



PARTICIPACION DE LA INERVACION SEROTONINERGICA A LA CORTEZA
CEREBRAL PREFRONTAL EN LA REGULACION DE LA MEMORIA DE CORTO
PLAZO, EN LA RATA.

Por

MARIA ISABEL PEREZ VEGA

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS
(AREA DE NEUROBIOLOGIA)

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS

1998



PARTICIPACION DE LA INERVACION SEROTONINERGICA A LA CORTEZA CEREBRAL
PREFRONTAL EN LA REGULACION DE LA MEMORIA DE CORTO PLAZO, EN LA RATA.

Por

MARIA ISABEL PEREZ VEGA

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(ÁREA DE NEUROBIOLOGÍA)

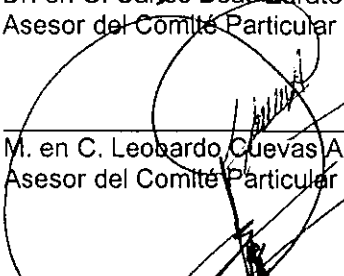
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
1998

Aprobada por:



Dr. en C. Carlos Beas Zárate
Asesor del Comité Particular del estudiante

09/NOV/98
Fecha



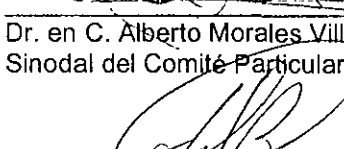
M. en C. Leonardo Cuevas Alvarez
Asesor del Comité Particular del estudiante

6/NOV/98
Fecha



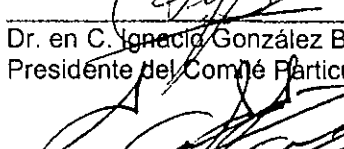
Dr. en C. Alfredo Feria Velasco
Sinodal del Comité Particular del estudiante

5/XI/98
Fecha




Dr. en C. Alberto Morales Villagrán
Sinodal del Comité Particular del estudiante

6/NOV/98
Fecha



Dr. en C. Ignacio González Burgos
Presidente del Comité Particular del estudiante

3/XI/98
Fecha



M. en C. Santiago Sánchez Preciado
Secretario Académico del Posgrado

10/XI/98
Fecha

**LA PRESENTE TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DE
PSICOBIOLOGÍA DE LA DIVISION DE NEUROCIENCIAS DEL CENTRO DE
INVESTIGACION BIOMEDICA DE MICHOACAN DEL INSTITUTO MEXICANO
DEL SEGURO SOCIAL Y EN LAS INSTALACIONES DE LA DIVISION DE
NEUROCIENCIAS DEL CENTRO DE INVESTIGACION BIOMEDICA DE
OCCIDENTE DEL PROPIO IMSS; CON FINANCIAMIENTO PARCIAL
OTORGADO POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA,
MEDIANTE LA APROBACION DEL PROYECTO No. 1298P-M.**

RESUMEN

La actividad de la corteza cerebral prefrontal (CCPF) se relaciona con la organización de la memoria de corto plazo (MCP). La interacción de los sistemas colinérgico y serotoninérgico es indispensable para el adecuado desempeño en pruebas de aprendizaje y memoria; sin embargo, el papel que desempeña la serotonina es poco claro. Se ha propuesto que la adquisición y almacenaje de información podrían estar asociados con cambios anatómicos en las neuronas que participan en el procesamiento de la misma. En el presente trabajo se evaluó la participación de la inervación serotoninérgica prefrontocortical en la expresión conductual de la memoria de corto plazo y en la citoarquitectura neuronal subyacente. Se utilizaron 31 ratas hembra Sprague-Dawley; a las del grupo experimental (E) se les produjo lesión del núcleo del rafé dorsal mediante la inyección estereotáxica de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 5,7-dihidroxitriptamina; un grupo control fue sometido a la cirugía y solo se le aplicó la solución vehículo, en tanto que un grupo testigo intacto no recibió ningún tratamiento. Antes de ser sometidos a la cirugía y 20 días después de la misma tras 48 hrs de abstinencia de agua, en el laberinto de "Biel" se sometió a cada animal a la resolución de cinco intentos consecutivos. En la prueba pre-tratamiento, los tres grupos disminuyeron significativamente su número de errores a partir del 4º intento al igual que en la prueba post-tratamiento con excepción del grupo E, cuyos animales cometieron menos errores desde el segundo intento. Mediante el método de Golgi modificado se analizó la citoarquitectura general de las neuronas piramidales de la 3ª capa de la CCPF. El grupo E mostró que la longitud de sus prolongaciones dendríticas fue menor, así como una mayor densidad de espinas en las dendritas basales y oblicuas y un mayor número de espinas largas en estas mismas dendritas y de espinas gordas en la porción proximal al soma de la dendrita apical. El abatimiento de los niveles de serotonina a nivel de la CCPF dio lugar a una mayor eficiencia en la expresión conductual de la MCP, subyacente en una citoarquitectura celular que posiblemente facilite el influjo de información excitadora hacia las neuronas constituyentes de dicha región cerebral.

ABSTRACT

Prefrontal cortex (PFC) activity has been related with the organization of short-term memory (STM), and an interactive relationship between cholinergic and serotonergic systems have been proposed to be involved in the performance of some tasks for learning and memory evaluation. However, the underlying mechanisms by which serotonin could modulate this process is still unclear. It has recently been proposed that information storage could underly in some morphological changes of the neurons. In this study, the effects of serotonergic denervation to the PFC on STM was evaluated, as well as the changes on the neuronal cytoarchitecture of these same cerebral region. Thirty one Sprague-Dawley female rats were used and they were divided into an intact control group, a sham-operated group only submitted to the surgery and to the injection of vehicle solution, and an experimental group (E) whose nucleus rafé dorsalis was lesioned by stereotaxic injection of 5,7-dihydroxytryptamine. Both before and 20 days after of the surgery, the animal's STM was evaluated in the "Biel" maze, once tap water had been withdrawn since 48 h before the resolution of five consecutive trials. Both in the pre-treatment and post-treatment performances, animals from the three groups committed less errors starting from the fourth trial, excepting the E group, which did it from the second trial in the post-treatment evaluation. The animals were sacrificed and the PFC was dissected out. Sections were impregnated with a modification of the Golgi method and a cytoarchitectural analysis of third-layer-pyramidal neurons from the PFC of all groups was carried out. The morfological study revealed that the dendritic processes of the E group were smaller than those of the controls, and that E dendrites had greater spine density in the basilars and obliques, as well as more thin spines in these same dendrites and more stubby spines on the proximal segment of the apical dendrite.

The plastic cytoarchitectural changes observed in the E group could be related to a possible enhanced excitatory input to the third-layer-pyramidal neurons and may be contributing to the cellular basis of the STM alterations observed in this study.

DEDICATORIAS

DEDICO CON TODO MI AMOR EL DESARROLLO Y CONCLUSION DE LA PRESENTE TESIS A MI QUERIDA HIJA, QUE ES LA FUNTE DE AMOR Y FORTALEZA QUE ME INSPIRA A SEGUIR ADELANTE.

A MIS PADRES, QUE ME HEREDARON UNA FORMACION PROFESIONAL Y EN TODO MOMENTO HAN ESTADO CONMIGO.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis: Dr. en C. Ignacio González Burgos

A mi jurado de tesis: Dr. en C. Carlos Beas Zárate

M. en C. Leobardo Cuevas Alvarez

Dr. en C. Alfredo Feria Velasco

Dr. en C. Alberto Morales Villagrán

De manera especial quiero agradecer al Dr. Eduardo Vázquez Valls y al M. en C. Genaro Gabriel Ortiz, jefe de la División de Neurociencias del CIBO, IMSS; por el apoyo proporcionado para la realización del presente trabajo.

A la Sra. Isabel Reséndiz Espino y al Dr. Francisco Javier Pérez Vega, por el cariño y apoyo recibidos.

A mis hermanos y hermanas.

A mis compañeras y amigas María Esther Olvera Cortés y María de la Luz Miranda Beltrán; por su invaluable apoyo, aún en los momentos más difíciles.

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron a la realización del presente trabajo.

GLOSARIO DE FIGURAS

- Fig. 1. Impresión micrográfica de una neurona piramidal de la tercera capa de la corteza cerebral prefrontal de rata.....11
- Fig. 2. Criterios utilizados para la clasificación de las espinas dendríticas.....12
- Fig. 3. Representación esquemática de una vista superficial del cerebro humano.....19
- Fig. 4. Esquema citoarquitectónico de la estratificación de la corteza cerebral.....20
- Fig. 5. Representación esquemática de los lóbulos en que se divide el cerebro humano y la localización de diversas áreas funcionales de la corteza cerebral.....22
- Fig. 6. Esquemas de un cerebro humano y uno de rata en los que se indica la localización topográfica del área cortical prefrontal.....23
- Fig. 7. Dibujo realizado con cámara clara, que ilustra un corte coronal de cerebro de rata a nivel la corteza cerebral prefrontal y en el que se aprecia la corteza prefrontal medial.....26
- Fig. 8. Diagrama esquemático del flujo de información cortical en el ciclo percepción-acción, en primates28
- Fig. 9. Representación esquemática de las conexiones entre la corteza prefrontal, la corteza premotora y la corteza motora en el cerebro de rata; así como la salida de la información a través de la vía piramidal.....29

Fig. 10. Impregnación argéntica de una neurona piramidal de la 3ª capa de la corteza cerebral prefrontal de la rata.	31
Fig. 11. Esquema ilustrativo de la innervación colinérgica en el cerebro humano y en el cerebro de rata.....	32
Fig. 12. Diagrama de la innervación serotoninérgica en el cerebro humano y en el cerebro de rata.....	35
Fig. 13. Esquema del Laberinto de "Biel" utilizado para la realización de las pruebas conductuales de aprendizaje y memoria de corto plazo.....	47
Fig. 14. Imágenes histológicas de cortes coronales del núcleo del rafe dorsal.....	48
Fig. 15. Impresión micrográfica de un corte coronal del hemisferio izquierdo del cerebro de rata, en el que se muestran las regiones constituyentes del área cortical prefrontal dorsomedial	49
Fig. 16. Comparación intergrupar del número de errores cometidos durante la prueba conductual previa al tratamiento correspondiente.....	53
Fig. 17. Análisis intergrupar del número de errores cometidos durante la prueba conductual realizada después del tratamiento correspondiente.....	54
Fig. 18. Comparación intragrupal del número de errores cometidos durante las pruebas conductuales realizadas antes y después del tratamiento.....	55

- Fig. 19. Representación gráfica del tiempo empleado por los animales de los grupos testigo, control y experimental para resolver la tarea conductual antes y después del tratamiento correspondiente.56
- Fig. 20. Comparación intragrupal del número de errores cometidos antes del tratamiento, por parte de los tres grupos estudiados.....57
- Fig. 21. Análisis intragrupal del número de errores cometidos después del tratamiento practicado a cada grupo de animales.....58
- Fig. 22. Gráfica correspondiente a la comparación de la longitud de la dendrita apical de las neuronas piramidales de la 3^a capa de la corteza cerebral prefrontal.....59
- Fig. 23. Gráfica representativa de la longitud de las dendritas basales de las neuronas piramidales de la capa III de la corteza cerebral prefrontal.....60
- Fig. 24. Representación gráfica de los resultados obtenidos respecto a la longitud de la dendrita oblicua de las células piramidales de la 3^a capa de la corteza cerebral prefrontal.....61
- Fig. 25. Diagrama comparativo de los resultados anátomo – funcionales obtenidos en el presente estudio.....66

GLOSARIO DE TABLAS

Tabla I: Densidad de espinas dendriticas.....	62
Tabla II: Forma de espinas de la dendrita apical.....	63
Tabla III: Forma de espinas de la dendrita basal.....	64
Tabla IV: Forma de espinas de la dendrita oblicua.....	65

INDICE

CONTENIDO	PAGINAS
Introducción	1
Antecedentes	24
Planteamiento del Problema	40
Hipótesis	41
Objetivo general	42
Objetivos Particulares	42
Materiales y Métodos	43
Resultados	50
Discusión	67
Conclusiones Particulares	83
Conclusión General	84
Referencias	85

INTRODUCCION

Aprender es el proceso neuropsicológico mediante el cual un organismo adquiere nueva información del medio o de situaciones a las cuales se ve sometido en su interacción con éste⁴⁶. Este proceso neural permite tanto a los hombres como a los animales adaptarse a su ambiente mediante el uso de su experiencia y del ajuste de su conducta en respuesta a los eventos que ocurren durante su vida⁹⁸.

Este proceso ha sido dividido en dos tipos^{46, 94}: 1) *Aprendizaje implícito* y 2) *Aprendizaje explícito*.

El aprendizaje implícito es filogenéticamente más antiguo y posiblemente representa, en diversos organismos, la capacidad para desarrollar un cúmulo de habilidades orientadas a la consecución de propósitos específicos⁹³ semejantes a patrones de conducta; se caracteriza por ser lento y por adquirirse de forma inconsciente a través de la repetición de eventos (realización repetida de ciertas tareas). El aprendizaje implícito quizás depende en algunos casos de la participación del sistema motor extrapiramidal^{46, 94}. El aprendizaje explícito 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^{94, 107}. 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 ocurren en un lugar y tiempo determinados (hechos, episodios, listas y eventos de la vida diaria); generalmente se adquiere de manera consciente y con la intención de recordar¹⁰⁷. Esta capacidad permite al sujeto recordar y tener un acceso particular a la información que en un momento dado le permite cambiar su conducta^{46, 94}.

El registro y conservación de la información adquirida se lleva a cabo mediante el proceso de memorización, que puede definirse como el proceso

por el cual se retienen los conocimientos y se pueden recordar tiempo después^{46, 93}. El aprendizaje y la memoria se relacionan estrechamente dado que el aprendizaje puede considerarse tan sólo en términos de cambios conductuales originados por algún tipo de estimulación; la información contenida en tal estimulación 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 ocurren 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 viceversa⁹⁷.

Tradicionalmente se ha definido el proceso de memoria en memoria de largo plazo (MLP) o de referencia y, en memoria de corto plazo (MCP) o de trabajo, en función del tiempo que la información permanece almacenada^{26, 47, 92-94}.

MEMORIA DE LARGO PLAZO (MLP): A este tipo de memoria también se le ha denominado memoria de referencia. La información que se almacena en este tipo de memoria es más difícil de adquirir, pero una vez consolidada dura mucho tiempo y quizás 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 amnesia⁹²⁻⁹⁴. Squire (1987) clasificó a la MLP en memoria declarativa y memoria no declarativa. La memoria declarativa es explícita y se accesa a ella de manera consciente, es usada para recordar hechos específicos, eventos en un tiempo y lugar determinado o información que es adquirida a través del aprendizaje; y depende de la integridad del hipocampo y de estructuras anatómicamente relacionadas con éste en el lóbulo temporal medial así como de los núcleos mediales del tálamo^{26, 93}; la memoria no declarativa es

implícita y el acceso a ella sólo es a través de la realización motora, adquisición de destrezas manuales u operaciones en las cuales el conocimiento está ya establecido; este tipo de memoria depende en algunos casos de la participación del sistema motor extrapiramidal⁹³.

MEMORIA DE CORTO PLAZO (MCP): A la memoria de corto plazo también se le denomina "de trabajo". El término "memoria de trabajo" ha sido propuesto para describir un mecanismo único de almacén a corto plazo²⁶; es el almacén temporal de información que provee la continuidad entre nuestro pasado inmediato y nuestra situación presente y que nos permite planear para un futuro inmediato⁹⁹. 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; durante dicho lapso tal información es organizada e interpretada para, virtualmente, producir una huella mnémica más significativa^{21, 47}. 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 ser alterados fácilmente por nuevas experiencias; c) tiene una función de repaso, es decir, permite repasar o repetir los recuerdos de experiencias previas lo cual 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^{47, 92-94}. Baddeley en 1992 definió la memoria de trabajo como un "sistema cerebral" que permite el almacenaje 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, ésto 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 actualiza²⁵, 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. 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 trabajo dan lugar a una gran cantidad de complicaciones psicológicas como problemas de atención, así como problemas con la organización de la expresión conductual⁹⁹.

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 horas⁴⁷.

En experimentos con animales, la memoria de referencia se estudia como la evocación de información a lo largo de varias series de ensayos y usualmente para el experimento completo²⁶. Los factores esenciales para este tipo de memoria son la formación de una asociación particular entre un estímulo y una respuesta o el aprendizaje de la asociación estímulo-respuesta. Se asume que esos factores son similares a aquellos esenciales para el establecimiento de la MLP en el humano²⁶. Por su parte, la memoria de trabajo se ha definido como el sistema de memoria que retiene la información necesaria del estímulo para una sola serie de ensayos en un experimento completo, pero no para los subsecuentes ensayos²⁶. Así, el criterio fundamental para diseñar y aplicar procedimientos para evaluar la memoria de trabajo es que diferentes estímulos guían la estructuración de respuestas sucesivamente más eficientes a través de los diferentes ensayos de manera que las señales de información que el sujeto debe recordar varían de ensayo a ensayo. La formación de una asociación particular entre un estímulo y una respuesta no es esencial en el paradigma de la memoria de trabajo²⁶.

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 continúa 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 del remodelamiento 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.

Con respecto al proceso de consolidación de la memoria se han propuesto algunas teorías; entre otras, la teoría de Hebb propuesta en 1949. Donald Hebb (1949) consideraba que el recuerdo de un evento no se almacenaba directamente en forma de una memoria permanente, sino que en un principio era almacenado de una forma frágil. Según Hebb cuando el sujeto es expuesto a algún tipo determinado de estimulación se activa un circuito neuronal en el sistema nervioso central (SNC), la actividad de este circuito neural "reverbera", es decir, permanece durante un breve período de tiempo tras la terminación del estímulo. Hebb sugería que una función de la actividad reverberante es la de actuar como almacén temporal para la retención de un registro del evento hasta que pudiera virtualmente, consolidarse una representación permanente. Según la teoría de Hebb, tras un evento se producen cambios fisiológicos en el SNC que representan el registro permanente de ese evento debido a que estos cambios se producen lentamente y la actividad reverberante debe mantenerse hasta que se complete el proceso de almacenamiento; si se interrumpe la actividad

reverberante el proceso de consolidación se paraliza y no tienen lugar más cambios fisiológicos. Así, "la fuerza" de la memoria depende de la cantidad de tiempo que esa memoria tuvo para consolidarse⁴⁶⁻⁴⁷. Consecuentemente, parece razonable entonces suponer que la activación de diferentes circuitos neurales por diversos eventos explica la diferencia en los diversos tipos de memoria.

Para investigar los mecanismos biológicos que subyacen a la organización de la memoria se han seguido diversas estrategias metodológicas. De entre ellas, destaca el estudio de la biología celular y molecular de los fenómenos plásticos que ocurren en neuronas individuales y sus sinápsis.

Los primeros trabajos experimentales acerca de posibles cambios neurofisiológicos correspondientes al registro, retención y procesamiento de la información, aparecen entre 1960 y 1970. A partir de entonces, tales investigaciones han seguido cuatro enfoques metodológicos principales:

1) Búsqueda de cambios fisiológicos correspondientes al aprendizaje y la memoria.

2) Modificaciones bioquímicas a nivel intracelular, así como cambios en las estructuras moleculares de la superficie neuronal externa.

3) Modelos de aprendizaje a partir de formas de aprendizaje sencillas en organismos simples, y;

4) Patologías de la memoria derivadas, ya sea de lesiones craneoencefálicas o bien, de modificaciones estructurales en las neuronas de diversas regiones involucradas en el aprendizaje y la memoria, como producto de procesos neurodegenerativos.

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 cerebro⁴⁷.

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 del soma neuronal, en el número y longitud de las dendritas, así como en el diámetro de las terminales sinápticas. Este tipo de cambios morfológicos también se observan en animales que han sido sometidos a situaciones formales de aprendizaje⁴⁷.

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

A partir de los resultados obtenidos en dichos estudios se han propuesto diversas teorías para explicar los mecanismos biológicos subyacentes a la organización del aprendizaje y la memoria; entre las cuales se encuentran:

La Teoría del concepto clásico del engrama: La forma elemental postulada de almacenar información en el cerebro habitualmente se conoce como huella de memoria o "engrama". Originalmente se concibió al engrama como el almacenamiento en el cerebro de una idea elemental; como el "átomo" de un recuerdo complejo. Se supuso que un engrama se almacenaba en una neurona cortical y que los engramas cuyo contenido estaba relacionado se almacenaría uno cerca de otro; así, la asociación mental entre las ideas que representarían sería más fuerte.

En la actualidad ésta teoría se considera obsoleta. La palabra "engrama" todavía se utiliza pero en un sentido diferente: esto es, para denominar simplemente el almacenamiento de la información. Actualmente

la palabra "engrama" es definida como el conjunto de procesos y cambios físicos que se operan en el cerebro y forman la base del aprendizaje⁹⁷⁻⁹⁸.

Teoría de equipotencialidad y de acción de masa: Se buscaba la localización de engramas en el cerebro. Se realizaban experimentos en los cuales se removían quirúrgicamente varias partes de la corteza cerebral de animales de experimentación, los cuales se evaluaban en lo que respecta a: 1) retención de hábitos aprendidos antes de la operación; 2) capacidad de reaprender lo que aparentemente habían olvidado, y; 3) capacidad de aprender nuevas tareas. Los resultados de tales experimentos llevaron a postular que la función de la memoria se altera en proporción directa a la cantidad de corteza destruída sin importar la zona cortical en particular, a excepción de las áreas sensoriales primarias específicas: lo que se aprendió a través de la visión se pierde luego de la lesión en la corteza visual y, así mismo, ciertas pautas auditivas se alteran por la lesión en la corteza auditiva^{92, 97-98}.

Teoría sobre la codificación química de los recuerdos ó teoría de la reorganización nucleotídica: La cual supone que, como consecuencia del aprendizaje, se produce un cambio permanente en los ácidos ARN y ADN; dicha teoría nació después del descubrimiento del código genético. Esta teoría postula que sólo las proteínas y los ácidos nucleicos servirían como codificadores; puesto que hay evidencias que indican que la información hereditaria, así como la información innata se almacena en moléculas de ADN, es razonable suponer que la información adquirida podría almacenarse también en el ADN, dado que ninguna otra molécula producida por los organismos vivientes tiene el tamaño y la complejidad estructural requerida para conservar la información necesaria. En general, los estudios que analizan los cambios producidos en las sustancias bioquímicas del cerebro a consecuencia del aprendizaje, encuentran modificaciones en los tipos y en la cantidad de ARN, de proteínas, así como los cambios químicos respectivos a funciones específicas en el cerebro. Sin embargo, no se ha logrado establecer aún la distinción entre los cambios

bioquímicos que pudieran estar relacionados en el proceso de adquisición de la información y los cambios que se relacionan con las variables de la ejecución de una respuesta motriz⁹².

Teoría de la plasticidad sináptica: Aunque ésta teoría surgió a fines del siglo XIX actualmente es la más aceptada. Sugiere que el aprendizaje modifica permanentemente el funcionamiento de sistemas neurales específicos. Este cambio puede reflejar una mejora en el funcionamiento de circuitos neuronales ya existentes o bien, la formación de nuevas conexiones nerviosas.

Postula que posiblemente el aprendizaje tiene que ver con la alteración de las características de transmisión del impulso nervioso a nivel de las sinápsis^{47, 92}, 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 ulteriormente se estructura en circuitos neurales específicos. Así, la memoria es almacenada 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^{51, 94}.

El término *plasticidad* se remite hoy a la capacidad del sistema nervioso para cambiar en respuesta a presiones ambientales, lesiones o modificaciones en el estado interno del organismo. El organismo está capacitado para adaptarse a cambios que tienen lugar en una escala de minutos o segundos. Las modificaciones del sistema nervioso que operan en esa escala temporal deben implicar cambios en la función de las sinápsis. De hecho, la expresión "plasticidad sináptica" fue introducida por el psicólogo J. Konorski para designar procesos mediante los cuales modificaciones transitorias en la actividad sináptica producen cambios permanentes o de larga duración en la potencia de esas sinápsis^{13, 98}. En este sentido, se ha propuesto que el sustrato neuroanatómico en el que subyace la memoria está representado por las espinas dendríticas de las neuronas constituyentes de regiones cerebrales involucradas en dicho proceso cognoscitivo^{32, 49-50, 57}.

