	159.1 \pm 32.51	69.24 \pm 21.48	208.8 \pm 14.38 * 4	104.09 \pm 26.64	270.99 \pm 63.8 *
8-OH-DPAT	126.23 \pm 17.28	98.29 \pm 18.19	116.17 \pm 32.61	129.07 \pm 33.04	57.88 \pm 7.09 \diamond
α -Me-5-HT	218.91 \pm 28.55	191.88 \pm 39.48 * 4 \diamond	142.03 \pm 41.97	129.07 \pm 29.28	261.02 \pm 34.58 * 4 β

Las cifras representan el promedio \pm E. E. M.

T = grupo testigo; **C** = grupo control; **E** = grupo experimental; **8-OH-DPAT** = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco 8-OH-DPAT; **α -Me-5-HT** = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco α -Me-5-HT.

*****: Significativamente diferente de T; **4**: Significativamente diferente de C; **\diamond** : Significativamente diferente de E; **β** : Significativamente diferente de 8-OH-DPAT, a $p \leq 0.05$.

Tabla IIIa

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de acetilcolina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rafe dorsal

Etapas Error

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	212.96 \pm 32.47	173.09 \pm 28.21	203.75 \pm 36.08	181.02 \pm 25.01	156.04 \pm 42.45
C	278.68 \pm 58.01	244.97 \pm 36.39	295.67 \pm 32.97	376.76 \pm 49.57 *	295.34 \pm 35
E	156.6 \pm 23.29	342.54 \pm 106.92	176.65 \pm 29.1	238.84 \pm 18.72	174.11 \pm 28.81
8-OH-DPAT	212.04 \pm 58.87	197.22 \pm 27.76	149.68 \pm 32.13	391.7 \pm 73.44 *	336.69 \pm 80.15
α -Me-5-HT	218.86 \pm 39.51	301.85 \pm 47.74	287.78 \pm 69.62	274.01 \pm 45.36	231.9 \pm 37.54

Etapas Brazo largo

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	195.79 \pm 63.51	318.31 \pm 58.54	179.75 \pm 42.38	212.08 \pm 28.09	233.68 \pm 32.46
C	265.16 \pm 42.37	315.22 \pm 51.28	408.05 \pm 53.72 *	296.19 \pm 44.26	301.19 \pm 38.94
E	225.1 \pm 27.54	194.02 \pm 36.31	158.17 \pm 50.92 4	170.39 \pm 30.3	221.93 \pm 34.48
8-OH-DPAT	269.03 \pm 74.12	221.58 \pm 81.88	189.96 \pm 44.7	196.85 \pm 38.14	191.04 \pm 36.07
α -Me-5-HT	228.17 \pm 35.56	226.7 \pm 39.25	388.23 \pm 84.78	277.84 \pm 35.71	314.33 \pm 44.81

Las cifras representan el promedio \pm E. E. M.

T = grupo testigo; C = grupo control; E = grupo experimental; 8-OH-DPAT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco 8-OH-DPAT; α -Me-5-HT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco α -Me-5-HT.

*: Significativamente diferente de T; 4: Significativamente diferente de C, a $p \leq 0.05$.

Tabla IIb

Efecto de la aplicación local de 8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la corteza cerebral prefrontal de la rata, sobre la liberación de acetilcolina prefrontocortical después de la lesión farmacológica del núcleo del rafe dorsal

Etapla Meta

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	125.68 \pm 30.29	260.36 \pm 17.87	236.86 \pm 43.17	216.65 \pm 41.16	187.9 \pm 28.29
C	326.66 \pm 33.44	292.51 \pm 36.99	280.38 \pm 45.54	387.42 \pm 69.99	240.38 \pm 45.65
E	229.78 \pm 27.73	203.19 \pm 54.95	212.58 \pm 51.16	150.29 \pm 33.67 4	495.53 \pm 146.23 *
8-OH-DPAT	244.7 \pm 94.06	266.28 \pm 112.79	159.18 \pm 57.88	127.32 \pm 44.74 4	192.22 \pm 30.71 \diamond
α -Me-5-HT	211.21 \pm 43.24	298.21 \pm 56.22	260.34 \pm 31.92	286.44 \pm 31.17	316.52 \pm 57.26

Etapla Descanso

INTENTO	1	2	3	4	5
GRUPO	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)	Fmol/frac (3 μ l)
T	222.41 \pm 53.4	232.11 \pm 41.92	241.97 \pm 22.13	215.01 \pm 34.32	219.42 \pm 30.75
C	289.77 \pm 46.32	369.52 \pm 75.93	405.49 \pm 31.28 *	439.22 \pm 74.79	485.14 \pm 45.95 *
E	212.52 \pm 27.44	216.42 \pm 64.6	172.76 \pm 36.69 4	179.94 \pm 50.72 4	341.68 \pm 81.08
8-OH-DPAT	252.43 \pm 89.83	147.28 \pm 24.36 4	107.98 \pm 6.57 * 4	206.11 \pm 47.96 4	130.22 \pm 33.99 4
α -Me-5-HT	236.42 \pm 46.29	263.14 \pm 46.29	274.12 \pm 33.34 4 β	303.18 \pm 14.94	303.2 \pm 47.3

Las cifras representan el promedio \pm E. E. M.

T = grupo testigo; C = grupo control; E = grupo experimental; 8-OH-DPAT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco 8-OH-DPAT; α -Me-5-HT = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco α -Me-5-HT.

*: Significativamente diferente de T; 4: Significativamente diferente de C; \diamond : Significativamente diferente de E; β : Significativamente diferente de 8-OH-DPAT, a p \leq 0.05.

Tabla I
Liberación de 5-HT y ACh
Antes y Después de la administración de los agonistas
8-OH-DPAT y α -Me-5-HT en la CPF.

GRUPOS	Liberación Basal 5-HT (fmol/frac.) 10 μl	Liberación Basal ACh (fmol/frac.) 10 μl	8- OH-DPAT Liberación de ACh (fmol/frac.) 10 μl	α-Me-5-HT Liberación de ACh (fmol/frac.) 10 μl
T	29.66 \pm 2.80	839.68 \pm 193.49	478.50 \pm 80.72	77.72 \pm 22.70
C	57.42 \pm 8.34 *	253.36 \pm 36.45 *	162.99 \pm 20.33 *	126.89 \pm 26.70
E	18.57 \pm 2.52 * 4	612.62 \pm 71.85 4	538.20 \pm 85.82 4	64.50 \pm 13.08 4

Las cifras representan el promedio \pm E. E. M.

T = grupo testigo; **C** = grupo control; **E** = grupo experimental; **8-OH-DPAT** = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco 8-OH-DPAT; **α -Me-5-HT** = grupo con lesión en el núcleo del rafe dorsal + aplicación del fármaco α -Me-5-HT.

*****: Significativamente diferente de T; **4**: Significativamente diferente de C, a $p \leq 0.05$.