Las espinas dendríticas son minúsculas protuberancias protoplasmáticas que revisten la superficie de muchas neuronas^{13, 49, 50} (Fig. 1) y representan el sitio de contacto sináptico excitador en neuronas principales del hipocampo, la neocorteza y otras regiones cerebrales. Usualmente establecen contactos sinápticos únicos, aunque se han encontrado espinas con más de un axón conectado a ellas^{13, 49-50}. La morfología de las espinas varía considerablemente; podemos encontrar espinas con cuellos largos, cortos, gruesos, delgados, cilíndricos, irregulares o ramificados y todas las combinaciones posibles; así como, cabezas de espinas pequeñas, grandes, esféricas, ovales o de forma irregular^{39, 110}. En general y de acuerdo a criterios morfológicos bien definidos se les ha clasificado en larga o delgada, forma de hongo, gorda, ramificada y doble o varicosa¹¹⁰ (Fig. 2). Estudios previos han demostrado que las espinas son estructuras particularmente plásticas que pueden responder morfológicamente a una gran variedad de estímulos fisiológicos^{13, 31, 37, 110}.

Así, el grado de longitud y ramificación dendrítica, así como la densidad, forma y distribución de las espinas dendríticas parecen estar influenciada por una gran diversidad de factores medioambientales como la desnutrición, la privación sensorial, el estrés, la denervación y por procesos de aprendizaje, entre otros^{13, 31, 33, 74, 110}. Se ha propuesto que la gran diversidad en la morfología de las espinas quizás refleje diferentes estados dinámicos y, por lo tanto, diferente eficacia sináptica a lo largo de una dendrita particular en un tiempo determinado³⁹. En general las neuronas espinosas tienden a ser las células principales de entrada y salida de información en una región cerebral determinada; ellas integran diversos estímulos tanto de naturaleza inhibitoria como excitadora provenientes tanto de diversas regiones cerebrales como de diferentes tipos celulares. Una vez llevada a cabo la integración de los estímulos, la neurona generalmente alcanza el umbral de disparo y envía la señal a la siguiente zona cerebral donde las células que reciben el estímulo llevan a cabo funciones de integración de información de manera similar³⁹. Las espinas dendríticas



Fig. 1. Impresión micrográfica de una neurona piramidal de la tercera capa de la corteza cerebral prefrontal de rata, en la que se observan sus espinas dendríticas (flechas pequeñas). Cabeza de flecha: soma; flecha gruesa: axón. Método de Golgi modificado. Escala: 45 μ m.

<u>CATEGORIA</u>	<u>FORMA</u>	<u>CRITERIO</u>
<i>LARGA O DELGADA</i>		$d_c \lll L$ $d_c \leq d_C$
<i>FORMA DE HONGO</i>		$d_c \lll d_C$
<i>GORDA</i>		$d_c \cong L$
<i>FORMA ANCHA</i>		$d_c = d_C$ $d_c \ll L$
<i>RAMIFICADA</i>		> 1 cabeza
<i>DOBLE O VARICOSA</i>		> 1 cabeza

Fig. 2. Criterios utilizados para la clasificación de las espinas dendríticas. L: longitud. dC: diámetro de la cabeza de la espina; dc: diámetro del cuello de la espina; C: cabeza de la espina. Modificado de Wodley, 1990.

representan el mayor sitio de contacto sináptico excitador en las neuronas y ocasionalmente forman sinápsis inhibitorias moduladoras, las cuales modifican la fuerza de entrada de la información excitadora. Diversos estudios fisiológicos han mostrado que diferentes tipos de sinapsis excitadoras pueden tener diferente eficacia sináptica¹³, por lo que se ha postulado que la fuerza sináptica de las diferentes espinas determina el patrón de actividad de cada célula individual y, por consiguiente, del ensamblaje neuronal conectado a manera de red y, finalmente, de una región cerebral determinada³⁹.

En particular, la longitud y el diámetro del cuello de la espina puede cambiar durante el desarrollo neuronal o en respuesta a estímulos significativos⁴⁷. Cuando se estimula una neurona, los iones sodio (Na^+) y calcio (Ca^{++}) atraviesan los canales de la célula. La afluencia de iones Na^+ y Ca^{++} es seguida de una expulsión de iones potasio (K^+) fuera de la célula; la entrada de Ca^{++} es necesaria para la liberación de las sustancias neurotransmisoras, mientras que la salida de K^+ es necesaria para que la neurona vuelva a su estado de reposo⁴⁷.

Lynch (1986) comprobó que la experiencia aumenta el nivel de iones Ca^{++} que pueden entrar a la célula nerviosa, lo cual activa una enzima durmiente denominada calpaína; ésta rompe la proteína fodrina, que es el principal componente de las dendritas neuronales y de la capa que las envuelve. La ruptura de este revestimiento de las dendritas las expone aún más a la estimulación de otras neuronas, esto es, la neurona se vuelve más sensible. Al romperse el revestimiento con la experiencia prolongada, el proceso de ruptura continúa y da lugar a una mayor actividad neuronal. Lynch sugiere que la experiencia continuada hace que las dendritas se conviertan en un "esqueleto". La ausencia de revestimiento celular hace que las dendritas cambien de forma y tales cambios en la estructura de la dendrita dan lugar al establecimiento de nuevas conexiones neuronales. Desde el punto de vista de Lynch, la formación de estas nuevas conexiones neuronales debido a la ruptura del revestimiento de la dendrita y la

arborización dendrítica ulteriormente modificada constituyen los cambios neuronales producidos por el aprendizaje. El hecho de que las espinas dendríticas estén estrechamente asociadas con el tráfico de información excitadora, las sitúa idealmente como moduladoras del procesamiento de información que fluye a través de diversas regiones cerebrales como el hipocampo y la corteza cerebral entre otras⁴⁹; por lo que se ha propuesto que podrían estar implicadas en la formación de los trazos de memoria¹¹⁰. En particular, se ha sugerido que un suficiente número de espinas con cuello estrecho quizás sean requeridas para el mantenimiento de la Potenciación a Largo Plazo (PLP) el cual, ha sido considerado como un mecanismo celular de por lo menos algunas formas de aprendizaje y memoria. La PLP se manifiesta como una respuesta postsináptica aumentada resultante de un patrón de actividad repetitivo y apropiado de las neuronas^{39, 88, 96}. La PLP requiere de la entrada de Ca^{++} a la célula postsináptica; para lograr esta entrada de Ca^{++} en muchas de las sinapsis donde la PLP es inducida, el glutamato debe de ser liberado de la terminal presináptica al mismo tiempo que el elemento postsináptico es despolarizado; la despolarización postsináptica es necesaria para liberar el magnesio que bloquea los canales de Ca^{++} asociados con el receptor N-metil-D-aspartato^{39, 88, 96}. La constricción del cuello de la espina, si ofrece una barrera resistente, deriva en una amplificación de la depolarización alcanzada en la vecinidad inmediata de la sinapsis, relativa a la que pudiese ser generada si la sinapsis ocurriera directamente sobre el asta dendrítica; así, la constricción del cuello de la espina podría facilitar la inducción de PLP al permitir que los canales dependientes de voltaje se abran en respuesta a una menor activación sináptica que la que podría ser requerida para despolarizar una dendrita no espinosa^{39, 44}. Así, una de las funciones clave de las espinas podría ser la de amplificar y aislar el aumento de Ca^{++} inducido sinápticamente o cualquier otro segundo mensajero, en espinas individuales^{37, 41, 44, 60}. En otras palabras, las espinas dendríticas quizás sean cruciales para la inducción del almacenamiento de información en el cerebro, más que para su retención⁴⁹.

En cuanto a las regiones cerebrales en las que radica la memoria, existen dos corrientes que parecen ser excluyentes: la localizacionista, que postula que el engrama se encuentra en zonas o núcleos discretos e invariantes del cerebro y, aquella que sostiene que la memoria esta distribuída en sistemas de estructuras interconectadas entre sí.

A partir de estudios tanto clínicos como experimentales se ha podido observar que la actividad de diversas estructuras cerebrales son esenciales para el establecimiento permanente de la memoria (como lo son el hipocampo, la amígdala, el cuerpo estriado y la corteza cerebral; entre otras). Sin embargo, no todas son necesarias durante el desempeño de diversas tareas de aprendizaje. Se ha propuesto que diversas estructuras que participan en el establecimiento de la memoria estarían conectadas en serie de tal manera que la lesión o cualquier otro tipo de manipulación que interfiera con el funcionamiento normal de cualquiera de ellas, tendrá como consecuencia la incapacidad para el establecimiento permanente de la memoria. En otras palabras, cuando un sujeto es sometido a una experiencia incrementada de aprendizaje las estructuras involucradas sufren un rearrreglo funcional y se comportan como si estuvieran conectadas en paralelo. Así, a pesar de que alguna de esas regiones cerebrales no tenga una actividad normal, la información derivada de la experiencia de aprendizaje podrá llegar a las otras estructuras que se encargarán de que los procesos mnémicos correspondientes se lleven a cabo. En este modelo se propone que la conexión funcional se debe llevar a cabo a través de una estructura que cumpla con dos condiciones: 1) que reciba información de la situación experimental ambiental (características generales del entorno) y de actividad propioceptiva derivada de las respuestas ejecutadas, y; 2) que esté conectada tanto anatómica- como funcionalmente con el resto de las estructuras involucradas en el proceso de memoria; es decir, con las estructuras que originalmente estaban conectadas en serie. Una de las estructuras que cumple con estas dos condiciones y que se propone como la

encargada de llevar a cabo la nueva conexión en paralelo, es la corteza cerebral⁷⁷.

Se sabe que diversas regiones cerebrales participan de manera activa durante el proceso de aprendizaje y la posterior eventual consolidación de la información. Entre esas regiones encontramos al cuerpo estriado, al hipocampo, a la amígdala y a la corteza cerebral; entre otras^{54, 77, 48}.

La funcionalidad de la corteza cerebral (Fig. 3) es esencial para la manifestación de facultades intelectuales y de otras expresiones psiconeurales como la percepción e integración de la sensibilidad en general, la visión y la audición⁴², así como para la organización de la MCP^{14, 26, 31, 35, 48, 106, 109}. 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.

La neocorteza representa el evento evolutivo más reciente del sistema nervioso de los vertebrados; se presenta primordialmente desde los reptiles y manifiesta su franca aparición en los mamíferos. En términos generales, hay correlación entre el volúmen de corteza y la complejidad funcional del sistema nervioso de los organismos⁶⁴. De acuerdo a su configuración estructural, se distinguen 5 tipos de células nerviosas en la corteza cerebral (Fig. 4):

- *Células horizontales de Cajal*. Se encuentran en la capa más externa de la corteza y disminuyen con la edad del individuo; su cilindroeje hace sinápsis con las ramificaciones dendríticas de las células piramidales.

- *Células estrelladas*. También llamadas células granulares, son neuronas pequeñas cuyo soma mide entre 8 y 10 μm de diámetro y presentan un cilindroeje corto que termina en neuronas de la misma corteza a nivel de las células piramidales.

- *Células fusiformes*. Se localizan en la capa más profunda de la corteza y su eje mayor mide aproximadamente 15 μm , el cual es perpendicular a la superficie pial. Su cilindroeje entra a la sustancia blanca

subcortical para proyectarse a estructuras extracorticales o a áreas homólogas del hemisferio contralateral.

-*Células de Martinotti*. Son neuronas de asociación que se encuentran en todas las capas de la corteza, a excepción de la capa molecular. Poseen pocas dendritas las cuales son generalmente cortas y poco ramificadas, en tanto que su cilindroeje se dirige a las capas corticales más superficiales, donde se bifurca para hacer sinápsis principalmente con dendritas de células piramidales.

- *Células piramidales*. Su soma mide de 10 a 50 μm de altura desde la base hasta el inicio de la dendrita apical. Un grupo particular de este tipo de neuronas que se encuentra en el área motora llega a medir hasta 100 μm de altura, por lo que se denominan *neuronas piramidales gigantes* (células de Betz). Las neuronas piramidales tienen numerosas dendritas basales con una dendrita apical de la que emergen varias dendritas secundarias u oblicuas. En su trayecto hacia la región pial de la corteza se bifurca y termina en varias ramificaciones menores. El cilindroeje se origina en la base del soma de las neuronas y tiene una longitud variable. El de las células piramidales pequeñas -que ordinariamente se localizan en capas superficiales- termina en el nivel de capas profundas de la misma corteza cerebral, mientras que la gran mayoría de los axones de las células medianas, grandes y gigantes entra a la sustancia blanca subcortical y se dirige hacia otras regiones corticales ipsilaterales, hacia regiones homólogas en la corteza cerebral contralateral o hacia estructuras subcorticales. En su trayecto tales cilindroejes pueden dar ramas colaterales a células de la misma corteza cerebral y a estructuras subcorticales.

La neocorteza está estratificada en seis láminas o capas horizontales que desde la superficie hacia el interior son (Fig. 4):

1) *Capa molecular o plexiforme*. Está constituida por fibras nerviosas orientadas tangencialmente a la superficie cortical, por células horizontales de Cajal y por algunas células estrelladas.

2) *Capa granular externa.* En esta capa se encuentran principalmente células granulares (estrelladas) y piramidales pequeñas, cuyos axones terminan en capas más profundas de la propia corteza cerebral.

3) *Capa piramidal externa.* Está formada principalmente por células piramidales medianas, cuyo cilindroeje de asociación entra a otras áreas corticales ipsilaterales y contralaterales.

4) *Capa granular interna.* Está formada por neuronas estrelladas que reciben información proveniente del tálamo y cuyos cilindroejes terminan en neuronas piramidales de las capas más profundas de la propia corteza.

5) *Capa piramidal interna.* Está constituida por células piramidales grandes, células estrelladas y células de Martinotti.

6) *Capa de células polimórficas o fusiformes.* Es denominada así por predominar este tipo de células. Los axones de estas células hacen sinápsis en neuronas de capas más superficiales de la misma corteza cerebral, principalmente células piramidales^{42, 64}.

La neocorteza está organizada en regiones separadas que simultáneamente registran características del mundo externo tales como patrones visuales, movimientos y locaciones, entre otras (Fig. 5). Se ha propuesto que la información es almacenada en el mismo sistema neural que ordinariamente participa en la percepción, análisis, y procesamiento de la información que ha sido adquirida durante el proceso de aprendizaje⁹³. En este mismo sentido, Jonh, E. R. (1967) propuso que la memoria debe de estar difusamente distribuída en muchas áreas del cerebro; es decir, cualquier neurona particular puede participar en el almacenamiento de memorias específicas de una manera probabilística. La resolución de una tarea compleja como la resolución de un laberinto depende de muchos tipos de información (visual, espacial, olfativa, etc.) y cada tipo de información está localizada y es procesada por separado. Así, las regiones cerebrales o unidades funcionales en las cuales la información es equitativamente distribuída quizás sean muy pequeñas. En este sentido, la memoria está localizada en sistemas cerebrales particulares que representan aspectos

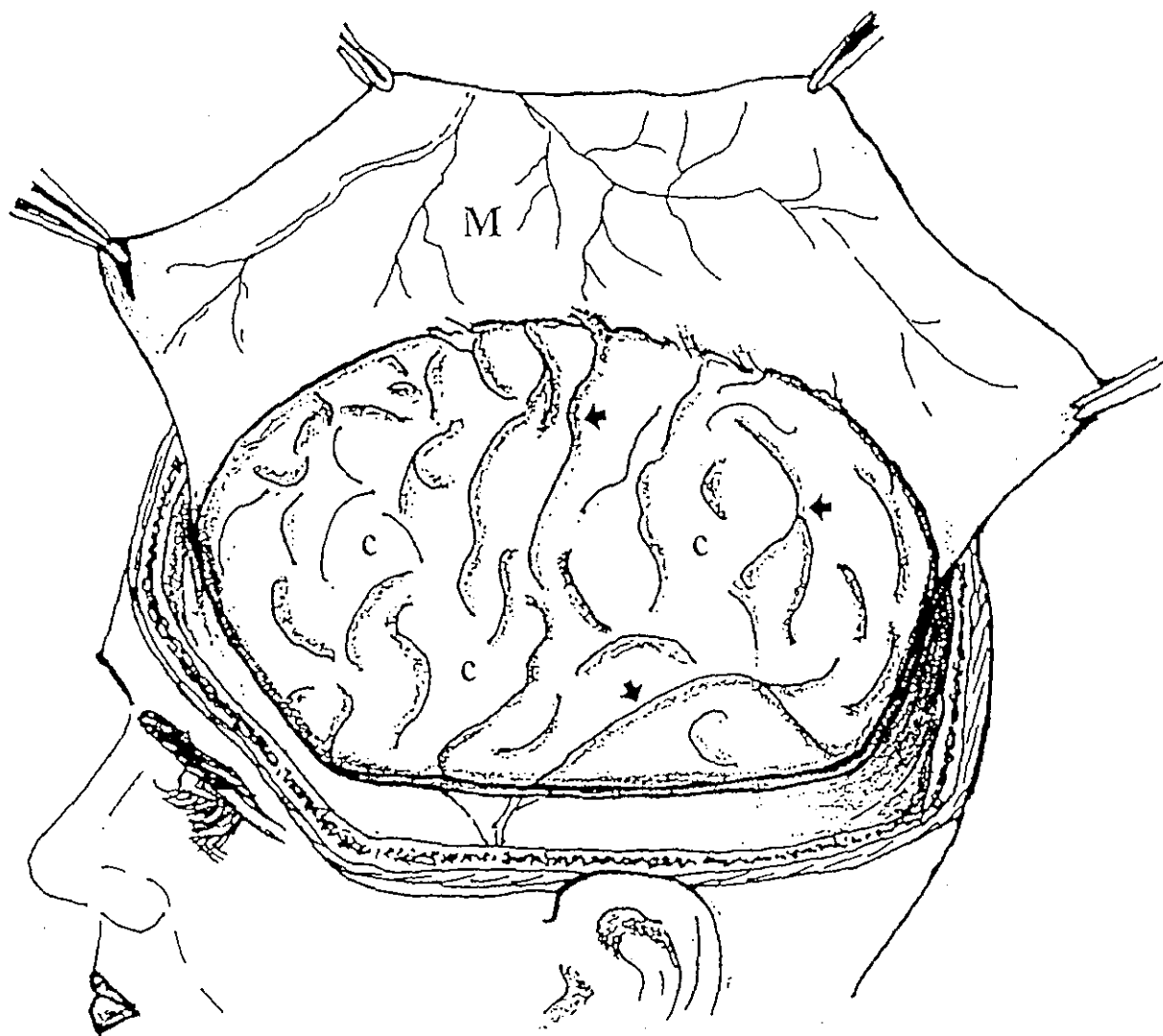
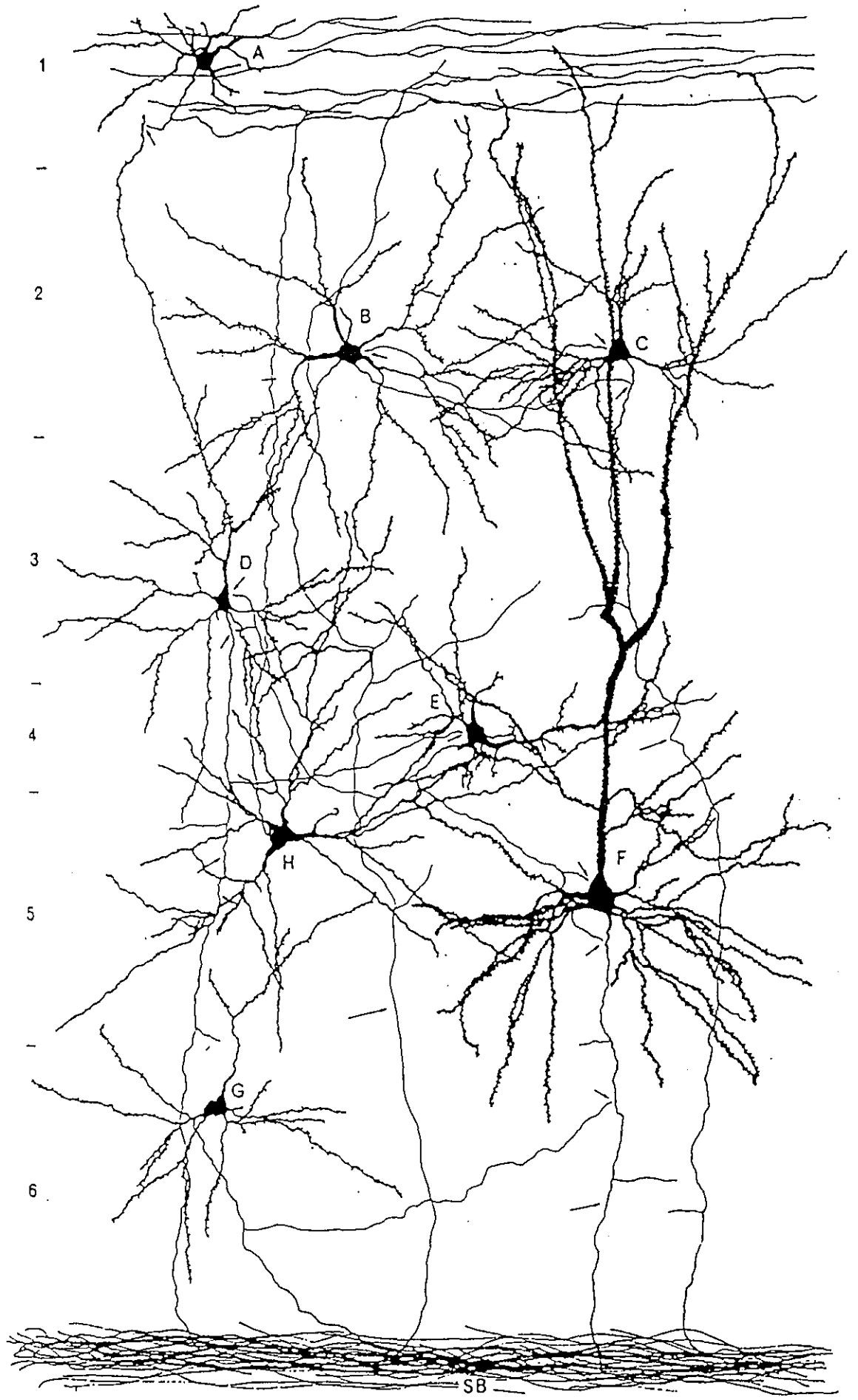


Fig. 3. Representación esquemática de una vista superficial del cerebro humano en la que se aprecian las circunvoluciones (c) y los surcos (flechas) de la corteza cerebral. M: meninges.

Fig. 4. Esquema citoarquitectónico de la estratificación de la corteza cerebral, la cual esta conformada por: células horizontales de Cajal (A), células granulares o estrelladas (B y E), neuronas piramidales (C, D y F), células de Martinotti (H) y células polimórficas (G); así como su estratificación en seis láminas o capas:

- 1) Capa molecular o plexiforme.
- 2) Capa granular externa ó de pirámides pequeñas.
- 3) Capa piramidal externa.
- 4) Capa granular interna.
- 5) Capa piramidal interna.
- 6) Capa de células polimórficas.

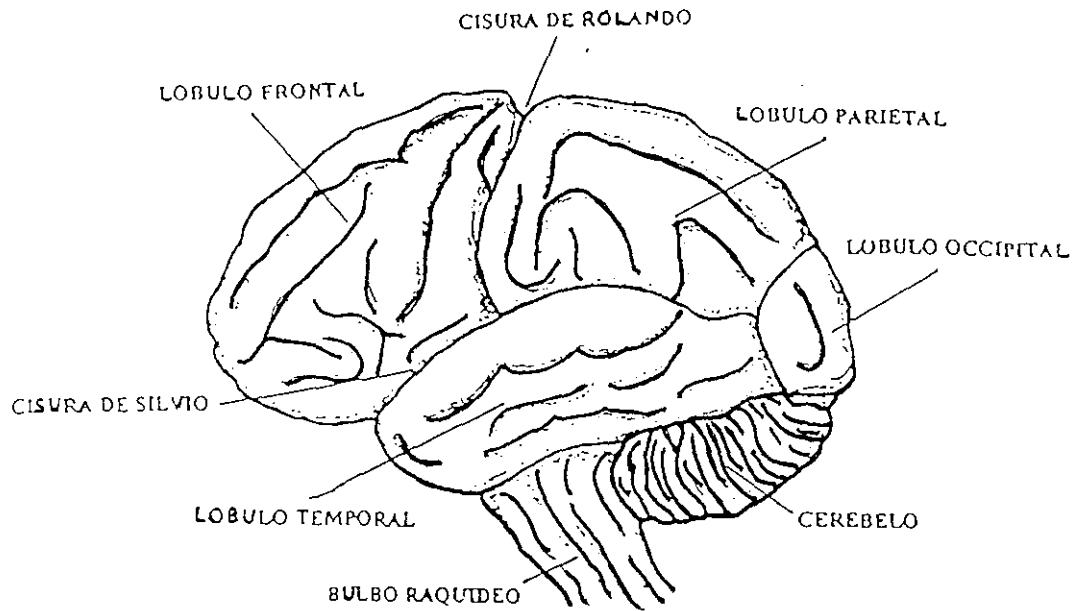
Flechas pequeñas: contactos sinápticos; flechas medianas: axones de proyección; flechas grandes: fibras aferentes a la corteza. Tomado de González-Burgos, 1992.



específicos de cada evento y es distribuída en el sentido de que muchos sistemas neurales participan en la representación de un evento global⁷⁷.

En cuanto a la organización de la MCP se ha reportado que la corteza cerebral prefrontal (CCPF) participa de manera preponderante^{14, 26, 30, 35, 48, 106, 109}. El aumento progresivo de las regiones frontales del cerebro constituye una de las tendencias evolutivas más importantes y en el hombre comprende aproximadamente un 25% del total de la corteza cerebral. Esto, aunado al hecho de su maduración tardía durante la ontogenia sugiere una enorme importancia de las regiones frontales en las formas más complejas del comportamiento y que son características distintivas de los niveles superiores de la evolución.

En los lóbulos frontales deben distinguirse zonas implicadas en la motricidad. En las mediaciones delanteras de la cisura central se sitúa el área motora primaria donde predominan células gigantes de Betz en la V capa, cuya función está relacionada con la expresión del movimiento voluntario. Delante de esta zona se encuentra el área premotora y se ha observado que alteraciones en ésta área conduce a la pérdida de movimientos automatizados. Rostralmente a ésta última, se encuentra la corteza frontal (o región prefrontal) que constituye una región terciaria de la corteza (Fig. 6), a la cual converge información procedente de distintos sistemas sensoriales; en consecuencia; se encuentra implicada en la integración de la información que converge en ella^{42, 64, 98}. 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. La información en ella procesada es transferida al área premotora y, 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.



B

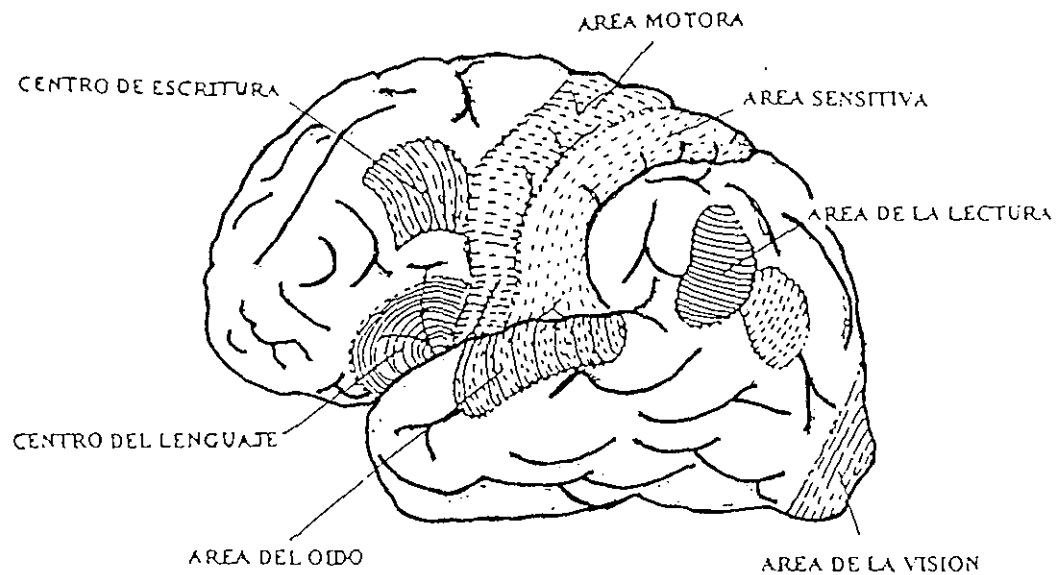
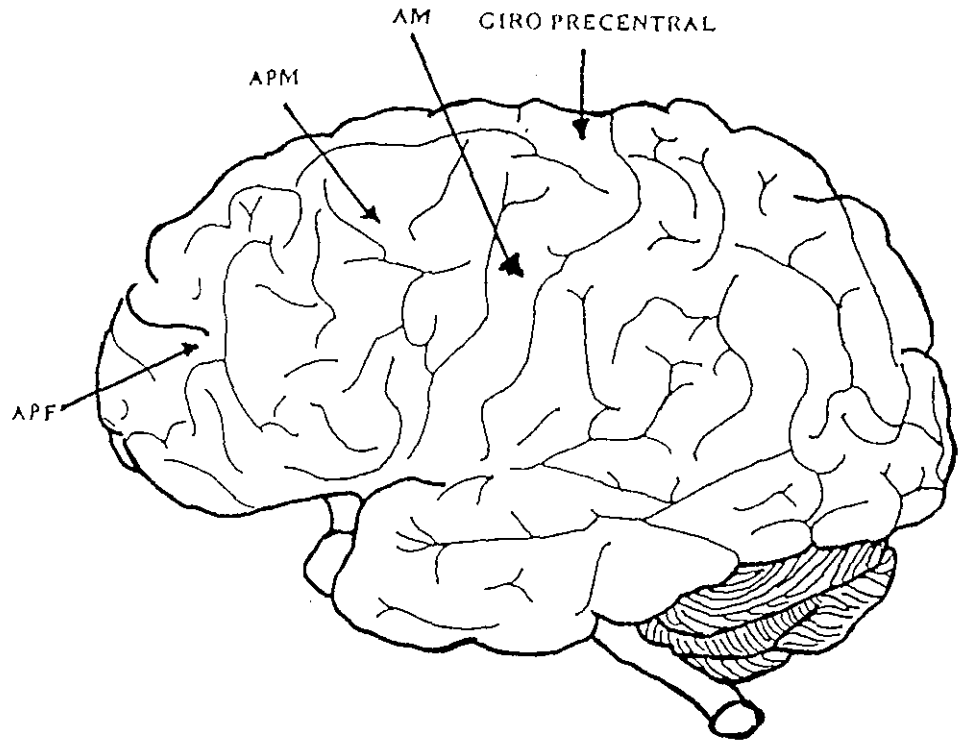


Fig. 5. Representación esquemática de los lóbulos en que se divide el cerebro humano (A) y la localización de diversas áreas funcionales de la corteza cerebral (B).

A



B

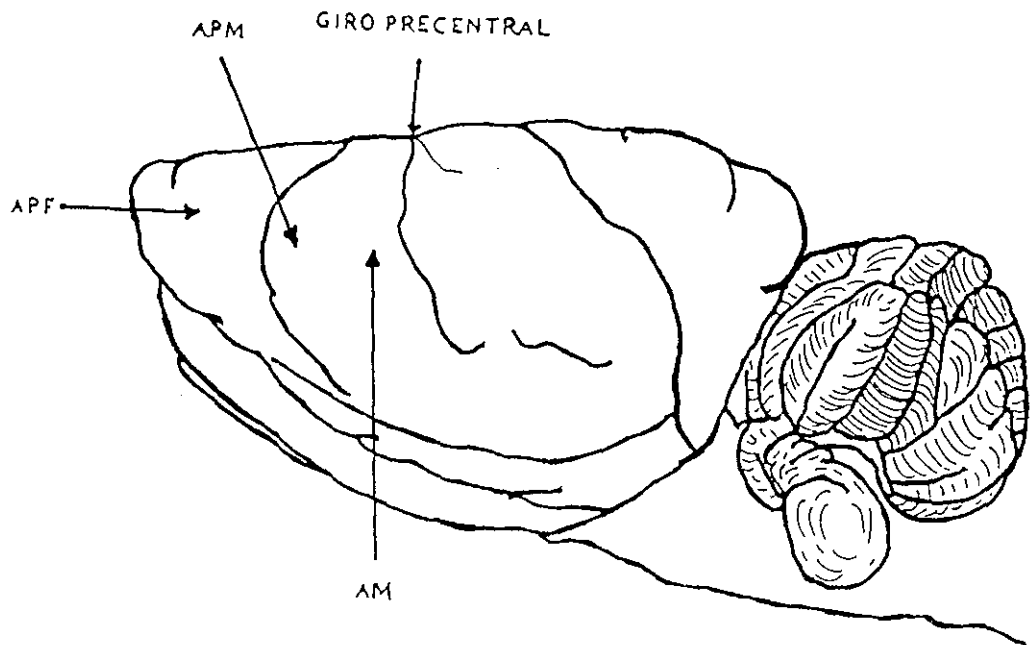


Fig. 6. Esquemas de un cerebro humano (A) y uno de rata (B) en los que se indica la localización topográfica del área prefrontal cortical (APF), del área premotora (APM) y del área motora (AM).

ANTECEDENTES

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^{14, 31}. 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^{14, 106}.

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^{14, 35}. 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; éste 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 coactivación 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 retraso⁹⁹. Así, el perfil de disparo de las neuronas prefrontales está relacionado con la función de registro, memoria y control motor^{14, 27-28, 31}.

De acuerdo a estudios neuroanatómicos la CCPF medial de la rata (Fig. 7) 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 tálamo³⁵. 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 rata¹⁰⁴. 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 conocida¹⁰⁴. Tanto el hipocampo como la CCPF juegan un importante papel en el desempeño de pruebas que demandan respuestas ordenadas temporalmente¹⁰⁴ y se ha podido inducir PLP en la CCPF después de la estimulación en el 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, en la rata, ejerce un papel crucial en pruebas que requieren un alto control de atención³⁵.

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^{27-28, 64}. Así mismo, integra e incorpora a las acciones motoras voluntarias la "carga" emocional organizada y emanada del sistema límbico^{28, 64}. Adicionalmente, interviene

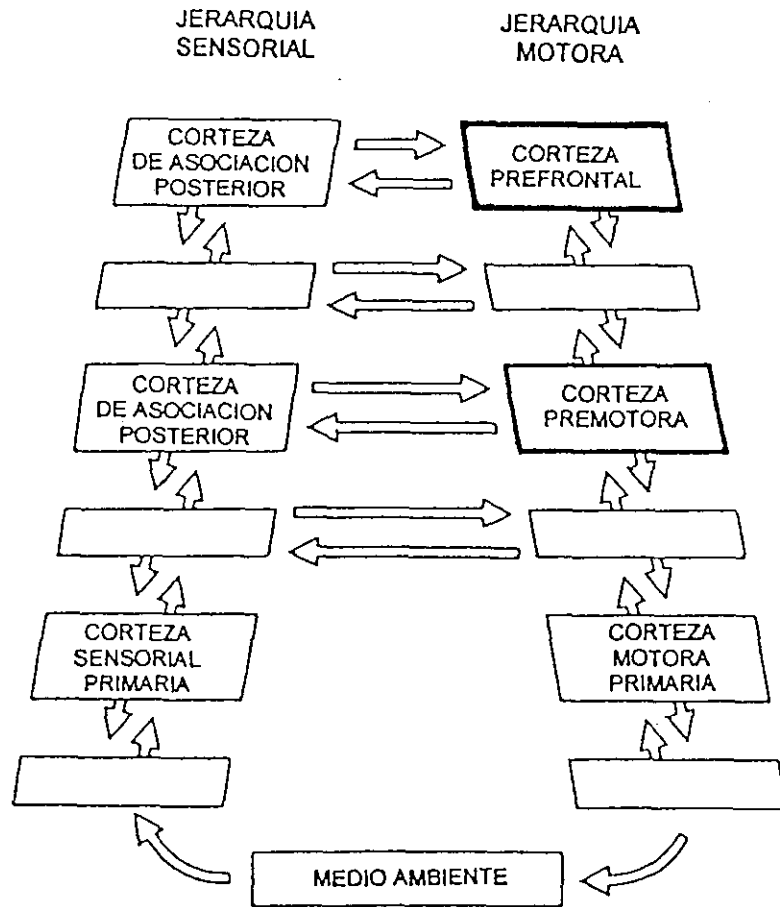
en la seriación temporal de las acciones encaminadas a resolver tareas que requieren de la orientación espacial⁷⁶, en el pensamiento lógico, así como la organización del aprendizaje y la MCP^{27-28, 59}.

La función integrativa del orden temporal seriado por parte de la CCPF esta basada en la interacción local de circuitos "ordenadores" de los actos motrices consecuentes^{27-28, 75}.

La CCPF está profusamente conectada con diversas regiones cerebrales. Establece conexiones recíprocas con áreas límbicas y corticales, ipsi- y contralateralmente^{27-28, 64}. Por otro lado, en las áreas prefrontales confluyen una gran diversidad de fibras provenientes prácticamente de todas las áreas corticales²⁷⁻²⁸ y extrapiramidales (Fig. 8); por lo que esta zona neural está involucrada en la integración de la información sensorial y en la organización de los esquemas de las respuestas motoras acordes a las demandas ambientales a las que el individuo se ve sometido²⁷⁻²⁸. Esto ocurre en virtud de las conexiones sinápticas que la CCPF establece con el área premotora y ulteriormente con el área motora; mediante fibras de asociación procedentes de las neuronas piramidales fundamentalmente de la tercera capa cortical^{59, 64}. Del área motora, las neuronas piramidales gigantes de la quinta capa 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 serialmente organizados y se establezcan patrones de respuesta motriz adecuados⁴² (Figs. 8 y 9).

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, ésto 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 cognoscitivas⁵⁹. Debido a la fina remodelación y diferenciación, así como a su topografía y conexiones que establecen, se ha

A



B

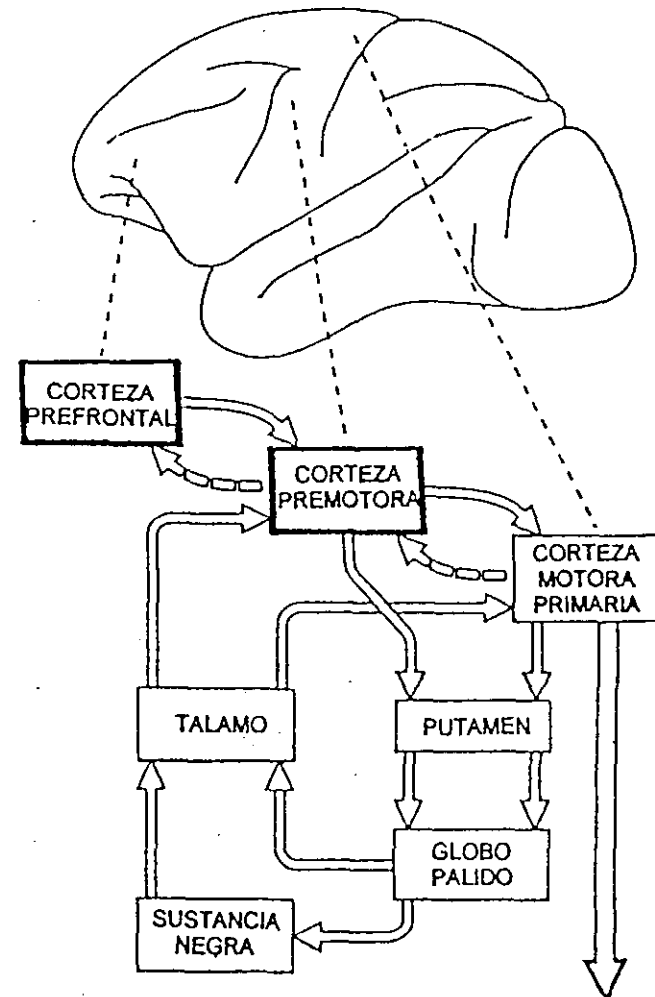


Fig. 8. Diagrama esquemático del flujo de información cortical en el ciclo percepción-acción, en primates. En A se esquematiza el flujo de información cortical y se aprecia la estrecha relación entre la corteza de asociación posterior -en la que converge la información sensorial procedente del ambiente- y la corteza prefrontal en la que se organizan las acciones motrices consecuentes. En B se aprecia la jerarquía motora frontal y el nivel de influencia de sus conexiones subcorticales. Tomado de Fuster, 1993.

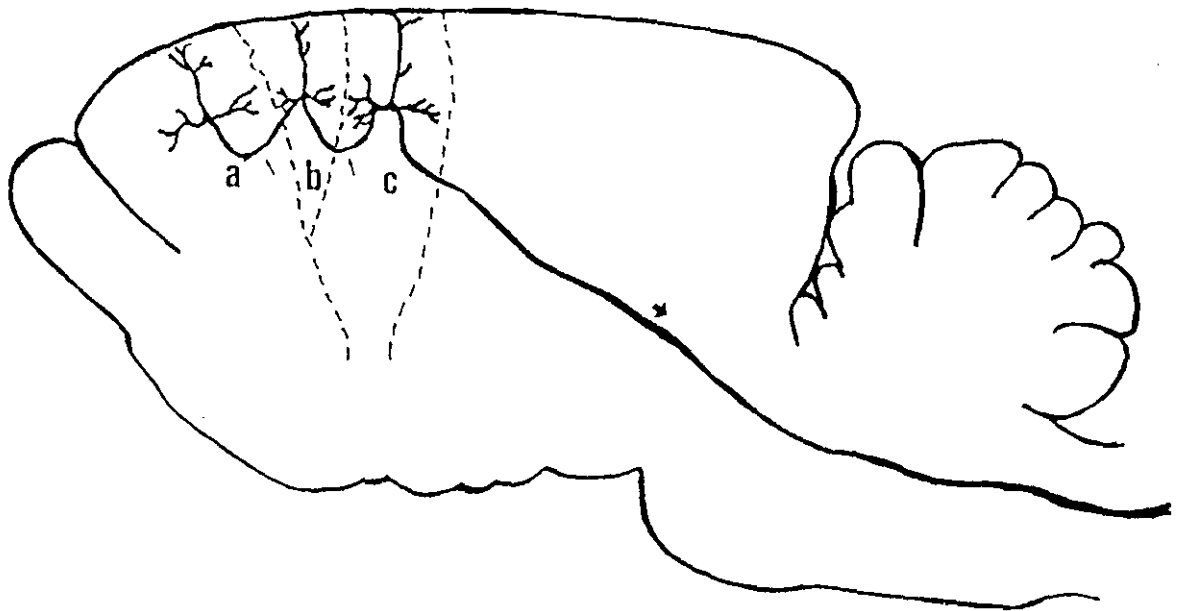


Fig. 9. Representación esquemática de las conexiones (flechas pequeñas) entre la corteza prefrontal (a), la corteza premotora (b) y la corteza motora (c) en el cerebro de rata; así como la salida de la información a través de la vía piramidal (flecha gruesa).

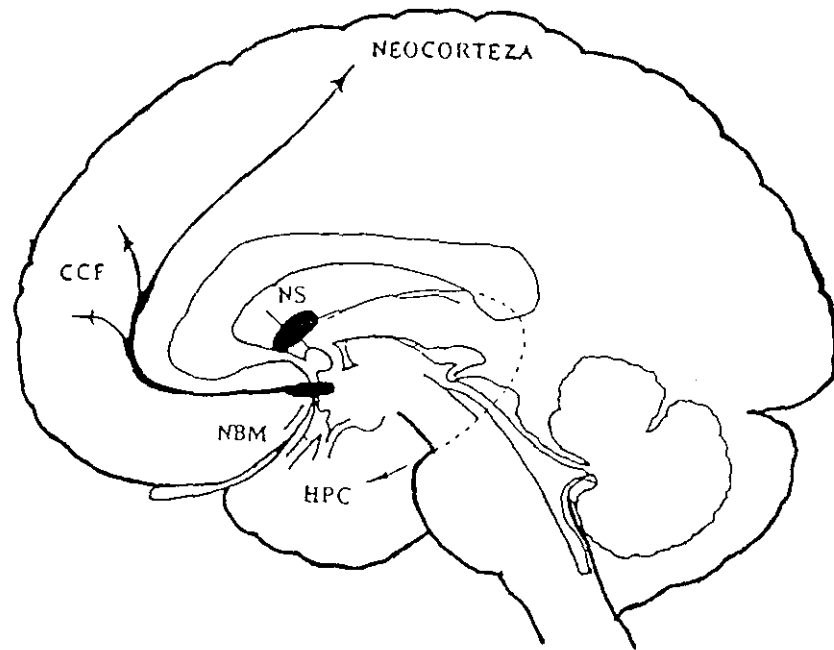
propuesto que las neuronas piramidales de la capa III (Figs. 1 y 10) son las células directamente relacionadas con el procesamiento prefrontocortical de funciones cognoscitivas⁵⁹.

En el desarrollo de la CCPF del humano, las etapas de intenso desarrollo dendrítico coincide 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 dendrítico⁵⁹. Por otro lado, experimentos realizados con programas computacionales de sistemas neurales con los que se caracterizó anatómicamente una célula piramidal neocortical para estudiar la conducta integrativa de un árbol dendrítico complejo, mostraron que cuando las aferencias sinápticas excitatorias a una neurona piramidal que activan canales tipo NMDA dependientes de voltaje, establecen en varias regiones dendríticas concentradas las células responden más intensamente que cuando están dispersas a través de todas las ramificaciones dendríticas y, que un factor directamente implicado y determinante en la selectividad de la respuesta neuronal es el orden espacial de las conexiones sinápticas aferentes al árbol dendrítico⁵⁶.

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^{97, 100}. En éste sentido, la corteza cerebral se encuentra densamente inervada por diversos sistemas de neurotransmisión de entre los cuales, a partir de trabajos tanto clínicos como experimentales, se ha llegado a la conclusión de que el sistema colinérgico esta involucrado de manera importante en el proceso de memoria^{52, 83}. Este sistema inerva densamente a la corteza cerebral y, particularmente, a la zona prefrontal mediante aferencias provenientes del núcleo basal magnocelular (NBM)^{70, 79, 83 - 84} (Fig. 11). Las terminales



Fig. 10. Impregnación argéntica de una neurona piramidal de la 3ª capa de la corteza cerebral prefrontal de la rata, en la que se aprecia el soma (cabeza de flecha) del que emerge una dendrita apical (flecha gruesa) y las dendritas basales (asteriscos). Así mismo, la propia dendrita apical se bifurca para dar lugar a varias dendritas oblicuas (flechas pequeñas). Método de Golgi modificado. Escala: 130 μm .



B

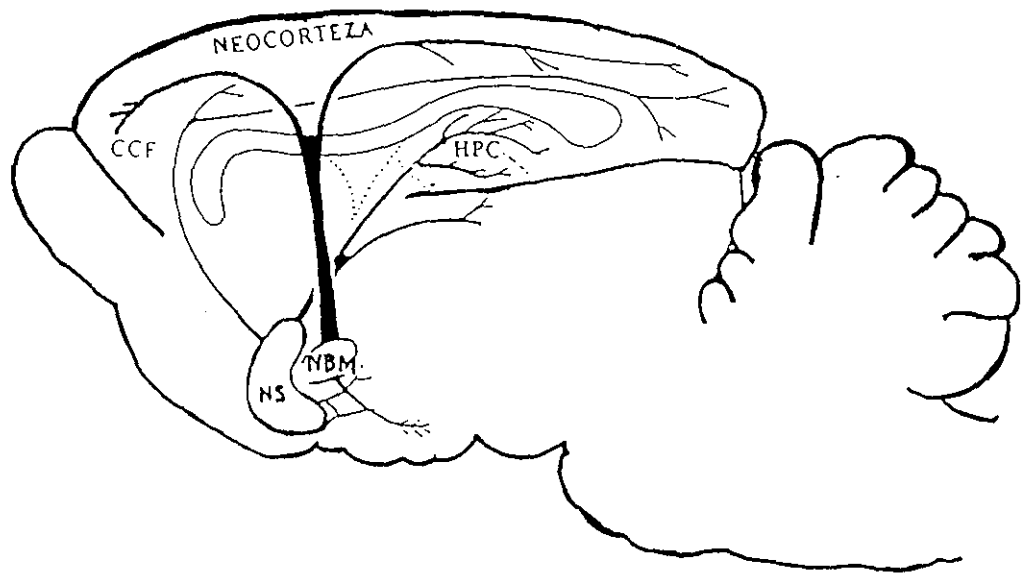


Fig. 11. Inervación colinérgica en el cerebro humano (A) y en el cerebro de rata (B). El núcleo septal (NS) envía fibras hacia el hipocampo (HPC), mientras que la corteza cerebral frontal (CCF) es inervada por el núcleo basal magnocelular (NBM).

colinérgicas muestran una marcada distribución laminar en muchas áreas corticales. 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 VI⁷⁰. En el humano, al parecer el establecimiento de la organización cortical normal prosigue a una reorganización estructural y de inervación de neurotransmisores. El mayor cambio histoquímico es la aparición de la inervación 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 normal⁵¹. Se ha reportado que los niveles de acetilcolina (ACh) se encuentran elevados en animales que estuvieron expuestos a ambientes enriquecidos, así como en animales naturalmente eficientes para resolver laberintos⁸³. Así mismo, existen evidencias de que a partir de la administración de antagonistas a receptores de ACh, o bien, de la lesión de las vías colinérgicas se producen deficiencias en la ejecución de pruebas tanto de aprendizaje como de memoria⁸¹. Por otro lado, hay evidencias clínicas de que en algunas neuropatologías en las que se asocian alteraciones en la memoria, como el Síndrome de Alzheimer, los niveles de ACh cerebral se encuentran disminuídos⁴⁵; además, se ha observado que cuando se administran agonistas de ACh ó anticolinesterasicos dichas deficiencias se ven atenuadas⁴⁵.

Existen evidencias que indican que la actividad eléctrica cortical es modulada por la interacción de los sistemas colinérgico y serotoninérgico, correlativamente con la expresión conductual de diversos procesos como el aprendizaje y la memoria, en los cuales ambos sistemas de neurotransmisión han sido involucrados de manera interactiva^{80, 84-85}. El

sistema serotoninérgico inerva la corteza cerebral mediante fibras provenientes de los núcleos del rafé^{53, 67}. 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^{53, 67} (Fig. 12). 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 occipital⁶⁷. Todas las capas de la CCPF reciben una densa inervación por parte del NRD⁵³; así, las fibras serotoninérgicas parecen estar en una posición ideal para ejercer una importante influencia sobre la actividad de la corteza cerebral¹⁰².

Existen evidencias de la participación de la serotonina (5-HT) en diversas funciones integrativas corticales relacionadas con su expresión conductual¹⁰²⁻¹⁰³. Se sabe que terminales nerviosas serotoninérgicas se localizan en sitios de contacto sináptico, así como a manera de terminales libres⁵⁵. Evidencias electrofisiológicas indican que la 5-HT regula la excitabilidad de neuronas corticales y modula su respuesta a otras aferencias tales como las fibras colinérgicas a manera de contactos inhibitorios presinápticos tanto en el hipocampo como en la corteza cerebral¹⁰⁸.

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^{67, 106, 108}. Una posible base fisiológica para tan amplio espectro de participación de la 5-HT en el control de la conducta es sugerida por evidencias experimentales en el sentido de que proyecciones

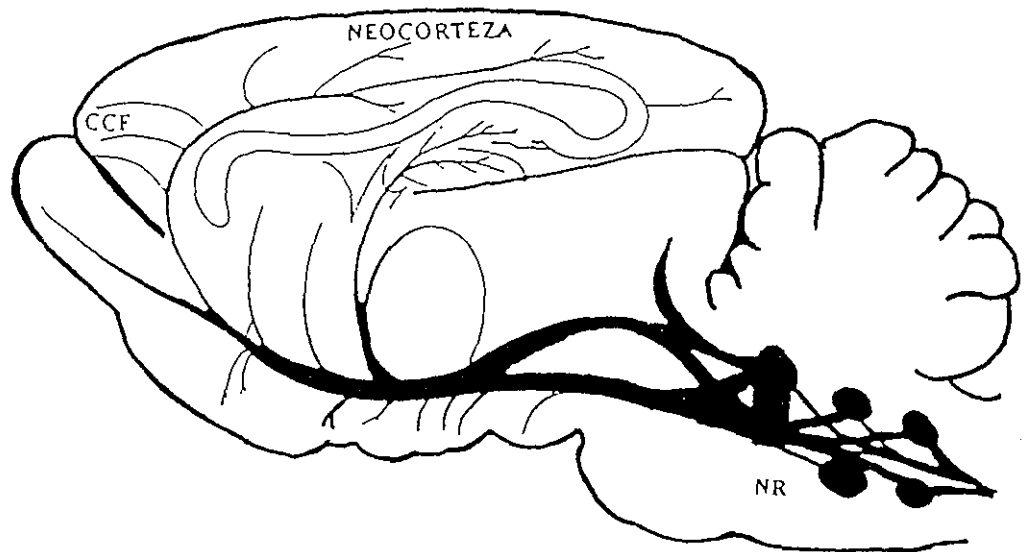
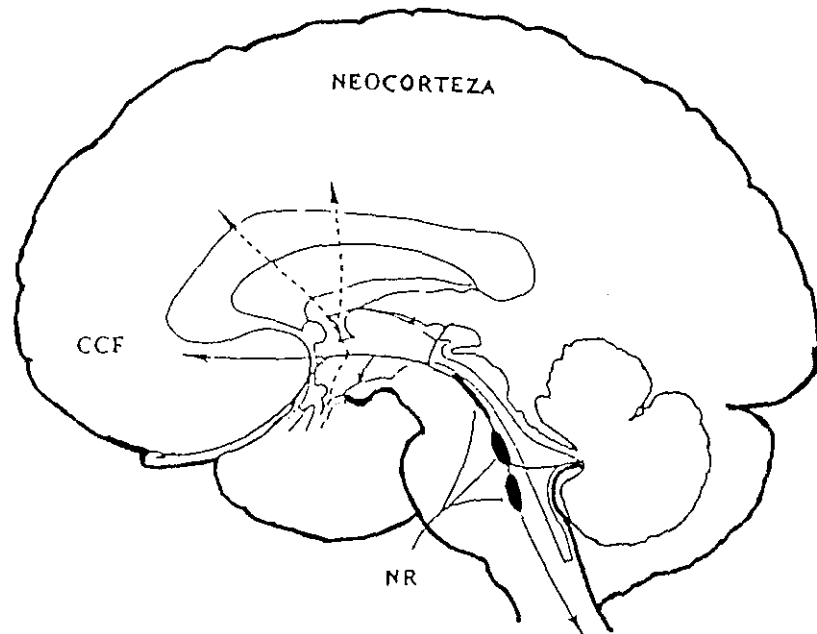


Fig. 12. Diagrama de la innervación serotoninérgica en el cerebro humano (A) y en el cerebro de rata (B), la cual se origina en los núcleos del rafé (NR) localizados en el tallo cerebral. La corteza cerebral frontal (CCF) recibe innervación predominantemente del núcleo dorsal del complejo del rafé.

serotoninérgicas ascendentes desempeñan un papel general en la regulación de la actividad de ondas lentas y en el patrón correlacionado de disparo neuronal a través de la corteza cerebral¹⁰². Estudios clínicos han sugerido 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 los niveles de este neurotransmisor así como de sus receptores se encuentran disminuídos en primates y humanos de edad avanzada, así como en cerebros de sujetos que en vida padecieron demencia tipo Alzheimer³⁶. Por otro lado, se ha observado que la deficiencia de 5-HT causa amnesia en pacientes que presentan psicosis de Korsakoff⁵⁵.

Diversos datos involucran al sistema serotoninérgico en la actividad de otros sistemas de neurotransmisión. Por medio de receptores presinápticos 5-HT_{1A} o los receptores 5-HT₄, la 5-HT facilita la liberación de ACh en condiciones fisiológicas, en tanto que ésta es inhibida por la activación de los receptores 5-HT₃^{8, 15}. Además, los receptores 5-HT_{1A} inhiben la acción hiperpolarizante tónica de la 5-HT endógena sobre neuronas piramidales glutamatérgicas¹¹; al parecer esta modulación serotoninérgica no es directa, sino que ocurre a través de interneuronas⁸.

Existe una gran cantidad de estudios clínicos y experimentales en los cuales se reporta que la interacción del sistema serotoninérgico y colinérgico es indispensable para la adecuada manifestación conductual de diversas pruebas de aprendizaje y memoria¹¹². Se desconoce si durante el aprendizaje ocurre una interacción entre la 5-HT y la ACh en condiciones fisiológicas, aunque existen datos que muestran que la lesión del NRD aumenta el recambio colinérgico; lo que sugiere que existe una influencia inhibitoria serotoninérgica sobre la ACh en zonas como el hipocampo, la corteza cerebral y el cuerpo estriado^{23, 61, 90}. En estudios experimentales recientes se han examinado los efectos de la manipulación farmacológica simultánea de ambos sistemas sobre pruebas de aprendizaje y memoria; cuando se aplican fármacos que reducen selectivamente los niveles de 5-HT

no se encuentran alteraciones significativas en la realización de pruebas de aprendizaje y memoria⁸¹; 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 rafé⁸¹. Por otro lado, el abatimiento de los niveles 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 altera la realización de la prueba^{55, 80}. Los datos antes mencionados indican la importante relación entre estos dos sistemas de neurotransmisión en procesos de aprendizaje y memoria aunque no demuestran una relación consistente acerca del mecanismo mediante el cual esta relación se manifiesta.

Las neuronas colinérgicas del NBM y las serotoninérgicas del rafé tienen proyecciones que convergen interactivamente en la neocorteza⁸⁷, esto es, las terminales serotoninérgicas establecen contactos presinápticos con las terminales colinérgicas^{78, 81, 112}; 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^{22, 81, 83, 86}. Evidencias electrofisiológicas recientes indican que las proyecciones serotoninérgicas actúan conjuntamente con aquellas colinérgicas procedentes de la base del cerebro anterior, lo que da por resultado una regulación conjunta de la actividad del disparo neuronal en la corteza cerebral⁹⁶⁻⁹⁷. Existen reportes en los que se midió la concentración y la liberación de 5-HT y ACh en cerebros de animales sometidos a pruebas experimentales y los resultados indicaron que ambos sistemas son mutuamente inhibitorios^{80, 86}. Sin embargo, 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 parte de fibras colinérgicas provenientes del NBM y viceversa¹⁸.

Particularmente referidos al sistema serotoninérgico, los datos sobre el efecto de la 5-HT sobre el aprendizaje y la memoria son inconsistentes. Por ejemplo, se ha reportado 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, el tratamiento en roedores con antagonistas a 5-HT generalmente produce una mejora en la memoria; sin embargo, existen reportes de que, bajo condiciones similares ocurre un deterioro⁵⁵. No obstante la inconsistencia de los datos, en general la mayor cantidad de evidencias indican 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 mejora⁷⁹. Así mismo, 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 memoria⁸⁰ y, de manera semejante, cuando se estimula eléctricamente el NRD los procesos de memoria se interrumpen⁸⁶. Sin embargo, existen reportes en los que se aplicaron inhibidores de la recaptura de 5-HT en terminales nerviosas presinápticas (lo que aumenta la transmisión serotoninérgica por la elevación en su concentración) y se observó que se mejora notoriamente la realización de tareas mnémicas, tanto en animales como en humanos⁵⁵.

En estudios realizados en nuestro laboratorio mostraron que la administración crónica de una dieta restringida en triptofano (precursor de la 5-HT) a ratas, deterioró la realización de pruebas de aprendizaje espacial⁶⁸ y correlativamente con ello se observó una disminución significativa en el número de espinas dendríticas del campo CA1 del hipocampo, región cerebral que se sabe participa de manera importante en la organización de dicha cualidad psiconeural⁷⁴. Sin embargo, en animales sometidos al mismo esquema de restricción de triptofano en la dieta el desempeño de una tarea que requería de los animales la evocación de información adquirida en el corto plazo fue más eficiente³⁴, correlativamente con un incremento en la longitud dendrítica y en el

número de espinas de neuronas piramidales de la CCPF³³. Sin embargo, dado que tal restricción fue generalizada, resulta poco consistente el atribuir los efectos observados únicamente al abatimiento de los niveles de 5-HT a nivel estrictamente prefrontocortical.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los procesos de aprendizaje y memoria de corto plazo se encuentran estrechamente vinculados en su organización psiconeural, así como en su manifestación conductual. En la organización del proceso de memoria de corto plazo está involucrada de manera preponderante la actividad de la corteza cerebral prefrontal, la cual se encuentra densamente inervada por fibras colinérgicas cuya participación en los procesos de aprendizaje y memoria ha sido ampliamente reportada. La actividad colinérgica cortical es regulada mediante diversos mecanismos neurales, entre los que destaca la transmisión serotoninérgica proveniente del complejo del rafé, y es sabido que tal interacción neuroquímica es indispensable para la adecuada manifestación conductual de dichos procesos. A partir de lo anterior y de evidencias, tanto clínicas, como experimentales, en estudios farmacológicos agudos, resulta claro que, por una parte, la serotonina participa de manera importante en la organización de ambos procesos cognoscitivos y, por la otra, que los datos hasta ahora reportados son ambiguos y por ende, aún inconsistentes.

HIPOTESIS

Si la corteza cerebral prefrontal participa en la codificación de la información sensorial para la organización de la memoria de corto plazo y si la inducción experimental de la actividad serotoninérgica disminuída de forma generalizada produce un desempeño más eficiente en pruebas de memoria de corto plazo; entonces la lesión selectiva de las aferencias serotoninérgicas rafé-frontocorticales producirá un incremento en la eficiencia del desempeño de tales pruebas conductuales, concomitantemente a modificaciones en la citoarquitectura de las neuronas de la corteza cerebral prefrontal involucradas en la organización de dicho proceso cognoscitivo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la participación de la inervación serotoninérgica prefrontocortical en la organización de la memoria de corto plazo, en la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES

a) Evaluar conductualmente la memoria de corto plazo, en ratas con lesión del núcleo del rafé dorsal.

b) Cuantificar las modificaciones en la citoarquitectura de neuronas piramidales de la tercera capa de la corteza cerebral prefrontal.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 31 ratas hembra de 200-250 g de peso de la cepa Sprague-Dawley, las cuales fueron mantenidas a 25°C, con ciclos normales de luz-obscuridad de 12 x 12 h (07:00-19:00) con alimento y agua a libre acceso.

Al inicio del estudio los animales fueron sometidos a una prueba conductual para evaluar la MCP en una habitación aislada del ruido externo entre las 14:00 y 16:00 h y, en presencia de señales visuales externas fijas y constantes, fueron colocados en el punto inicial del laberinto de "Biel"¹⁰⁵ de piso firme (con paredes de color blanco de 20 cm de alto) (Fig.13). 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 había sido retirada de su jaula de mantenimiento. Una vez que el animal hubo ingerido unas gotas de agua, el recipiente les fue retirado inmediatamente y los animales eran regresados nuevamente a su jaula de mantenimiento. Se registró el tiempo empleado en recorrer el laberinto así como el número de errores cometidos, por intento; fue considerado "error" cuando la cabeza y las extremidades delanteras del animal invadían cualquiera de los puntos ciegos del laberinto. Entre intento e intento se dieron 30 segundos de intervalo y los registros se realizaron por observación directa y manualmente; a partir de un índice de confiabilidad superior al 0.90 ($\#$ de aciertos \div $\#$ de aciertos + $\#$ de desaciertos), los registros fueron realizados por dos observadores.

Al término de las pruebas conductuales se conformaron tres grupos de animales. A aquellos del grupo experimental (E; n = 11) se les produjo una lesión por vía estereotáxica en la región anteroventral del NRD⁷¹ en las siguientes coordenadas: antero-posterior a Bregma, 8.0 mm; lateral, 2.0 mm; profundidad, 7.2 mm, y; angulación, 19°. Se inyectaron 0.5 μ l de una

solución compuesta de: 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de 5,7- dihidroxitriptamina y ácido ascórbico al 0.1% en NaCl al 0.9%⁸⁵. Un grupo control (C; n = 11) fue sometido a la cirugía y se aplicó la misma solución vehículo en el sitio cerebral correspondiente a las mismas coordenadas estereotaxicas, y; un grupo testigo (T; n = 9) no recibió ningún tratamiento. Treinta minutos antes de la cirugía, los animales de los grupos E y C recibieron una dosis de 50 mg/kg de peso de desipramina por vía intraperitoneal para proteger terminales noradrenérgicas⁸⁶, dado que la 5,7-dihidroxitriptamina es además tóxica para neuronas noradrenérgicas⁸⁶; en tanto que el estado de anestesia se indujo mediante la aplicación de 1 mg/kg de dehidrobenzoperidol 15 min. antes y 50 mg/kg de ketamina, por la misma vía.

Veinte días después de la cirugía³⁴, las ratas fueron sometidas nuevamente a la misma prueba conductual para evaluar las posibles modificaciones en la ejecución de la tarea. 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 Papanicolaou⁶³.

Los datos conductuales fueron comparados inter- e intragrupalmente. Para el análisis estadístico intergrupar de los errores cometidos se utilizó la prueba estadística no paramétrica de varianza de Kruskal-Wallis y la "U" de Mann-Whitney como prueba *post hoc*, en tanto que para el tiempo empleado para la resolución de la prueba se realizó un análisis paramétrico de varianza (ANOVA). Para el análisis intragrupal, se utilizaron las pruebas no paramétricas de varianza de Friedman y la *post hoc* de rangos señalados y pares igualados de Wilcoxon.

Al día siguiente de que se realizaron las pruebas conductuales, los animales fueron anestesiados con éter etílico anhidro y perfundidos por vía intracardiaca para realizar la fijación del cerebro. La solución lavadora se preparó con amortiguador de fosfatos (pH 7.4; 0.1 M), con 1000 UI/l de heparina sódica como anticoagulante 1 g/l de cloruro de procaína como vasodilatador²⁴, en tanto que la solución fijadora consistió de formaldehído al

4% en amortiguador de fosfatos. Se perfundieron aproximadamente 200 ml de cada una de las soluciones.

El encéfalo fué extraído y posfijado en formaldehído al 4% amortiguado en fosfatos y después de 24 h el NRD fue disecado. Posteriormente al procesamiento histológico de rutina, se realizaron cortes coronales seriados de 30 μm de espesor y éstos fueron teñidos con violeta de cresilo⁶³ para verificar la ubicación y la extensión del área lesionada (Fig.14).

El análisis citoarquitectónico se realizó de la siguiente manera: se disecó la porción dorsomedial de CCPF (Fig. 15) y los bloques de tejido fueron tratados mediante el método de Golgi modificado³². Se obtuvieron cortes coronales de 150 μm de espesor y se analizaron 5 neuronas piramidales de la 3ª capa cortical (ubicadas a una profundidad de entre 510 y 560 μm a partir de la superficie pial) por rata, de por lo menos 6 cerebros bien impregnados, por grupo. La densidad de espinas dendríticas fue cuantificada con la utilización de un ocular graduado y a 800X, de la siguiente manera: la dendrita apical, una oblícua, así como una basal principal, fueron divididas en tres segmentos iguales: proximal, medio y distal al soma; en la dendrita apical se cuantificaron las espinas dendríticas a lo largo de 50 μm mediales de cada uno de los tres segmentos, en tanto que de la dendrita oblícua así como de la basal principal se cuantificaron las espinas dendríticas de 50 μm del tercio medio. Por otro lado, con la utilización de un analizador de imágenes Carl Zeiss (Zeiss Image 3.0), de cada una de las neuronas consideradas para el estudio se midió su longitud lineal.

Para el análisis de la estructura geométrica de las espinas, tanto la dendrita apical como la oblícua y la basal principal, fueron "divididas" por mitad y se consideraron 50 espinas a partir del punto medio hacia el soma y otras 50 hacia la región distal al mismo, cuyo origen a partir de la dendrita progenitora fuera perfectamente visible. Con la utilización de un ocular

graduado y a 800X, las espinas fueron clasificadas y cuantificadas según su forma en: largas, gordas, anchas, ramificadas, en forma de hongo, ó dobles. Los datos correspondientes a las cuantificaciones morfológicas fueron analizados estadísticamente mediante el método de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba *post hoc* de Tukey.

- Puntos 'ciegos' considerados como ERRORES
- Inicio del trayecto
- Trayectoria correcta
- H₂O Final del trayecto

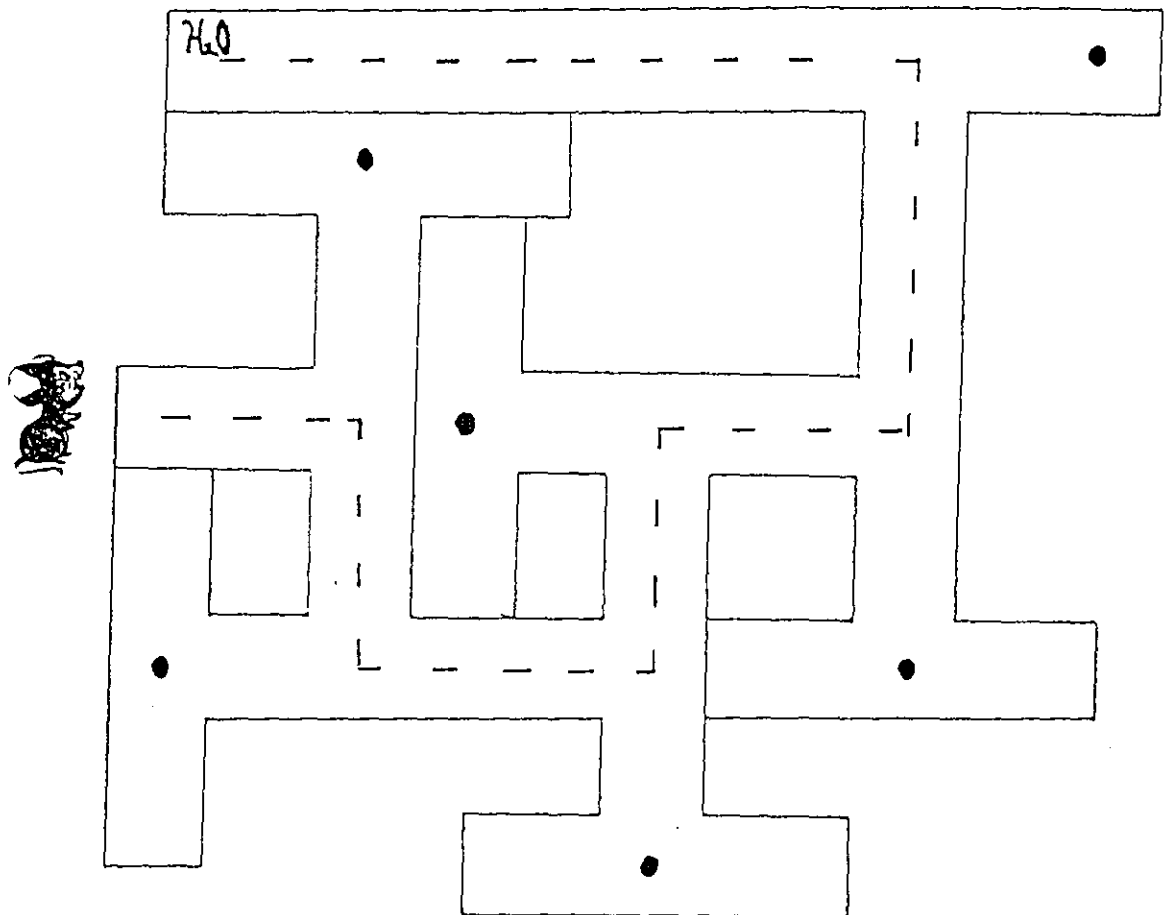


Fig. 13. Esquema del Laberinto de "Biel" utilizado para la realización de las pruebas conductuales de aprendizaje y memoria de corto plazo.

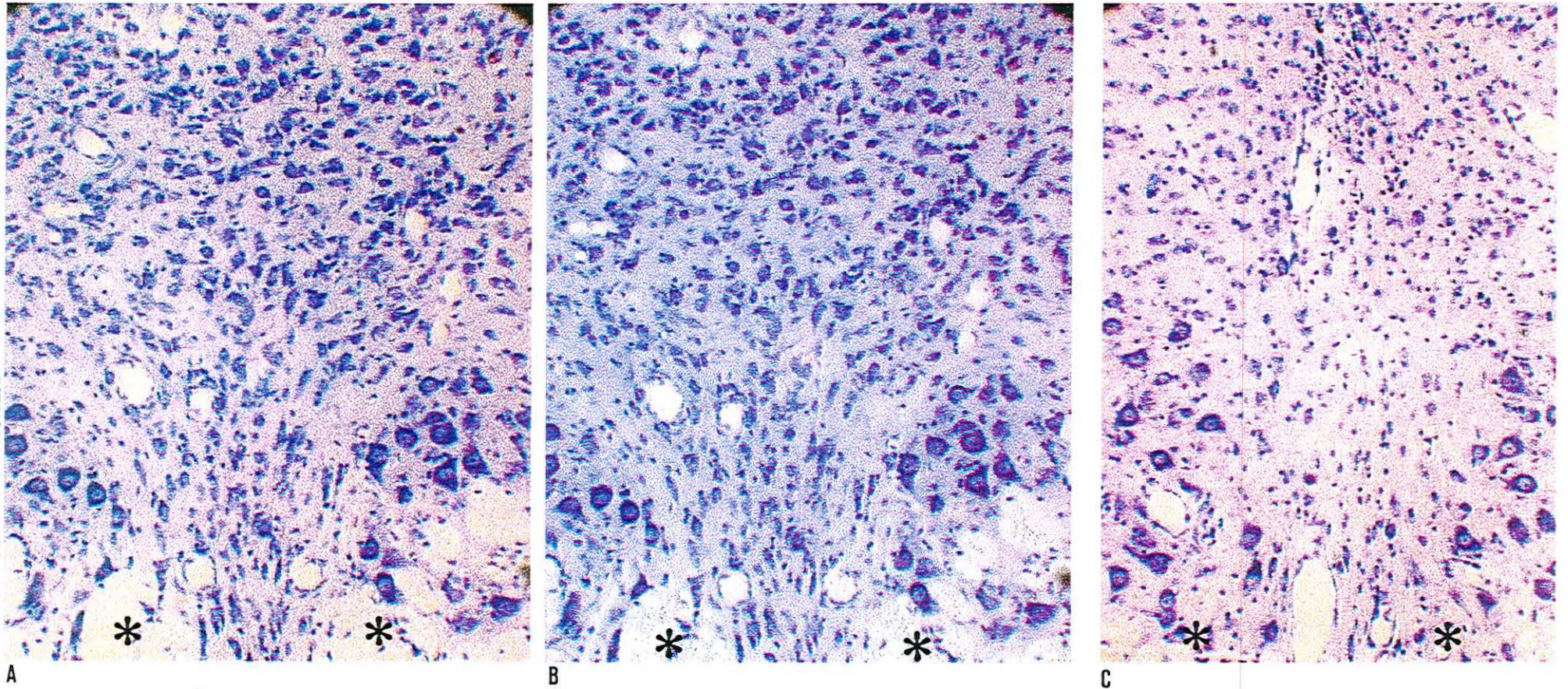


Fig. 14. Imágenes histológicas de cortes coronales del núcleo del rafé dorsal en los que se aprecian la histología normal en el grupo testigo (A); así como las características histopatológicas después de la microinyección de la solución vehículo en los animales control (B); ó después de la aplicación 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. Asteriscos: Fascículo longitudinal medial. Violeta de cresilo, 25X.

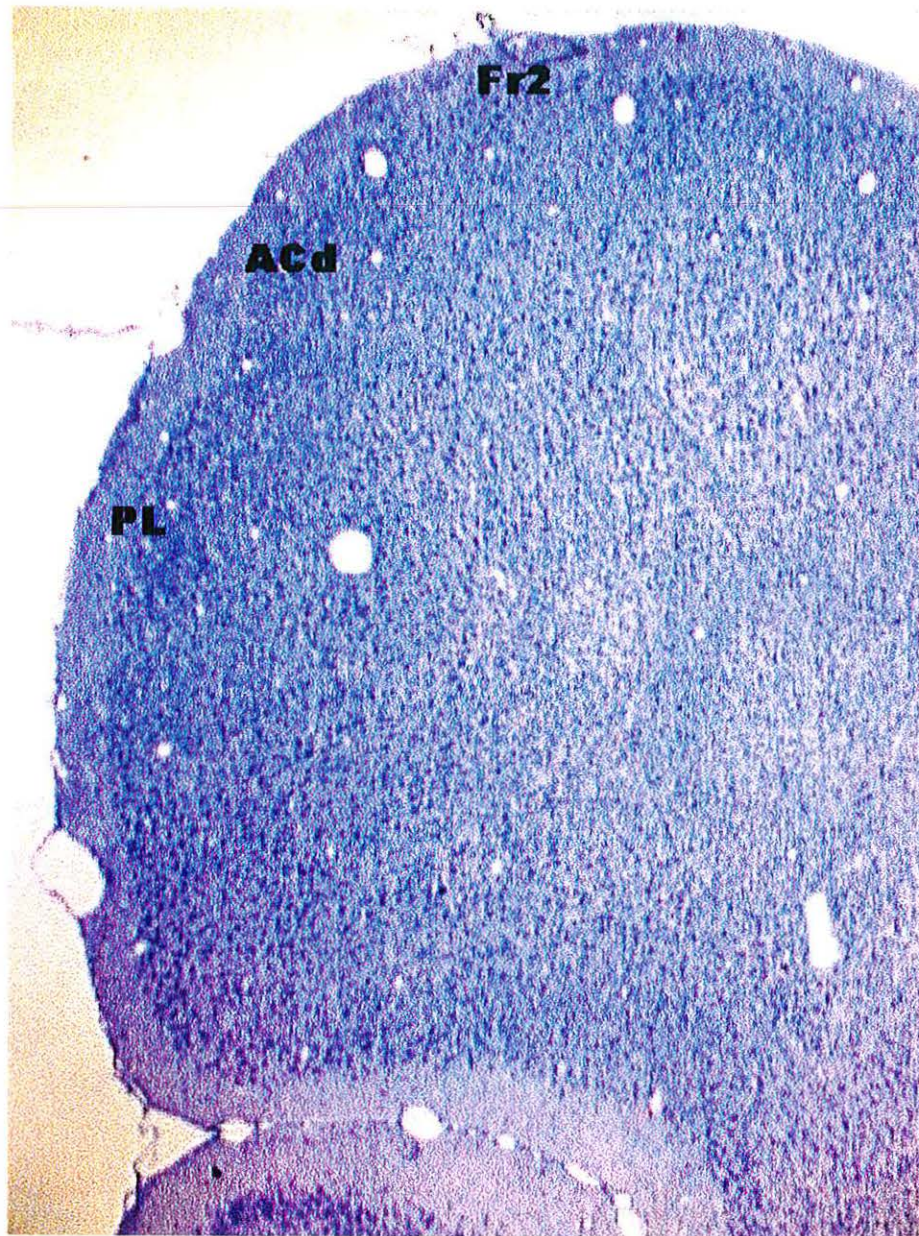


Fig. 15. Impresión micrográfica de un corte coronal del hemisferio cerebral izquierdo del cerebro de rata, en el que se muestran las regiones constituyentes del área cortical prefrontal dorsomedial, misma que fue elegida para la realización del análisis morfológico de las neuronas piramidales de la tercera capa. Fr2: área cortical prefrontal 2; ACd: corteza cingular anterior dorsal; PL: área prelímbica. Violeta de cresilo, 4X.

RESULTADOS

CONDUCTA

PRUEBA PRE-TRATAMIENTO

Análisis Intergrupar

No hubo diferencias significativas ni en el número de errores cometidos (Fig. 16) ni en el tiempo empleado (Fig. 19 A) para resolver la tarea entre ninguno de los tres grupos estudiados 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. 20).

PRUEBA POST-TRATAMIENTO

Análisis intergrupar

Al igual que en la prueba pre-tratamiento, no hubo diferencias significativas entre ninguno de los tres grupos tanto respecto al número de errores cometidos por intento (Fig. 17) como respecto al tiempo de resolución de la tarea (Fig. 19 B).

Análisis intragrupal

Los animales del grupo E cometieron menor número de errores a partir del 2º intento en comparación tanto con los del grupo T como con los del grupo C, los cuales hicieron lo propio a partir del 4º intento (Fig. 21).

ANALISIS INTRAGRUPAL ANTES VS DESPUES DEL TRATAMIENTO

Desde el 1º hasta el 5º intento, no hubo diferencias significativas en ninguno de los tres grupos, excepto en el 2º intento en el cual solo los animales del grupo experimental disminuyeron significativamente su número de errores (Fig. 18).

MORFOLOGIA

La longitud de las dendritica apical y basal de las neuronas piramidales de la tercera capa de la porción dorsomedial de la CCPF (Figs. 22 y 23) fue significativamente menor con respecto tanto al grupo C como al grupo T. Así mismo, la longitud de las dendritas oblicuas de las neuronas del grupo E fue significativamente menor únicamente con respecto al grupo C (Fig. 24), en tanto que en este último se observó que la longitud de la dendrita apical fue mayor con respecto al grupo T (Fig. 22).

La densidad de espinas dendríticas de estas mismas neuronas, en el grupo E fue mayor tanto en el tercio proximal de la dendrita apical como en las dendritas oblicuas, respecto al grupo T. Así mismo, se observo que el número de espinas en las dendritas basales de las neuronas tanto del grupo operado como del grupo lesionado fue mayor con respecto a las del grupo intacto (Tabla I).

En cuanto a la forma de espinas analizadas en dichas neuronas en la dendrita apical, las de hongo, anchas y largas no presentaron diferencias significativas entre ninguno de los tres grupos; sin embargo, el número de espinas dobles fue menor en el grupo E con respecto al T; lo mismo ocurrió con la forma ramificada en los grupos E y C. Por otro lado, la densidad de espinas gordas fue mayor en el grupo lesionado comparativamente con respecto a los otros dos grupos (Tabla II).

En las dendritas basales, el número de espinas tanto anchas como ramificadas de los grupos E y C fue menor con respecto al grupo T, contrariamente a lo ocurrido con las de forma larga en el grupo lesionado con respecto tanto a T como a C (Tabla III).

Finalmente, en la dendrita oblicua de las neuronas del grupo E, el número de espinas anchas y dobles fue significativamente menor en comparación con el grupo T. Por su parte, la densidad de espinas ramificadas de los grupos operado y lesionado fue menor en relación con el grupo intacto; y la cantidad de espinas largas en el grupo E fue mayor comparativamente con respecto al testigo, en tanto que no se registraron diferencias significativas en cuanto a las forma de hongo y gorda, entre ninguno de los tres grupos (Tabla IV).

Finalmente y a manera de corolario, en la figura 25 se ilustran diagramáticamente los resultados morfológicos y conductuales obtenidos para cada uno de los grupos estudiados y en forma comparativa.

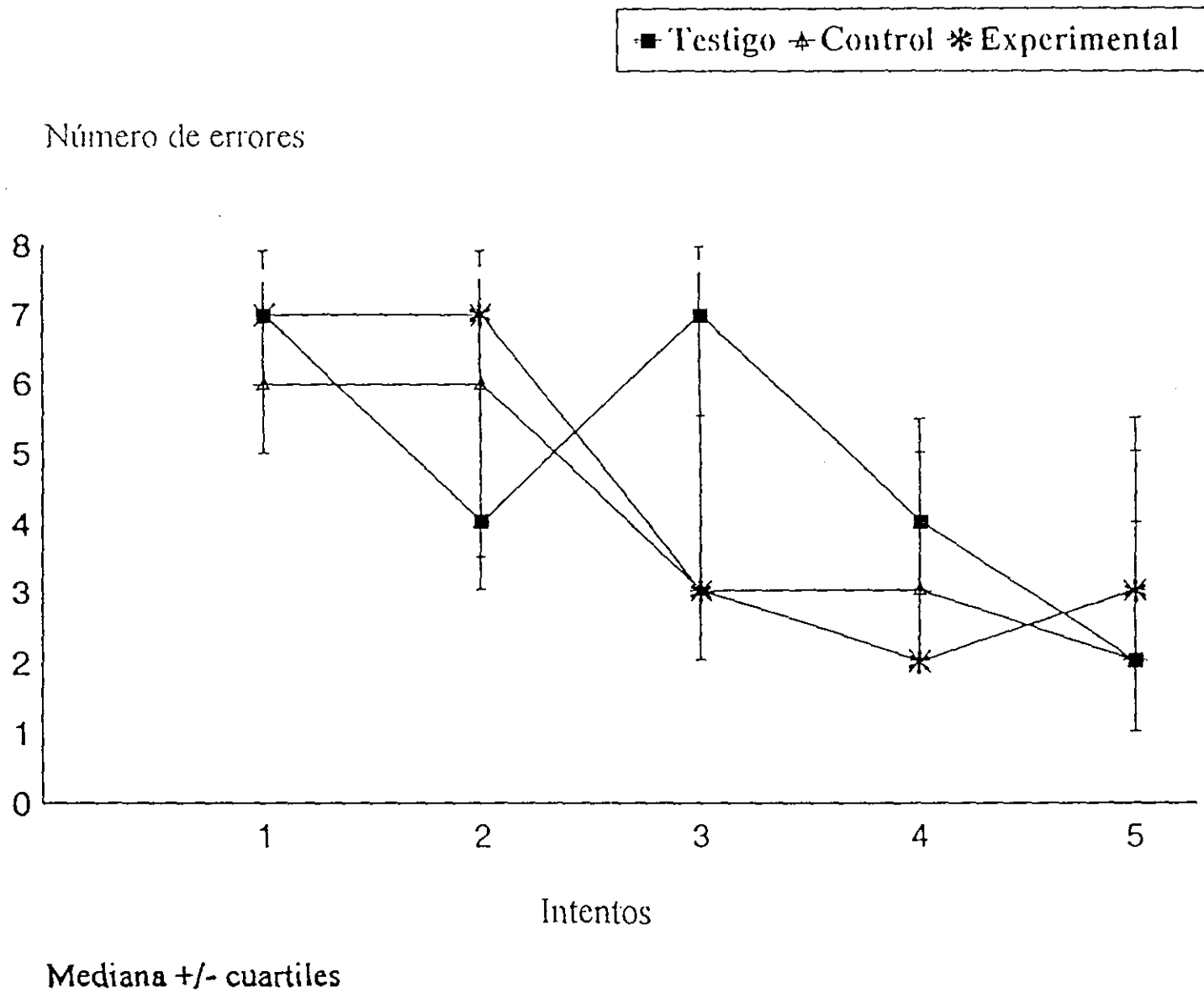


Fig. 16. Comparación intergrup al del número de errores cometidos durante la prueba conductual previa al tratamiento correspondiente.

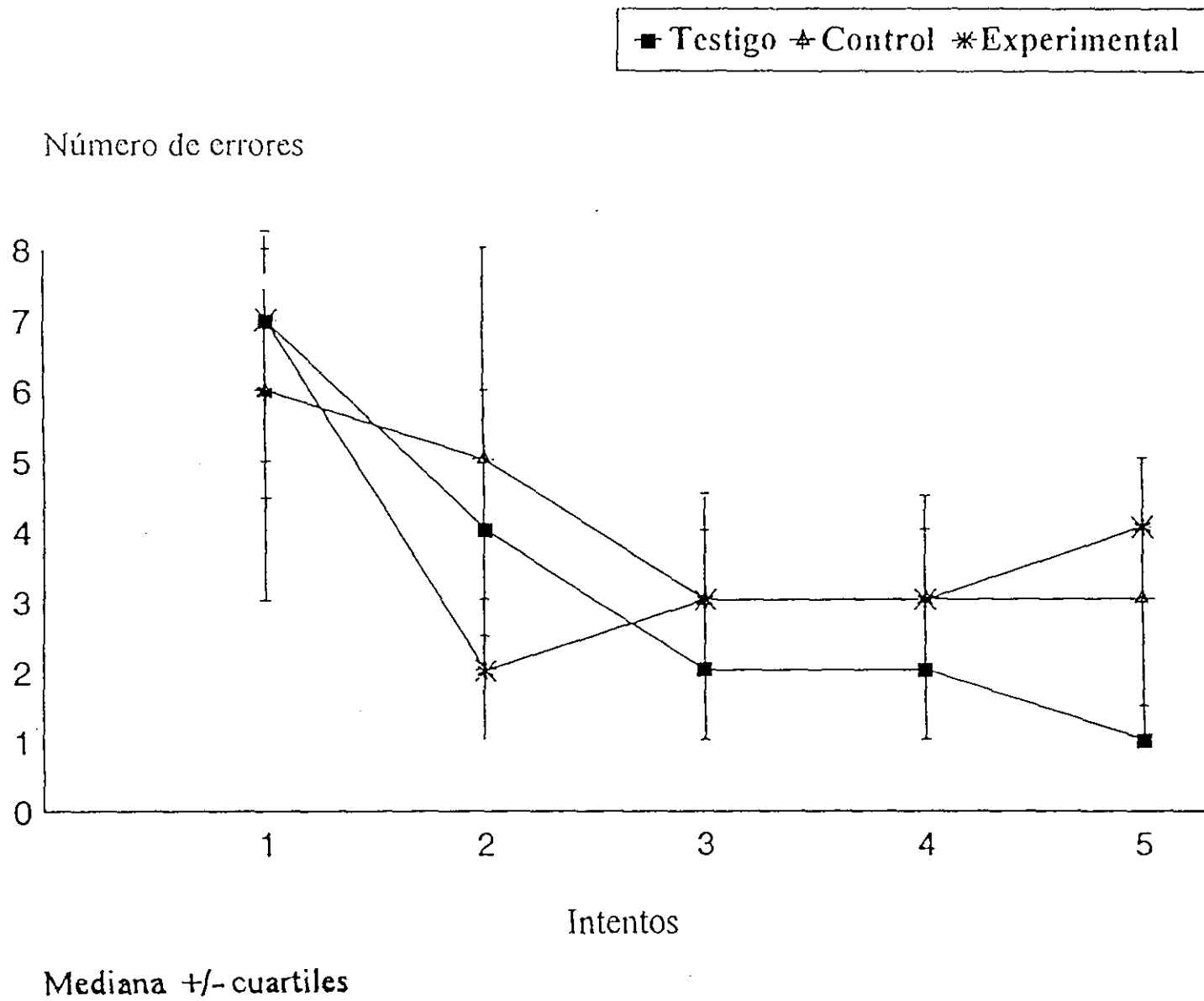


Fig. 17. Análisis intergrupar del número de errores cometidos durante la prueba conductual realizada después del tratamiento correspondiente.

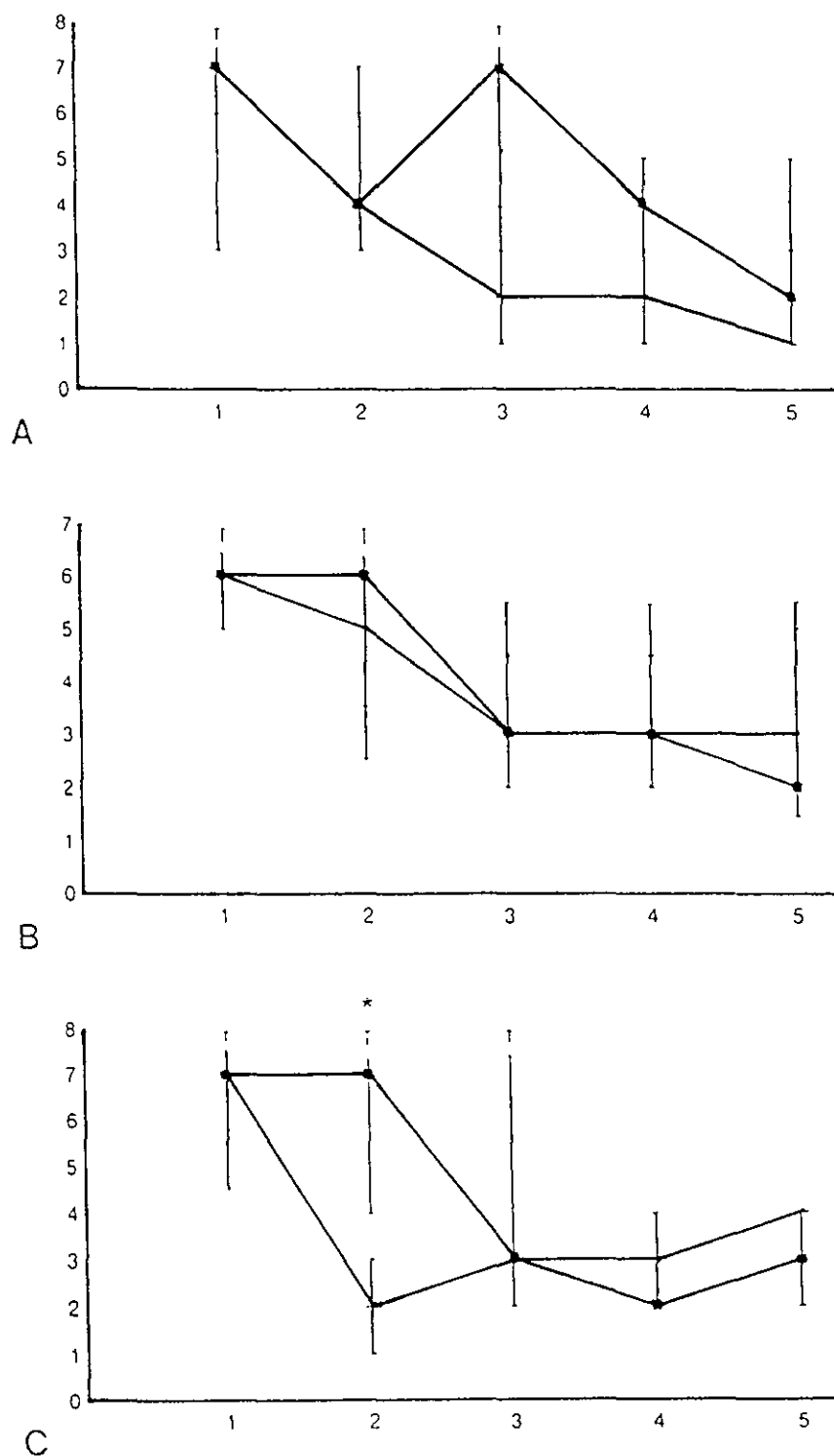


Fig. 18. Comparación intragrupal del número de errores cometidos durante las pruebas conductuales realizadas antes (cuadros) y después (cruces) del tratamiento. A: grupo testigo intacto; B: grupo control de la cirugía; C: grupo con lesión experimental. Ordenadas: número de errores; abscisas: intentos; Mediana \pm cuartiles. $p < 0.05$.

A

56

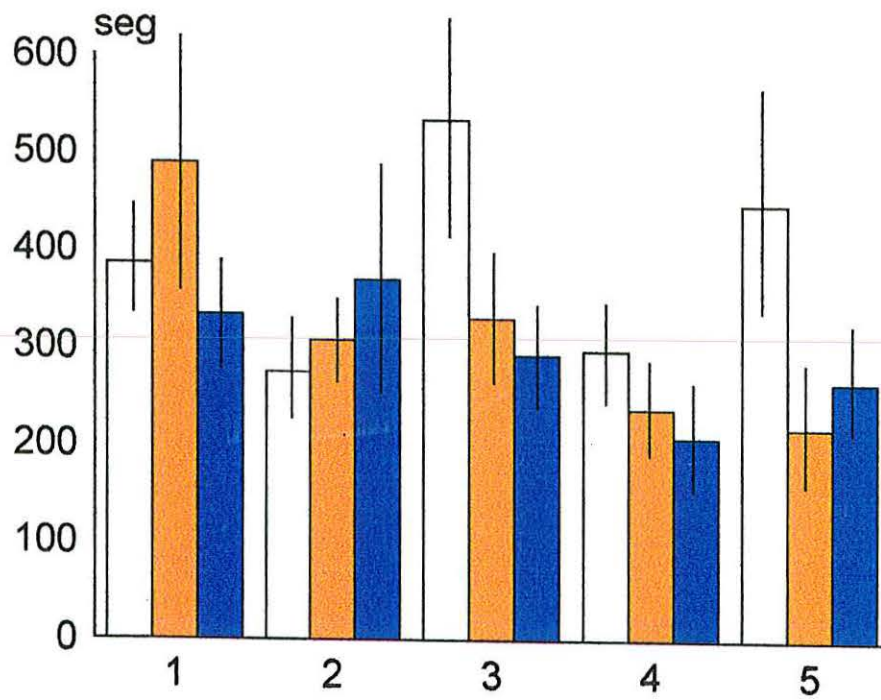
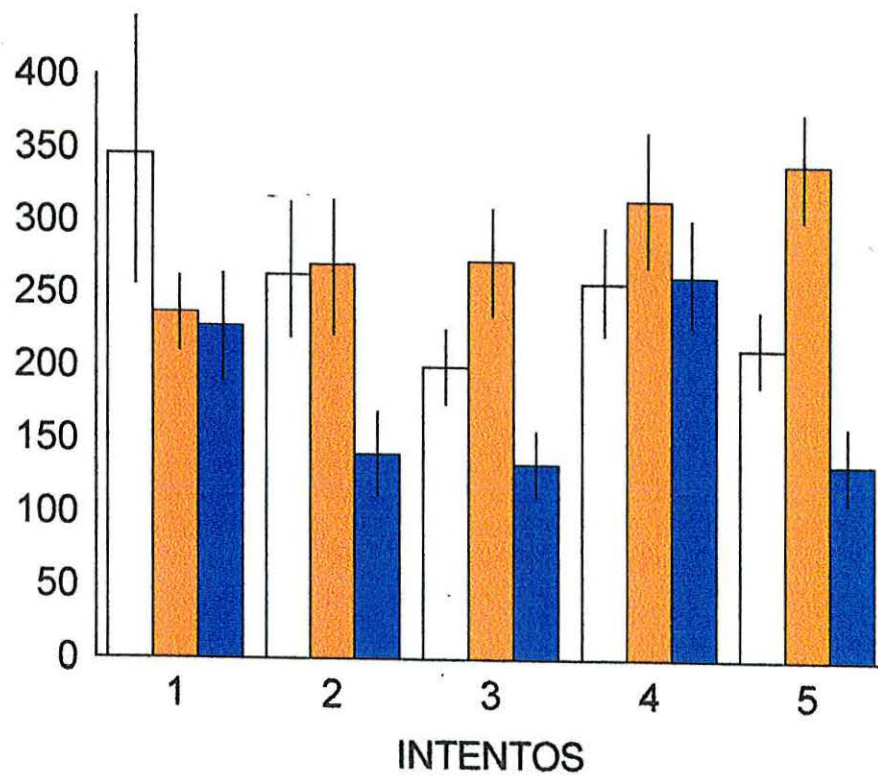
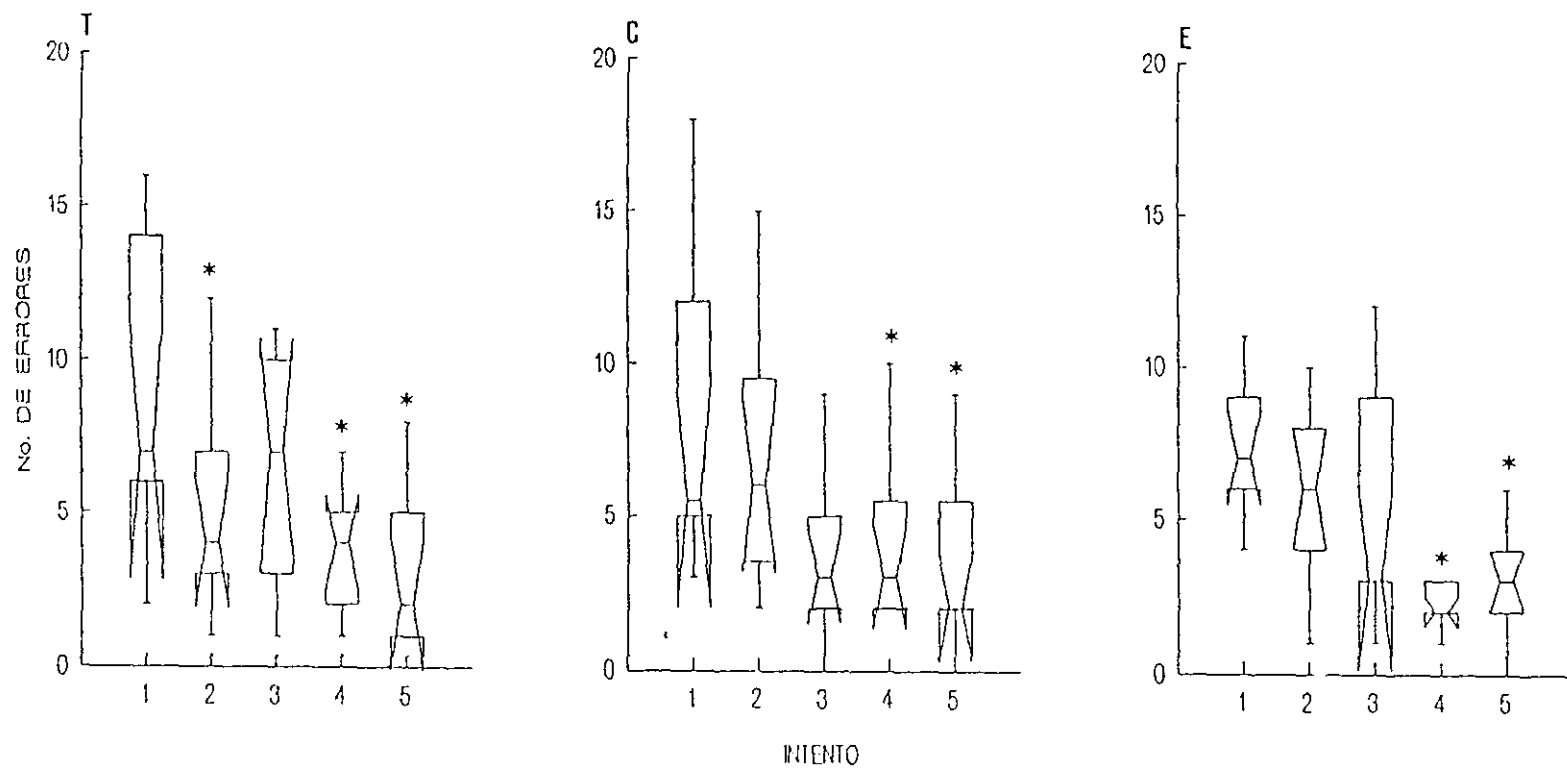
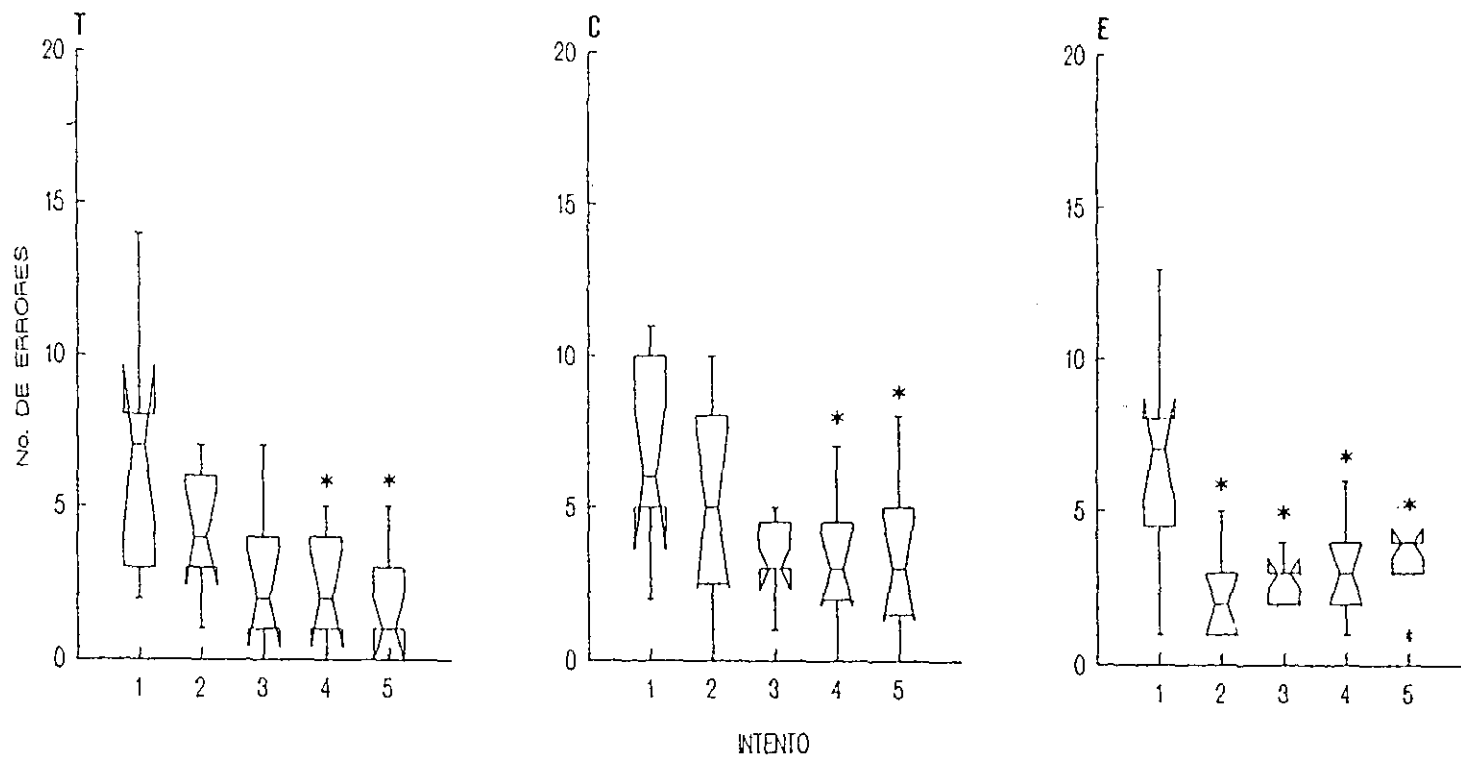
**B**

Fig. 19. Representación gráfica del tiempo empleado por los animales de los grupos testigo (barras blancas), control (barras anaranjadas) y experimental (barras azules) para resolver la tarea conductual antes (A) y después (B) del tratamiento correspondiente. Media \pm E.E.M.



Mediana +/- cuartiles; $p < 0.05$

Fig. 20. Comparación intragrupal del número de errores cometidos durante el primer ensayo contra aquellos cometidos en los subsecuentes; antes del tratamiento, T: grupo testigo; C: grupo control; E: grupo experimental.



Mediana +/- cuartiles; $p < 0.05$

Fig. 21. Análisis intragrupal del número de errores cometidos durante el 2º, 3º, 4º y 5º intentos contra los cometidos durante su primer intento, en la prueba conductual posterior al tratamiento practicado a cada grupo de animales. T: grupo intacto; C: grupo manipulado; E: grupo lesionado.

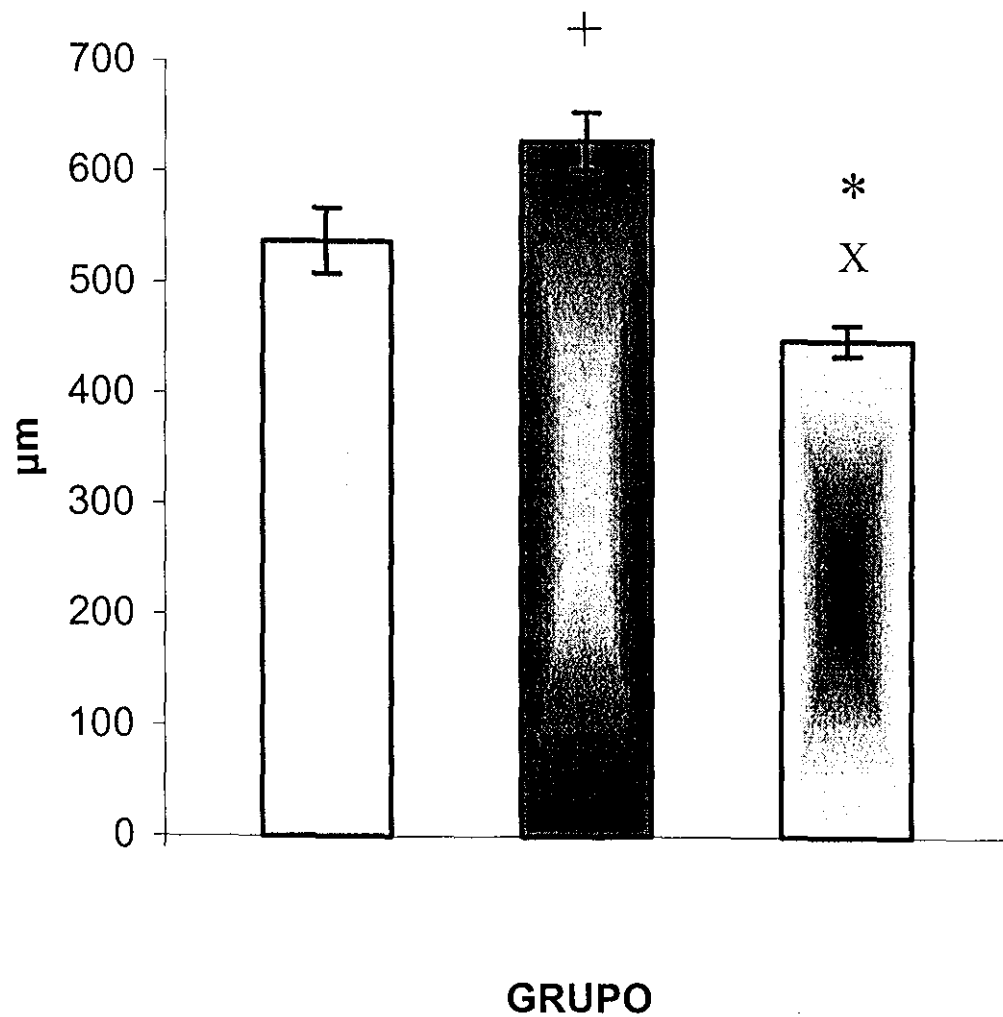


Fig. 22. Gráfica correspondiente a la comparación de la longitud de la dendrita apical de las neuronas piramidales de la 3ª capa de la corteza cerebral prefrontal, realizada entre los animales intactos (T), manipulados (C) y lesionados (E). +: T vs. C; *: T vs. E; x: C vs. E. Media \pm E.E.M. $p < 0.05$.

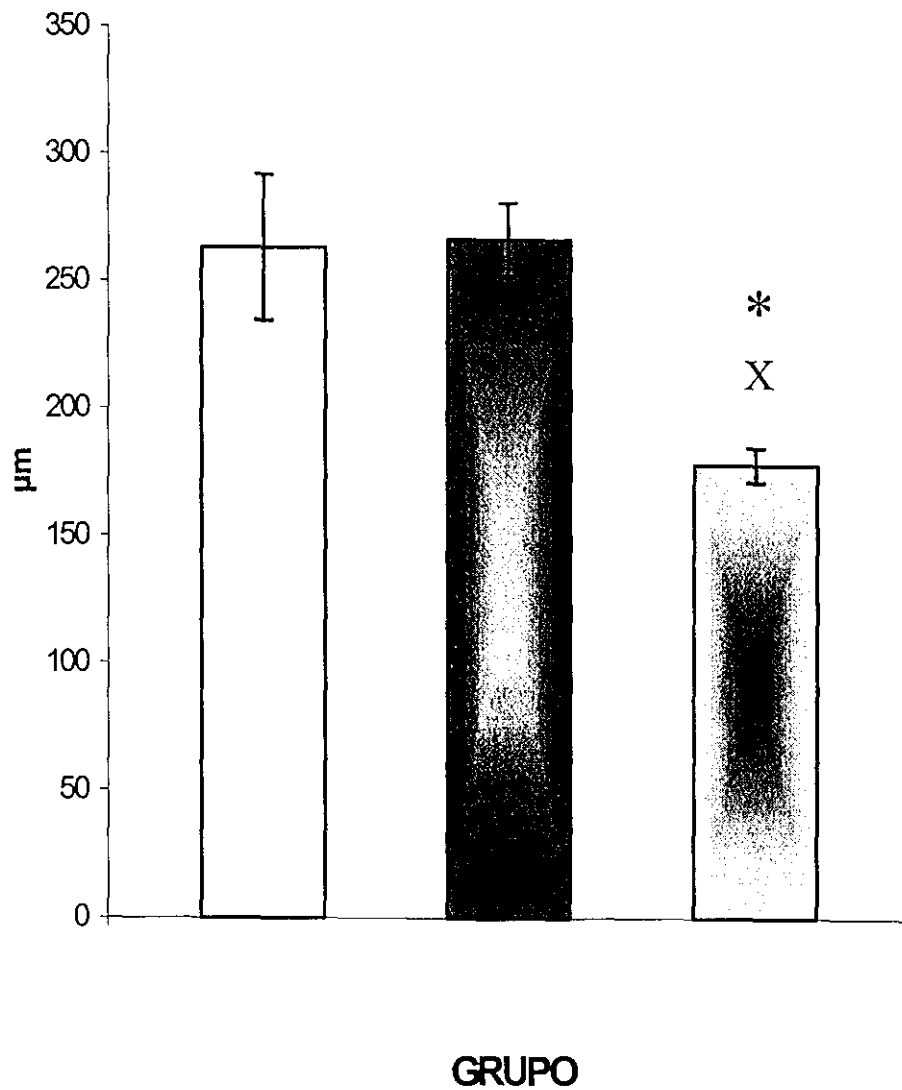


Fig. 23. Gráfica representativa de la longitud de las dendritas basales de las neuronas piramidales de la capa III de la corteza cerebral prefrontal de los animales de los tres grupos estudiados. T: grupo testigo; C: grupo control; E: grupo experimental. *: T vs. E; x: C vs. E. Media \pm E.E.M. $p < 0.05$.

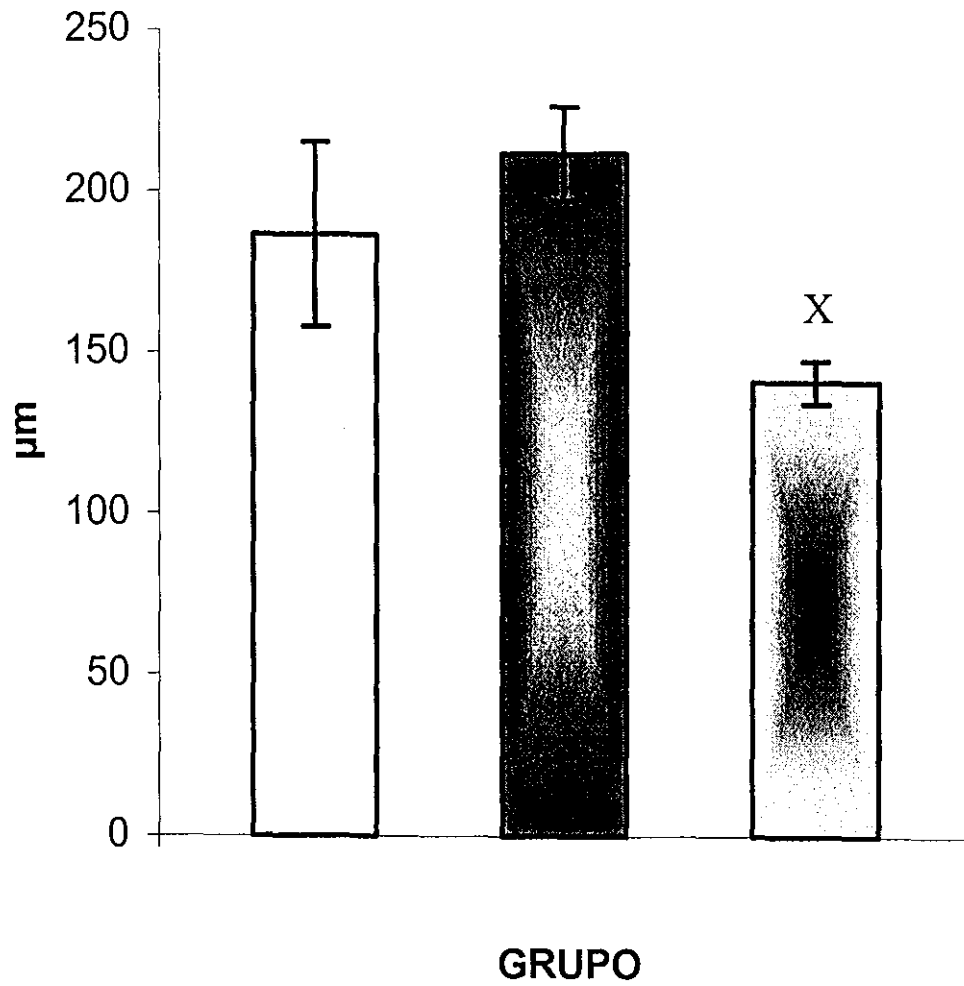


Fig. 24. Representación gráfica de los resultados obtenidos respecto a la longitud de la dendrita oblicua de las células piramidales de la 3ª capa de la corteza cerebral prefrontal de los animales de los grupos testigo (T), control (C) y experimental (E). x: C vs. E. Media \pm E.E.M. $p < 0.05$.

TABLA I
DENSIDAD DE ESPINAS DENDRITICAS

+: T vs C; *: T vs E; x: C vs E

DENDRITA	A P	I C	A L	OBLICUA	BASAL
SEGMENTO	PROXIMAL	MEDIO	DISTAL	MEDIO	MEDIO
GRUPO					
T	10.00 +/- 0.55	19.66 +/- 0.63	16.10 +/- 0.62	14.43 +/- 0.30	13.40 +/- 0.32
C	9.73 +/- 0.61	18.10 +/- 0.70	15.63 +/- 0.52	16.06 +/- 0.44	15.90 +/- 0.54 +
E	12.30 +/- 0.54 * x	20.43 +/- 0.74	15.36 +/- 0.70	16.66 +/- 0.69 *	17.30 +/- 0.58 *

Media +/- E.E.M.

P<0.05

TABLA II
FORMA DE ESPINAS DE LA DENDRITA APICAL

+: T vs C; *: T vs E; x: C vs E

	GORDA	LARGA	ANCHA	HONGO	RAMIFICADA	DOBLE
T	12.36 +/- 0.65	62.23 +/- 1.89	12.36 +/- 0.81	9.13 +/- 0.86	1.90 +/- 0.35	1.96 +/- 0.35
C	13.83 +/- 0.91	60.63 +/- 1.63	13.33 +/- 0.91	9.73 +/- 0.81	0.73 +/- 0.12 +	1.66 +/- 0.31
E	17.20 +/- 0.97 *x	60.10 +/- 1.80	11.83 +/- 0.76	9.23 +/- 0.89	0.80 +/- 0.22 *	0.86 +/- 0.25 *

Media +/- E. E. M.

P < 0.05

TABLA III
FORMA DE ESPINAS DE LA DENDRITA BASAL

+: T vs C; *: T vs E; x: C vs E

	GORDA	LARGA	ANCHA	HONGO	RAMIFICADA	DOBLE
T	17.36 +/- 0.89	49.80 +/- 1.45	14.83 +/- 0.63	14.50 +/- 0.72	1.83 +/- 0.38	1.70 +/- 0.36
C	16.33 +/- 1.02	53.23 +/- 1.84	12.40 +/- 0.64 +	15.50 +/- 0.85	0.80 +/- 0.27 +	1.60 +/- 0.42
E	16.06 +/- 0.89	59.23 +/- 1.19 *x	11.10 +/- 0.65 *	13.10 +/- 0.91	0.20 +/- 0.11 *	0.70 +/- 0.20

Media +/- E.E.M.

P < 0.05

TABLA IV
FORMA DE ESPINAS DE LA DENDRITA OBLICUA

+: T vs C; *: T vs E

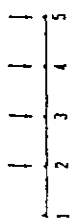
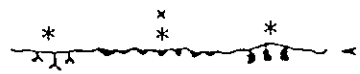
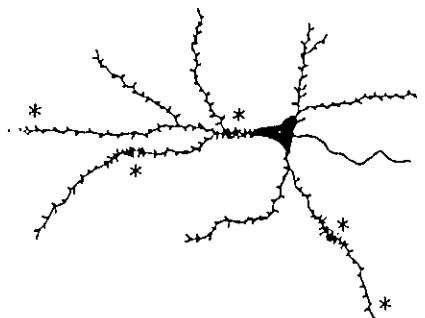
	GORDA	LARGA	ANCHA	HONGO	RAMIFICADA	DOBLE
T	12.40 +/- 0.82	57.33 +/- 2.01	12.26 +/- 0.72	13.63 +/- 0.93	2.40 +/- 0.49	2.30 +/- 0.54
C	11.93 +/- 0.78	60.63 +/- 1.46	10.60 +/- 0.65	14.33 +/- 0.93	1.20 +/- 0.30 +	1.43 +/- 0.37
E	11.83 +/- 0.86	64.83 +/- 1.61 *	9.13 +/- 0.72 *	12.66 +/- 0.85	0.33 +/- 0.09 *	0.90 +/- 0.19 *

Media +/- E.E.M.

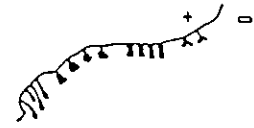
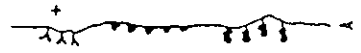
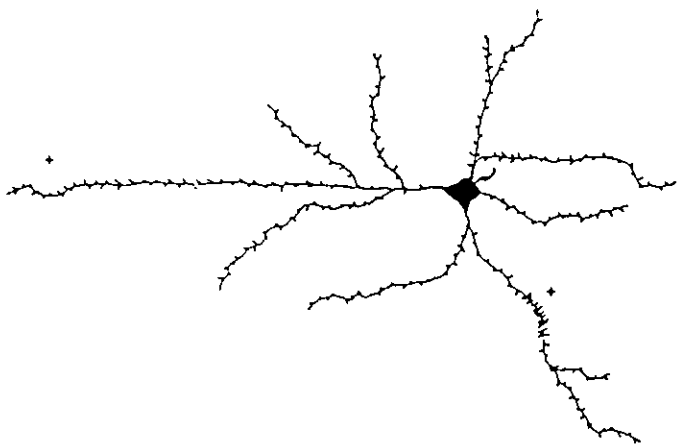
P < 0.05

Fig. 25. Diagrama comparativo de los resultados anátomo – funcionales obtenidos en el presente estudio. T: grupo testigo; C: grupo control; E: grupo experimental; A: dendrita apical; O: dendrita oblicua; B: dendrita basal. Para la identificación de la forma de las espinas, remitirse a la Figura 2; al respecto, las tendencias de las proporciones observadas son reales y se pueden verificar en las tablas correspondientes. Las líneas numeradas que aparecen en la parte inferior de la figura representan los resultados obtenidos durante las pruebas conductuales después de los tratamientos correspondientes, en las que las flechas indican los intentos a los cuales los animales redujeron significativamente el número de errores cometidos. +: T vs. C; *: T vs. E; x: C vs. E. $p < 0.05$.

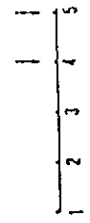
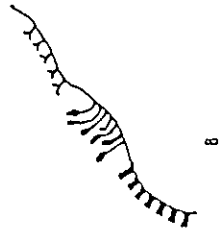
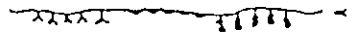
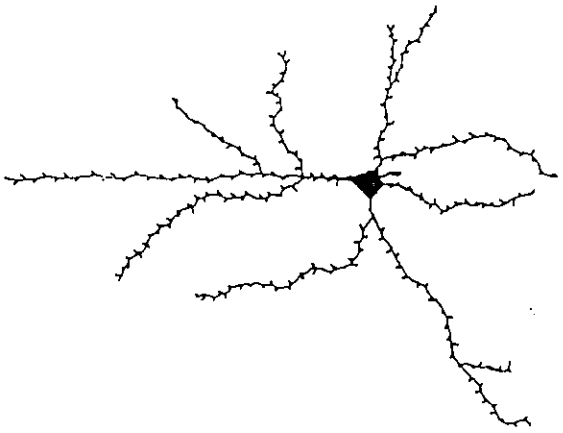
E



C



F



DISCUSION

En virtud de que las ratas hembra 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 superior sensibilidad a la expresión de conductas asociadas a la actividad serotoninérgica²⁰, en el presente trabajo los animales utilizados fueron hembra. Por otro lado y para evitar la posible influencia de los niveles hormonales en la realización de la tarea, las pruebas conductuales se realizaron entre los períodos de anestro, esto es, entre metaestro y diestro.

En 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 ésto pudiera ser debido a un comportamiento azaroso por parte de los animales del grupo, dado que la disminución y el subsecuente 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 MCP³³, los sujetos 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 comiezan 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 intergruparal 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 de los grupos T y C lo hicieron a partir de 4º 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 significativamente 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 el otro lado, 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 grupos T y C lograron hasta el cuarto intento. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos cuando se compararon intergruparalmente; 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 intergruparalmente 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 cuarto 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 eficiente.

Es sabido que la actividad serotoninérgica está relacionada con la regulación de los estados emocionales^{7, 72-73} y que la depresión es una circunstancia psicofisiológica durante la cual los niveles de 5-HT y algunos de sus metabolitos se encuentran disminuídos⁷. Una de las características de la depresión consiste en la disminución tanto de la actividad motora como de la motivación a la acción⁷ y, en trabajos previos realizados en nuestro laboratorio, se ha observado que la disminución parcial generalizada de los niveles cerebrales de 5-HT provocan una disminución de la actividad locomotriz relacionada con la exploración¹⁹. En el presente trabajo, sin embargo, tanto en la prueba previa como en la posterior al tratamiento correspondiente, los animales resolvieron la tarea conductual en tiempos semejantes, por intento. A pesar de que a partir del presente estudio no es posible establecer relaciones causales entre el abatimiento de la actividad serotoninérgica y el estado emotivo de los animales durante la realización de las pruebas conductuales, los hallazgos reportados en el presente trabajo sugieren que aquel no interfirió de manera aparente con el componente mnémico de la resolución de la tarea.

En lo que se refiere a los mecanismos en los que la disminución en el número de errores cometidos pudo haber subyacido, en el presente estudio se evaluaron algunos parámetros de la citoarquitectura neuronal.

El análisis morfológico de las neuronas piramidales de la tercera capa de la CCPF -las cuales transfieren la información procesada en esta región cerebral y constituyen la fuente de conexiones corticales asociativas al área premotora y, finalmente, al área motora en la que se organiza la ejecución voluntaria de las acciones motrices consecuentes²⁷⁻²⁸ necesarias para la ejecución de una tarea determinada- reveló lo siguiente:

En el grupo E se observó que la longitud de sus prolongaciones dendríticas fue menor, contrariamente a lo observado en el grupo C en

relación a la longitud de la dendrita apical; con respecto al grupo testigo. Los efectos sobre el grupo E pudieran ser debidos a que dado que hubo una pérdida masiva de fibras serotoninérgicas provenientes del NRD, las neuronas inervadas por estas fibras pudieron haber perdido una gran cantidad de contactos sinápticos en virtud de lo cual la citoarquitectura general de la célula hubo de reducirse por requerir consecuentemente un menor gasto de energía para llevar a cabo sus funciones metabólicas, las cuales se verían reducidas por la denervación sufrida. En cuanto al grupo C es posible que el efecto traumático de la cirugía por sí misma haya provocado alteraciones en la funcionalidad normal de las células serotoninérgicas y como resultado de ello la liberación de 5-HT se haya alterado a nivel de la CCPF; en consecuencia, el incremento en la longitud de su dendrita apical sea la respuesta celular para captar una mayor cantidad de neurotransmisor o bien, para conectarse con otras fibras serotoninérgicas –o bien, con brotes axonales neoformados- que no hayan resultado dañadas ya que se sabe que las terminales serotoninérgicas se localizan en sitios de contactos sinápticos y a manera de terminales libres⁵⁵.

En estudios previos llevados a cabo en nuestro laboratorio³³ en los cuales se analizó la citoarquitectura neuronal de las células piramidales de la II y III capa de la CCPF en un modelo de restricción crónica de triptofano - precursor de la 5-HT- se observó un efecto similar al del presente trabajo en el grupo C, lo cual sugiere que ante una disminución en la liberación de 5-HT la respuesta neuronal tiende a un incremento de su citoarquitectura; efecto contrario a lo que ocurre si la denervación es total como fue en el caso del grupo E.

Recientemente se ha propuesto que el sustrato neuroanatómico en el que subyace la memoria está representado por las espinas dendríticas de las neuronas que constituyen las regiones cerebrales involucradas en dicho proceso cognoscitivo^{49, 50}; en este sentido y en relación al análisis de densidad de espinas, en el grupo E se registró una mayor cantidad de éstas tanto en el segmento proximal de la dendrita apical como en las dendritas

basales y oblicuas, en tanto que en el grupo C se observó una tendencia a disminuir su cantidad en el tercio proximal de la dendrita apical, así como, una mayor densidad de las mismas en la dendrita basal; en comparación con el grupo T. Posiblemente, en el grupo lesionado la mayor densidad de espinas sea un efecto plástico para compensar el acortamiento de sus prolongaciones dendríticas, de manera que ésto habría favorecido la generación de más sitios de contacto sináptico en una superficie más reducida. Otra explicación podría ser que debido a la retracción dendrítica los sitios de contacto sináptico representado por espinas se acercaran aún más entre sí de manera que en una menor área dendrítica hubiere más espinas. En este mismo sentido, como resultado de un aumento en la longitud dendrítica en el grupo C los sitios de contacto pudieran haberse alejado unos de otros de manera que habría un menor número de espinas en un área dendrítica determinada; aunque si esto fuera así, sería lógico esperar encontrar diferencias en todos los segmentos analizados, lo cual no ocurrió; por lo tanto, otra explicación posible a lo anterior quizás estaría en relación con las diferentes aferencias sinápticas que establecen contacto con el árbol dendrítico neuronal lo cual, de alguna forma, influiría sobre la distribución de contactos sinápticos en la neurona.

En relación a la forma de espinas dendríticas, de manera general se observó una menor cantidad de espinas ramificadas en los tres tipos de dendritas analizadas tanto del grupo E como del grupo C con respecto a los animales intactos; así mismo, hubo una densidad menor de espinas anchas en las dendritas basales de ambos grupos, así como en las oblicuas del grupo E; además, en este mismo grupo, el número de espinas dobles fue menor en las dendritas apical y oblicuas, en tanto que el número de espinas gordas en la dendrita apical, así como de espinas largas tanto en las oblicuas como en las basales, fue mayor. La disminución en cuanto al número de espinas dobles y ramificadas posiblemente sea debido a que, dada la denervación sufrida por parte del grupo E y la posible alteración en el sistema serotoninérgico provocada por la cirugía en el grupo C por un

lado, y por el otro, que estas espinas posiblemente establezcan contacto con más de un axón, no habría entonces fundamento aparente de que siguiesen viables; de manera que es posible que se hayan retraído hasta desaparecer o bien, adquirir otra forma que fisiológicamente compensase la modificación sufrida en las espinas originales lo cual, en el grupo E, explicaría el aumento en el número de otras formas de espinas como lo fue en el caso de las largas y las gordas. Una interpretación semejante podría ser válida en lo que respecta a la menor cantidad de la forma ancha en el propio grupo lesionado, pero posiblemente tendiente a reducir el diámetro del cuello de la espina hasta alcanzar una forma de espina larga; la cual, es sabido que fisiológicamente se comporta de manera diferente^{13, 49-50}. Cabe recordar que de acuerdo al diseño metodológico de conteo, el incremento en algún o algunos tipos de espina ocurre en detrimento proporcional de otro (s).

Dado que la morfología de las espinas varía considerablemente en respuesta a una gran diversidad de estímulos medio ambientales tanto internos como externos es obvio suponer que las diferentes formas que presentan tienen diferentes propiedades bioeléctricas y, por lo tanto, la influencia que ejerzan sobre la transmisión del impulso nervioso será diferente. En general, se podría asumir que tres características generales de las espinas son determinantes para modificar la propagación del impulso nervioso: 1) la longitud del cuello, 2) el diámetro del cuello y, 3) el volumen de la cabeza. Es posible que los diferentes tipos de espinas representen estadios en una secuencia conformacional a través del tiempo y los cambios que sufren sean muy probablemente reversibles¹³. Las espinas dendríticas son los sitios primarios de recepción de excitaciones sobre la dendrita y proveen sitios para la conexión sináptica sobre el árbol dendrítico; se ha propuesto que una de las funciones de las espinas sea la de aislar la región de recepción sináptica de la influencia de otras aferencias en el mismo campo dendrítico^{13, 49-50} y se ha postulado también que la resistencia eléctrica de la espina al potencial de acción podría regular la propagación de

dicho potencial del axón a la dendrita¹³. Con base en lo anterior, las modificaciones en la forma y el tamaño de la espina -especialmente del diámetro de su cuello- serían capaces de modificar la resistividad eléctrica del mismo, consecuentemente de provocar modificaciones significativas del potencial postsináptico y, ulteriormente, de la propagación del potencial de acción. En conjunto, esas alteraciones quizás constituyan un mecanismo importante en la regulación de la actividad sináptica y su función^{13, 37}.

Diversas evidencias apoyan que los cambios plásticos en la geometría de la espina están en relación con la concentración de Ca^{++} libre en el interior de la misma; en función de ello se desencadena una secuencia de eventos que resultan en modificaciones en la eficacia sináptica. Es posible que la incorporación de Ca^{++} libre en la espina modifique la forma del cuello mediante la activación de cambios en la red de actina del citoesqueleto, por lo que se altera su resistencia y, por ende, de la fuerza sináptica¹³. Con la utilización de modelos computacionales, de microscopía confocal laser, así como de registros electrofisiológicos se ha determinado que: a) existen canales de Ca^{++} dependientes de voltaje sobre la cabeza de la espina, b) que el potencial de acción difunde por las espinas, c) que éstas son compartimentos individuales de Ca^{++} y, d) que pueden detectar la coincidencia temporal de la actividad pre- y postsináptica y de esta forma funcionar como unidades básicas de integración funcional^{37, 41, 45, 60, 111}. Recientemente se ha sugerido que las espinas dendríticas quizás representen el sustrato neuroanatómico en el que subyacen los procesos de aprendizaje y memoria; con respecto a esto, se ha propuesto que un número suficiente de espinas con cuello estrecho son requeridas para el mantenimiento de la PLP³⁹, dada su mayor resistencia al flujo de corriente^{13, 39}. El PLP es el principal mecanismo de por lo menos algunas formas de aprendizaje y memoria^{13, 44, 49, 88} y generalmente se asume que la inducción de PLP es dependiente de la entrada de Ca^{++} a través de las espinas dendríticas, vía la activación del receptor a glutamato N-metil-D aspartato (NMDA)^{13, 49, 88}. Las espinas compartimentalizan y amplifican la señal

bioeléctrica mediante el incremento de la concentración de Ca^{++} , aumentan la relación no lineal entre la fuerza sináptica y la probabilidad o magnitud de la inducción de la PLP y aíslan la maquinaria responsable de la inducción de la PLP a partir del incremento de Ca^{++} producido por canales de Ca^{++} disparados por voltaje en el asta dendrítica^{44, 88}. Se ha demostrado que un pequeño estímulo sináptico puede disparar eventos eléctricos de todo ó nada en la cabeza de la espina, lo cual permite un aumento en la estabilización del potencial postsináptico en la dendrita pasiva⁴⁹; tal disparo no ocurre si el cuello de la espina es demasiado corto y grueso, por lo que el diámetro del cuello de la espina, así como su longitud son determinantes para provocar que el potencial postsináptico depolarize la dendrita al rebasar el nivel umbral⁴⁹.

Existen espinas largas y delgadas con cabeza pequeña las cuales, en base a la información previamente descrita, requeriría de un estímulo menor así como de una menor concentración de Ca^{++} para alcanzar el umbral de disparo más rápidamente que una espina con cuello más corto y cabeza más grande; por lo que la transmisión del impulso se llevaría a cabo de manera más eficiente en una neurona en la que predominasen espinas delgadas y largas. Por otro lado, las espinas anchas y gordas no oponen resistencia al paso de corriente en igual magnitud que las largas debido a que el diámetro del cuello es muy grande por lo tanto el impulso que reciben se difunde a través de la dendrita y por ello muy posiblemente dicho estímulo en particular no participe para alcanzar el umbral de disparo necesario para transmitir la información a otras células nerviosas. Como resultado de ello, en una neurona en la que predomine este tipo de espinas comparada con una en la que la mayor población de espinas esté representada por espinas con cuello estrecho sería menos eficiente en cuanto a la transmisión del impulso nervioso dado que en la resultante de la sumación de estímulos tardaría más y requeriría de más estímulos excitadores para alcanzar el umbral requerido para lograr el disparo neuronal.

En el presente trabajo se consideró un tipo de espina que no está referido en trabajos publicados previamente; éste es el tipo de espina “ancha” la cual es parecida a la forma de espina gorda ya que en ambas el diámetro de su cuello no difiere del diámetro de su cabeza; sin embargo, la diferencia entre ambas estriba en la altura de la espina lo cual, fisiológicamente, las hace diferentes dado que el tipo de espina gorda requeriría de una acumulación menor de Ca^{++} que el tipo de espina ancha y, por lo tanto, la generación del potencial sináptico probablemente sería distinto entre estos tipos de espinas.

Por otro lado, la información acerca de las espinas dobles y ramificadas es limitada; posiblemente ambos tipos de espinas se encuentren conectadas con más de un axón, por lo que la convergencia de dos terminales axónicas presinápticas sobre una sólo espina dendrítica quizás de por resultado la sumación de estímulos y con ello ocurra una amplificación de la transmisión sináptica²⁹. Así, las espinas dendríticas con cabeza doble quizás representen un rearrreglo morfológico posiblemente relacionado con un aumento significativo de la eficacia sináptica²⁸. Sin embargo, dado que la población de estas espinas en una neurona completa no es relevante y que la proporción de esta forma de espinas con respecto a las demás existentes es mínima, posiblemente alteraciones circunscritas únicamente a este tipo de espinas no tendría una repercusión funcional importante en la integración de la información a nivel neuronal. Sin embargo, se requerirían más estudios tendientes a evaluar la repercusión funcional de la actividad bioeléctrica de estos tipos de espinas, incluida la “ancha” propuesta a partir del presente estudio. Si la neurona sufre un rearrreglo en su citoarquitectura general que incluya variaciones en la forma de las espinas que se encuentran sobre ella y, particularmente de las que se encuentran en mayor proporción, se sugiere entonces que las propiedades bioeléctricas de las neuronas podrían verse modificadas y, en consecuencia, la información que éstas integran sea procesada de manera alterada. En relación a esto, en el presente trabajo se observó una mayor eficiencia por

parte de los animales con denervación serotoninérgica para la resolución de una tarea que requería de la evocación de información adquirida hacia el corto plazo, lo cual se correlaciona claramente con la mayor densidad de espinas dendríticas en las neuronas de este mismo grupo así como la mayor incidencia de espinas largas con cuello estrecho, las cuales transmiten la información de manera más eficiente^{13, 39}. Las espinas dendríticas usualmente establecen contactos sinápticos con axones únicos y por lo tanto, un aumento en su número podría considerarse como un aumento en la superficie dendrítica receptiva. Por otro lado, como se ha mencionado, de acuerdo a su forma se les han atribuido propiedades biofísicas diferentes y de entre las diferentes formas de espinas existentes, al parecer las espinas con cuello estrecho serían más eficientes que los otros tipos de espinas en transmitir el impulso nervioso^{13, 49}; así mismo, se ha reportado que cuando las aferencias al árbol dendrítico se encuentran concentradas en regiones circunscritas de la citoarquitectura neuronal la respuesta celular es más intensa que cuando se encuentran dispersas a lo largo de todo el árbol dendrítico⁵⁶. Así, es posible que alteraciones en la densidad, en la distribución o en la forma de las espinas, den lugar a un patrón de descarga anormal por parte de las neuronas en las cuales se encuentran.

En síntesis y a partir de descartar los efectos provocados por la manipulación experimental, la denervación serotoninérgica aferente a la CCPF provocó una reducción en la longitud dendrítica y una mayor densidad de espinas en el tercio proximal al soma de la dendrita apical, así como en las dendritas basales y oblicuas. Así mismo, tal denervación provocó un mayor número de espinas largas en las dendritas tanto basales como oblicuas y por otro lado, un menor número de espinas anchas y dobles en las prolongaciones dendríticas oblicuas, así como de espinas gordas y dobles en la arborización dendrítica apical. De acuerdo a lo anterior, neuronas con las características generales que se observaron en el grupo E podrían ser células más excitables y sería factible que el patrón de descarga final de estas neuronas se encontrara alterado y, por lo tanto, la información

aferente de la CCPF hacia la corteza premotora y finalmente a la motora sea transmitida de manera anormal. Así, es posible que la modificación en el patrón de disparo neuronal de estas neuronas permita, de ser así, el establecimiento de la PLP ya sea en menos tiempo o bien, a un nivel umbral menor y por ende, se favorezca un aprendizaje más rápido, lo cual se correlacionaría claramente con los resultados conductuales obtenidos por este mismo grupo en el presente estudio.

En el grupo C, por su parte, se observaron en general neuronas con una longitud dendrítica apical mayor y con un menor número de espinas ramificadas en todas las dendritas y una mayor cantidad de espinas en la dendrita basal. De acuerdo a lo previamente reportado, posiblemente la actividad funcional de estas neuronas no difiera mucho de la actividad de las neuronas del grupo intacto puesto que, si bien es cierto que hay un menor número de espinas ramificadas, éstas representan un mínimo porcentaje del total y, por otro lado, esta menor proporción estaría compensada de alguna manera con el aumento en el número de espinas en la dendrita basal, de manera que la reorganización sufrida por parte de las neuronas de este grupo tendería a alcanzar la funcionalidad normal de la región involucrada y muy probablemente en un estudio conductual estas diferencias no se harían evidentes, como de hecho ocurrió en el presente estudio; en el cual tanto los animales integrantes del grupo operado como del grupo intacto no difirieron en cuanto a la realización de la tarea ni antes ni después del tratamiento correspondiente.

La estrecha relación entre el abatimiento de los niveles de 5-HT liberada y los efectos observados podrían ocurrir a través de mecanismos directos puesto que varios tipos de receptores a 5-HT en la CCPF están involucrados en procesos de aprendizaje y memoria⁵⁶. Así mismo, los resultados del presente trabajo también podrían ser debidos a la puesta en marcha de mecanismos plásticos indirectos; esto es, algunos receptores específicos a 5-HT involucrados en los procesos de aprendizaje y memoria⁵⁵,^{65, 84} se encuentran en la superficie de interneuronas^{8, 43} y es sabido que

éstas establecen contactos sinápticos con las neuronas piramidales corticales^{8, 43, 72-73}. Consecuentemente pudiera ser que, mediante un fenómeno de plasticidad transináptica⁸, los bajos niveles de 5-HT liberados por las terminales correspondientes tuviesen repercusiones morfológicas y hasta funcionales en las neuronas ulteriores de los circuitos implicados y de esta manera, inducir alteraciones en la integración de la información.

La 5-HT se encuentra ampliamente distribuída en el sistema nervioso central y está implicada en una gran variedad de funciones tales como los cambios de humor, el sueño, la alimentación, la conducta sexual y el aprendizaje; entre otros. En estudios histopatológicos realizados en cerebros de pacientes que padecieron enfermedades neurodegenerativas en los que el deterioro de funciones mnémicas es un fenómeno asociado, se han reportado anormalidades en el funcionamiento del sistema serotoninérgico⁵⁵.

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^{3-5, 73}. Diversos datos involucran al sistema serotoninérgico en la fisiología de otros sistemas de neurotransmisión. Posiblemente la mayor eficiencia en la realización de la segunda prueba conductual por parte de los animales lesionados sea el resultado de un desbalance entre diversos sistemas de neurotransmisión que se encuentran en estrecha interacción como el serotoninérgico y el colinérgico, de los cuales su preponderante influencia sobre procesos de aprendizaje y memoria ha sido ampliamente reportada⁸⁰⁻⁸².

Se sabe 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, respectivamente⁵¹; ambas, regiones de las cuales se conoce su participación en la organización del aprendizaje y la memoria^{22, 28}. A este respecto, se sabe que la actividad colinérgica

excitadora ejerce un efecto de inhibición conductual^{84, 79}; esto es, que la actividad excitadora de la ACh se refleja conductualmente en la supresión de acciones motrices inútiles⁷³. 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^{72, 106} o bien, ejercen efectos mediante mecanismos de influencia indirectos⁵². 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. 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 receptores⁵⁵. En este sentido, se sabe que diversos tipos de receptores a 5-HT se encuentran localizados tanto sobre terminales como en los 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^{3, 17, 36, 66}.

Por otro lado, 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 ACh¹⁶; así mismo, es sabido que interneuronas hipocampales 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 colinérgicas²⁵.

Así, la disminución de los niveles normales de 5-HT pudo dar por resultado la falta de regulación de la liberación de ACh mediante diversos mecanismos que involucran diferentes sistemas de neurotransmisión y por lo tanto, conferir a los animales lesionados la capacidad para mantener un nivel anormalmente más eficiente de aprendizaje.

Por otro lado, existe la posibilidad de que algunos mecanismos neurales estén involucrados a manera de respuestas plásticas de tipo compensatorio. Diversos estudios clínicos reportan que la densidad de ciertos receptores a 5-HT disminuyen en sujetos que padecen enfermedades a las que se asocian alteraciones en la memoria como la de Alzheimer o bien, en individuos de edad avanzada en quienes el deterioro del proceso de memoria es un fenómeno generalmente asociado^{55, 72-73, 78}.

Múltiples tipos y subtipos de receptores a 5-HT han sido identificados en el tejido cerebral. Consecuentemente, la especificidad del tipo y subtipo ha sido un importante enfoque en investigaciones con drogas que afectan este sistema de neurotransmisión, lo cual ha derivado en el diseño de estrategias para descubrir fármacos que intervengan en tales procesos cognoscitivos. Se ha reportado 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, existen reportes de que por medio de la activación de los receptores presinápticos 5-HT_{1A} ó los receptores 5-HT₄ se facilita la liberación de acetilcolina en condiciones fisiológicas y que la activación de los receptores 5-HT₃^{8, 15} la inhibe. Además, los receptores 5-HT_{1A} inhiben la acción hiperpolarizante tónica de la 5-HT endógena sobre neuronas piramidales glutamatérgicas¹¹ y al parecer, esta modulación no es directa sino que ocurre a través de interneuronas⁸. Por lo anterior, no debiera descartarse la posibilidad de que en la facilitación del aprendizaje observada en el presente trabajo pudo haber estado involucrada la activación de los receptores presinápticos 5-HT_{1A}. Por otro lado, en estudios electrofisiológicos se ha encontrado que la 5-HT por medio de los receptores 5-HT₂ presenta dos efectos, uno inhibitor y otro excitador⁴³; y se ha reportado que la activación de los receptores 5-HT_{2A} estimula a un grupo de interneuronas GABAérgicas corticales, lo que provoca un efecto excitador^{1, 30, 58}. 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, que la aplicación iontoforética de ketanserina -la cual bloquea los receptores 5-HT₂- potencia el efecto inhibitor de la 5-HT^{3, 6, 9}. En la corteza cerebral y el cuerpo estriado la distribución topográfica específica de los receptores 5-HT₂ sugiere que pudieran estar asociados con un subgrupo de axones serotoninérgicos provenientes del NRD, los cuales son extremadamente finos, altamente arborizados y tienen pequeñas varicosidades pleomorfas. La estrecha asociación entre estos axones y los receptores 5-HT₂, sugiere que el complejo de axones del NRD y de receptores 5-HT₂ quizás formen un sistema funcional mediante el cual actúen muchas sustancias psicótropas⁹, ya que la administración crónica de drogas antidepresivas disminuye el número de receptores 5-HT₂ en el cerebro de rata⁷²⁻⁷³. Otras terapias antidepresivas como la aplicación de shocks electroconvulsivos crónicos induce el efecto contrario, esto es, aumenta el número de estos receptores⁷²⁻⁷³. Recientemente se ha reportado 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^{72-73, 78}, lo que sugiere que este tipo de receptores podría jugar un papel importante en procesos cognoscitivos. Por otro lado, la aplicación de bloqueadores selectivos a receptores 5-HT₂ fueron efectivos para la prevención de amnesia inducida por hipoxia⁵⁵.

Recientemente se ha propuesto que en condiciones normales, la 5-HT endógena por medio de la actividad de los receptores 5-HT₂ modula el aprendizaje⁴⁰; ésto basado en evidencias que agonistas a receptores 5-HT_{2C} mejoran el aprendizaje y lo bloquean antagonistas a 5-HT_{2A / 2C}^{43, 91}. Así mismo, hay evidencias que indican que la 5-HT participa en la PLP, el cual es un mecanismo fisiológico de facilitación que ha sido relacionado con algunos procesos de aprendizaje y memoria^{46, 82} y se ha reportado que la aplicación de antagonistas a receptores 5-HT₃ y los agonistas a 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT₄, facilitan la PLP^{10, 63}. Lo anterior demuestra que la 5-HT a

través de sus receptores tiene una función compleja, así como múltiples mecanismos y sitios de acción en la consolidación del aprendizaje y la memoria. Así, en relación al presente trabajo, otra de las posibilidades que pudieran contribuir a explicar la mayor eficiencia observada en los animales denervados podría ser la existencia de un fenómeno de hipersensibilidad por parte de estos receptores, resultante de la subestimulación serotoninérgica, en virtud de los bajos niveles de 5-HT; tal hipersensibilidad podría haber ocurrido mediante un incremento en el número de estos receptores y/o por la afinidad a su transmisor¹².

Las posibilidades previamente planteadas no necesariamente serían excluyentes unas con otras. De hecho, se podría asumir que pudiesen ocurrir éstos y quizás otros eventos asociados de manera concatenada; por lo que se sugiere la realización de estudios experimentales correlativos, tales como determinaciones neuroquímicas relacionadas con el comportamiento de aquellos receptores involucrados en estos procesos cognoscitivos o bien, la realización de estudios electrofisiológicos tendientes a evaluar la potencia electroencefalográfica de las aferencias a las neuronas piramidales medianas prefrontocorticales y la actividad multiunitaria de disparo de las mismas. Dichos estudios podrían contribuir a dilucidar los mecanismos que subyacen a los hallazgos conductuales reportados en el presente trabajo y, de hecho, se encuentran en curso en nuestro laboratorio.

CONCLUSIONES PARTICULARES

- 1) En la prueba conductual realizada al inicio del estudio los animales de los tres grupos mostraron una reducción significativa de errores semejante entre sí, lo que demuestra que la muestra biológica fue homogénea y, por lo tanto, que el estudio conductual fue así mismo, confiable.
- 2) La denervación de fibras serotoninérgicas aferentes a la CCPF provocó una mayor eficiencia para la realización de una tarea que requería de la evocación de recuerdos adquiridos hacia el corto plazo.
- 3) La mayor eficiencia en la memoria de corto plazo observada en los animales con lesión del sistema serotoninérgico no tuvo relación con el estado emotivo de los mismos.
- 4) La propia denervación de fibras serotoninérgicas aferentes a la CCPF provocó alteraciones en la citoarquitectura de neuronas piramidales de la tercera capa cortical.
- 5) Tales estirpes neuronales participan en la organización de la expresión conductual de la memoria de corto plazo.

CONCLUSION GENERAL

La inervación serotoninérgica procedente del núcleo dorsal del raquí aferente a la corteza cerebral prefrontal modula la expresión conductual de la memoria de corto plazo a través de la participación de las neuronas piramidales de la tercera capa cortical.

REFERENCIAS

- 1) Aghajanian, G. K. and 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) Anderson, M. C. and Spellman, B. A. 1995. On the status of inhibitory mechanisms in cognition: memory retrieval as a model case. *Psychol. Rev.* 102:68-100.
- 3) Andrade, R. 1992. Electrophysiology of 5-HT_{1A} receptors in the rat hippocampus and cortex. *Drug Dev. Res.* 26:275-86.
- 4) Andrade, R. and Chaput, Y. 1991^a. 5-hydroxytryptamine₄-like receptors mediate the slow excitatory response to serotonin in the rat hippocampus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257:930-7.
- 5) Andrade, R. and Chaput, Y. 1991^b. The electrophysiology of serotonin receptors subtypes. S. J. Peroutka (Ed). *Serotonin receptor subtypes: Basic and clinical aspects.* Wiley-Liss, New York, pp.103-24.
- 6) Ashby, C. R., Edwards, E. and 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.
- 7) Barchas, J. D., Hamblin, M. W. and Malenka, R. C. 1994. Biochemical hypotheses of mood and anxiety disorders. En: Siegel, G. J. et al. (eds.) *Basic neurochemistry: cellular, molecular and medical aspects.* 5^a. Edición. Raven Press. New York. pp. 979-1001.
- 8) Bianchi, C., Siniscalchini, A. and 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., and Molliver, M. E. 1988. Correspondence between 5-HT₂ receptors and serotonergic axons in rat neocortex. *Brain Res.* 453:315-28.

- 10) Boeijinga, P. H., Meigel, I., Limonta, S. and 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. and Procter, A. W. 1992. Treatment strategies for Alzheimer's disease. *The Lancet*. 339:132-3.
- 12) Brailowsky, S., Stein, D. G. y Will, B. 1992. El cerebro averiado. Plasticidad cerebral y recuperación funcional. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología / Fondo de Cultura Económica. México. pp. 84-86.
- 13) Calverley, R. K. S. and Jones, D. J. 1990. Contributions of dendritic spines and perforated synapses to synaptic plasticity. *Brain Res. Rev.* 15:215-49.
- 14) Carlson, S., Tanila, H., Pertovaara, A. and Lähteenmäki, A. 1990. Vertical and horizontal coding of space in the monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Res.* 527:145-9.
- 15) Consolo, S., Bertorelli, R., Russi, G., Zambelli, M. and Ladinsky, H. 1994. Serotonergic facilitation of acetylcholine release in vivo from rat dorsal hippocampus via serotonin 5-HT₃ receptors. *J. Neurochem.* 62:2254-61.
- 16) Consolo, S., Ramponi, S., Ladinsky, H. and 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., Hamon, M., Muller, W. E. and Briley, M. 1990. Biochemical models for cognition enhancers. *Pharmacopsychiatry*. Feb 23, suppl. 2:88-9.
- 18) Dekker, A. J. and Thal, L. J. 1993. Independent effect of cholinergic and serotonergic lesions on acetylcholine and serotonin release in the neocortex of the rat. *Neurochem. Res.* 18:277-83.
- 19) Del Angel-Meza, A. R., González-Burgos, I., Olvera-Cortés, E. and Feria-Velasco, A. 1996. Chronic tryptophan restriction disrupts grooming chain completion in the rat. *Physiol. Behav.* 59:1099-102.

- 20) Delgado, P. L., Charney, D. S., Price, L. H., Landis, H. and Heninger, G. R. 1989. Neuroendocrine and behavioral effects of dietary tryptophan restriction in healthy subjects. *Life Sci.* 45:2323-2332.
- 21) Doyere, V., Burette, F., Negro, Cr. and Laroche, S. 1993. Long Term potentiation of hippocampal afferents and afferents to prefrontal cortex: Implications for associative learning. *Neuropsychology.* 10:1031-53.
- 22) Dunnett, S. B., Wareham, A. T. and Torres, E. M. 1990. Cholinergic blockade in prefrontal cortex and hippocampus disrupts short-term memory in rats. *Neuroreport.* 1:61-4.
- 23) Eglen, R. M., Wong, E. H., Dumuis, A. and Bockaert, J. 1995. Central 5-HT₄ receptors. *TIPS.* 16:391-8.
- 24) Feria-Velasco, A. and Karnovsky, M. J. 1970. Optima preservación ultraestructural del sistema nervioso central por perfusión intravascular de glutaraldehído. *Arch. Inv. Med.* 1:210-20.
- 25) Feuerstein, T. J., Gleichauf, O. and Landwehrmeyer, G. B. 1996. Modulation of cortical acetylcholine release by serotonin the role of substance P interneurons. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 354:618-26.
- 26) Funahashi, S. and Kubota, K. 1994. Working memory and prefrontal cortex. *Neurosci. Res.* 21:1-11.
- 27) Fuster, M. J. 1991. The prefrontal cortex and its relation to behavior. *Prog. Brain Res.* 87:201-11.
- 28) Fuster, M. J. 1993. Frontal lobes. *Curr. Op. Neurobiol.* 3:160-5.
- 29) Geinisman, Y., Morrell, F. and De Toledo-Morrell, L. 1989. Perforated synapses on double dendritic spines: a possible structural substrate of synaptic plasticity. *Brain Res.* 480:326-9.
- 30) Gellman, R. L. and Aghajanian, G. K. 1994. Serotonin 2 receptors mediated excitation of interneurons in piriform cortex: antagonism by atypical antipsychotic drug. *Neuroscience.* 58:515-25.
- 31) Goldman-Rakic, P. S. 1995. Cellular basis of working memory. *Neuron.* 14:477-85.

- 32) González-Burgos, I., Tapia-Arizmendi, G. and Feria-Velasco. 1992. A Golgy method without osmium tetroxide for the study of the central nervous system. *Biotech. Histochem.* 67:288-96.
- 33) González-Burgos, I., Del Angel-Meza, A. R., Barajas-López, G. and Feria Velasco, A. 1996. Tryptophan restriction causes long-term plastic changes on corticofrontal pyramidal neurons. *Int. J. Devl. Neurosci.* 14:673-79.
- 34) González-Burgos, I., Pérez-Vega, M. I., Del Angel-Meza, A. R. and Feria-Velasco, A. 1998. Effect of tryptophan restriction on short-term memory. *Physiol. Behav.* 63:165-9.
- 35) Granon, S., Vidal, C., Thinus-Blanc, C., Changeux, J. P. and Poucet B. 1994. Working memory, response selection, and effortful processing in rats with medial prefrontal lesions. *Behav. Neurosci.* 108:883-91.
- 36) Gross-Isseroff, R., Salama, D., Israeli, M. and Biegon, A. 1990. Autoradiographic analysis of age- dependent changes in serotonin 5-HT₂ receptors of the human brain postmortem. *Brain Res.* 519:223-7.
- 37) Guthrie, P. B., Segal, M. and Kater, S. B. 1991. Independent regulation of calcium revealed by imaging dendritic spines. *Nature.* 345:76-80.
- 38) Haas, H. L., Sergueeva, O.A., Vorobjev, V. S. and Sharonova, I. N. 1995. Subcortical modulation of synaptic plasticity in the hippocampus. *Behav. Brain Res.* 66:41-4.
- 39) Harris, K. M. and Kater, S. B. 1994. Dendritic spines: Cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annu. Rev. Neurosci.* 17:341-71.
- 40) Harvey, J. A. 1994. Serotonergic function in cognition. 5-HT Third IUPHAR Satellite meeting on serotonin. July 30- August 3. Chicago, IL. pp. 8.
- 41) Holmes, W. R. 1990. Is the function of dendritic spines to concentrate calcium?. *Brain Res.* 519:338-42.
- 42) House, E. L., Pansky, B. y Siegel, A. 1982. *Neurociencias. Enfoque sistemático.* McGraw Hill. México. pp. 444-72.

- 43) Hoyer, D., Harting, P. R. and Humphre, P. P. A. 1994. International union of pharmacology classification for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol. Rev.* 347:157-203.
- 44) Jaffe, D. B., Fisher, S. A. and Brown, T. H. 1994. Confocal laser scanning microscopy reveals voltage-gated calcium signals within hippocampal dendritic spines. *J. Neurobiol.* 25:220-33.
- 45) Kametani, H., Spangler, E. L., Bresnahan, E. L., Kobayashi, S., Long, J. M. and 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.
- 46) Kandel, E. R. and Hawkins, R. D. 1992. The biological basis of learning and individuality. *Sci. Am.* September:53-60.
- 47) Klein, S. B. 1994. *Aprendizaje. Principios y aplicaciones.* McGraw Hill. México. pp. 1-22; 395-447.
- 48) Klingberg, T., Kawashima, R. and Roland, P. E. 1996. Activation of multi-modal cortical areas underlies short-term memory. *Eur. J. Neurosci.* 8:1965-71.
- 49) Koch, Ch., Zador, A. and Brown, T. H. 1992. Dendritic spines: Convergence of theory and experiment. *Science.* 256:973-4.
- 50) Koch, Ch. and Zador, A. 1993. The function of dendritic spines, devices subserving biochemical rather than electrical compartmentalization. *J. Neurosci.* 13:413-22.
- 51) Kostovic, I. 1990. Structural and histochemical reorganization of the human prefrontal cortex during perinatal and postnatal life. *Prog. Brain. Res.* 85:223-40.
- 52) Lamberty, Y. and Gower, A. J. 1991. Cholinergic modulation of spatial learning in mice in a Morris-type water maze. *Arch. Pharm. Ther.* 309:5-19.

- 53) Mamounas, L. A., Mullen, C. A., O'Hearn, E. and 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.
- 54) McDonald, R. J. and White, N. M. 1993. A triple Dissociation of memory systems: hippocampus, amigdala, and dorsal striatum. *Behav. Neurosci.* 107:3-22.
- 55) McEntee, W. J. and Crook, T. H. 1991. Serotonin, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology.* 103:143-9.
- 56) Mel, B. W. 1993. Synaptic integration in an excitable dendritic tree. *J. Neurophysiol.* 70:1086-101.
- 57) Mervis, R. F., Pope, D., Lewis, R., Dvorak, R. M. and Williams, L. R. 1991. Exogenous nerve growth factor reverses age-related structural changes in neocortical neurons in the aging rat. A quantitative Golgi study. *Ann. N Y Acad. Sci.* 640:95-101.
- 58) Mokler, D. J., Dixon, M. and Stambaugh, L. Electrical stimulation of the raphe nucleus as a discriminative stimulus: generalization to (+/-)- DOI. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48:1041-5. 1994.
- 59) Mrzljak, L., Harry, B. M., Uylings., Cobert, G., Eden, V. and Judá's, M. Neuronal development in human prefrontal cortex in prenatal and postnatal stages. *Prog. Brain Res.* 85:185-222. 1990.
- 60) Müller, W. and Connor, J. A. 1991. Dendritic spines as individual neuronal compartments for synaptic Ca^{2+} responses. *Nature.* 354:73-76.
- 61) Murtha, S. J. E. and Pappas, B. A. 1994. Neurochemical, histopathological and mnemonic effects of combined lesions of the medial septal and serotonin afferents to hippocampus. *Brain Res.* 651:16-26.
- 62) Neuman, R. S. and Rahman, S. 1994. 5-HT induced facilitation of N-methyl-D aspartate (NMDA) depolarization: role of Ca^{2+} . 5-HT Third IUPHAR Satellite Meeting on Serotonin. July 30- August 3. Chicago, IL. pp.144.

- 63)Nezelof, C., Galle, P. y Hinglais, N. 1975. Exámenes de laboratorio. Técnicas microscópicas. JIMS. España.
- 64)Noback, Ch. and Demarest, R. J. 1975. The human nervous system. Basic principles of neurobiology. McGraw Hill. USA. pp. 443-80.
- 65)Normile, H. J. and Altman, H. J. 1992. Effects of the combined acetylcholinesterase inhibition and serotonergic receptor blockade on age-associated memory impairments in rats. *Neurobiol. Aging*. 13:735-40.
- 66)Nyakas, C., Oosterink, B. J., Keijser, J., Felzaghj, K., De Jong, G. L., Korf, J. and 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.
- 67)O'hearn, E. and Molliver, M. E. 1984. Organization of raphe-cortical projections in rat: a quantitative retrograde study. *Brain Res. Bull.* 13:709-26.
- 68)Olvera-Cortés, E., Pérez-Vega, I., Barajas-López, G., Del Angel-Meza, A. R., González-Burgos, I. and Feria-Velasco. 1998. Place learning impairment induced by chronic tryptophan restriction. *Nutr. Neurosci.* 1:223-35.
- 69)Palacios, J. M., Waeber, C., Mengod, G. and Hoyer, D. 1991. Autoradiographic of 5-HT receptors: A critical appraisal. *Neurochem. Int.* 18:17-25.
- 70)Parnavelas, J. G. 1990. Neurotransmitters in the cerebral cortex. *Prog. Brain Res.* 85:223-40.
- 71)Paxinos, G. and Watson, Ch. 1986. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Inc. 2^a ed. USA.
- 72)Pazos, A. and Palacios, J. M. 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain I: Serotonin-1 receptors. *Brain Res.* 346:205-30.

- 73) Pazos, A., Cortés, R. and Palacios, J. M. 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res.* 346:231-49.
- 74) Pérez-Vega, M. I., Barajas-López, G., Del Angel-Meza, A. R., González-Burgos, I. and Feria-Velasco, A. 1998. Dendritic spine density of pyramidal neurons in field CA1 of the hippocampus decreases due to chronic tryptophan restriction. *Nutr. Neurosci.* 1:237-42.
- 75) Petrides, M. 1991. Functional specialization within the dorsolateral prefrontal cortex for serial order memory. *Proc. R. Soc. Lond. Biol.* 246:299-306.
- 76) Poucet, B. and Herrmann, T. 1990. Septum and medial frontal cortex contribution to spatial problem-solving. *Behav. Brain Res.* 37:269-80.
- 77) Prado-Alcalá, R. and Quirarte, G. L. México 1995. Un modelo de memoria de largo plazo. *Temas selectos de neurociencias.* pp. 411-9.
- 78) Quirion, R., Richard, J. and Dam, T. V. 1985. Evidence for the existence of serotonin type-2 receptors on cholinergic terminals in rat cortex. *Brain Res.* 333:345-9.
- 79) Ray, D. and Nagy, Z. M. 1978. Emerging cholinergic mechanism and ontogeny of response inhibition in the mouse. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92:335-49.
- 80) Richter-Levin, G., Greenberger, V. and Segal, M. 1993. Regional specificity of raphe graft-induced recovery of behavioral functions impaired by serotonergic / cholinergic lesions. *Exp. Neurol.* 121:221-28.
- 81) Richter-Levin, G. and Segal, M. 1991. The effects of serotonin depletion and raphe grafts on hippocampal electrophysiology and behavior. *J. Neurosci.* 11:1585-96.
- 82) Richter-Levin, G., Canevari, L. and 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.

- 83) Ridley, R. M., Samson, N. A., Baker, H. F. and Johnson, J. A. 1988. Visuospatial learning impairments following lesion of the cholinergic projection to the hippocampus. *Brain Res.* 456:71-87.
- 84) Riekkinen, P. Jr., Sirvio, J. and Riekkinen, P. 1990. Interaction between raphe dorsalis and nucleus basalis magnocellularis in spatial learning. *Brain Res.* 527:342-45.
- 85) Riekkinen, P. Jr., Sirvio, J., Valjakka, A., Miettinen, R. and Riekkinen, P. 1991. Pharmacological consequences of cholinergic plus serotonergic manipulations. *Brain Res.* 552:23-6.
- 86) Robinson, S. E. 1983. Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus, cortex and striatum. *Life Sci.* 32:345-353.
- 87) Sakurai, Y. and 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.
- 88) Schiegg, A., Gerstner, W., Ritz, R. and Leo Van Hemmen, J. 1995. Intracellular Ca^{2+} stores can account for the time course of LTP induction: A model of Ca^{2+} dynamics in dendritic spines. *J. Neurophysiol.* 74:1046-55.
- 89) Shen, Y., Specht, S. M., Ghislain, I. D. S. and Li, R. 1994. The hippocampus: a biological model for studying learning and memory. *Progress Neurobiol.* 44:485-96.
- 90) Sirviö, J., Riekkinen, P. Jr., Jäkälä, P. and Riekkinen, P. J. 1994. Experimental studies on the role of serotonin in cognition. *Progress Neurobiol.* 43:363-79.
- 91) Smith, R. L., Barrett, R. J., Grotewil, M. S. and Sanders-Bush, E. 1994. Behavioral 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.
- 92) Somjen, E. *Neurofisiología Panamericana*. México. 1986. pp. 435-49.
- 93) Squire, L. R. 1986. Mechanisms of memory. *Science.* 232:1612-18.

- 94) Squire, L.R. Memory and brain. Oxford University Press. NY. 1987. pp. 3-22; 151-74; 224-40.
- 95) Stäubli, U., Rogers and Lynch, G. 1994. Facilitation of glutamate receptors enhances memory. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91:777-81.
- 96) Stevens, Ch. F. 1993. Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. Cell. 72 (10 suppl.):55-63.
- 97) Thompson, R.F. Introducción a la psicología fisiológica. Harla. México. 1975. pp. 487-562.
- 98) Thompson, R. F. Fundamentos de psicología fisiológica. Trillas. México. 1984. pp. 671-728.
- 99) Toveé, M. J. and Cohen-Toveé, E. M. 1996. Working Memory: Trouble in mind. Curr. Biol. 6:13-5.
- 100) Uylings H. B. M. and Van Eden, C. G. 1990. Qualitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. Prog. Brain Res. 85:31-62.
- 101) Vanderwolf, C. H., Baker, G. B. and Dickson, C. 1990. Serotonergic control of cerebral activity and Behavior: Models of dementia. Ann. N. Y. Acad. Sci. 15:366-83.
- 102) Vanderwolf, C. H., Leung, L. W. S., Baker, G. B. and Stewart, D. J. 1989. The role of serotonin in the control of cerebral activity: studies with intracerebral 5,7-Dihydroxytryptamine. Brain Res. 504:181-91.
- 103) Vanderwolf, C. H. 1989. A general role for serotonin in the control of behavior: Studies with intracerebral 5,7-dihydroxytryptamine. Brain Res. 504:192-8.
- 104) Verwer, R. W. H., Meijer, R.J., Van Vum, H. F. M. and Witter, M. P. 1997. Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. Hippocampus. 7:397-402.
- 105) Vorhees, Ch. V. 1986. Methods for assessing the adverse affects of foods and other chemicals on animal behavior. Nutr. Rev. Suppl. 44:185-92.

- 106) Watanabe, M. 1996. Reward expectancy in primate prefrontal neurons. *Nature*. 382:629-32.
- 107) Willingham, D. B. 1997. Systems of memory in the human brain. *Neuron*. 18:5-8.
- 108) Wilson, M. A. and Molliver, M. E. 1991. The organization of serotonergic projection to cerebral cortex in primates: retrograde transport studies. *Neuroscience*. 44:555-70.
- 109) Wilson, F. A. W., Scalaide, S. P. O. and Goldman-Rakic, P. S. 1993. Dissociation of objects and spatial processing domains in primate prefrontal cortex. *Science*. 260:1955-8.
- 110) Wodley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M. and McEwen, B. S. 1990. Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurosci*. 10:4035-9.
- 111) Yuste, R. and Denk, W. 1995. Dendritic spines as a basic functional units of neuronal integration. *Nature*. 375:682-4.
- 112) Yukihiro, N., Yoshiaki, O., Etsuko, S. and Makoto, O. 1991. Involvement of central cholinergic mechanisms in RU-24969-induced behavioral deficits. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 38:441-6.