

11281

1
20/

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PARTICIPACION DEL SISTEMA NIGROESTRIATAL EN EL APRENDIZAJE

TESIS

Que para optar por el grado de DOCTOR en CIENCIAS BIOMEDICAS

(Area Fisiología)

PRESENTA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GUILLELMO GERMAN COBOS ZAPIAIN

DIRECTOR DE TESIS DR. ROBERTO AGUSTIN PRADO ALCALA

Trabajo realizado con el apoyo de CONACYT (D111-903240)

México, D.F.

México, D.F.

1992

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

Resumen	1
Introducción	3
CAPITULO I	
Anatomía y citoarquitectura de la sustancia nigra	5
Conexiones de la sustancia nigra	11
Neurotransmisores de las conexiones nigrales	14
CAPITULO II	
Acido gamma-aminobutírico (GABA)	16
El GABA como neurotransmisor	19
El receptor GABAérgico	21
Mecanismos GABAérgicos periféricos	23
CAPITULO III	
El sistema nigroestriatal y sus interacciones	27
CAPITULO IV	
Participación del sistema nigroestriatal en los procesos de memoria y aprendizaje	32
Papel del cuerpo estriado en los procesos de memoria y aprendizaje	33
1. Efecto de lesiones	33
a) Permanentes	33
b) Reversibles	35

2. Efecto de la estimulación eléctrica	36
3. Efectos de la manipulación de la actividad colinérgica	37
a) Antagonistas colinérgicos	37
b) Agonistas colinérgicos	40
La sustancia nigra en los procesos de memoria y aprendizaje	44
1. Efecto de lesiones	44
a) Permanentes	44
2. Efecto de la estimulación eléctrica	45
3. Efectos de la manipulación de las actividades dopaminérgica y GABAérgica	46
CAPITULO V	
Antecedentes relevantes e hipótesis	49
Material y método	51
Método general	51
Animales	51
Cirugía	51
Aparatos	52
Procedimiento	53
Entrenamiento, sesión de retención	53
Tratamientos	54
Registro electrográfico	55
Histología	56
Estadística	56

EXPERIMENTO I	56
Tratamientos	57
Grupos	57
Resultados	57
Histología	57
Registro electrográfico	59
Hallazgos conductuales	59
EXPERIMENTO II	61
Tratamientos	63
Grupos	63
Resultados	63
Histología	63
Hallazgos conductuales	63
Discusión	64
REFERENCIAS	68

RESUMEN

La participación del sistema nigroestriatal (SNE) en la tarea de prevención pasiva (TPP) está bien documentada. La estimulación eléctrica y las lesiones electroquímicas o neuroquímicas del núcleo-putamen (CPU) inducen impedimentos significativos en la retención de esta tarea. Además, el bloqueo de la actividad sináptica colinérgica del CPU y el bloqueo GABAérgico de la sustancia nigra (SN) producen efectos similares. De manera que tal parece que el funcionamiento normal del SNE es un requisito para el establecimiento de la memoria de largo plazo.

Otros estudios han demostrado que la aplicación de los tratamientos mencionados producen déficit en la retención de TPP y de tareas reforzadas positivamente cuando los animales son entrenados con cantidades "normales" de reforzadores; sin embargo, cuando los sujetos son sobreentrenados estos tratamientos no inducen perturbaciones mnémicas. Estos resultados apoyan las hipótesis de que: 1) la actividad colinérgica del CPU es necesaria para la adquisición y los estadios iniciales de las conductas instrumentales y 2) después del sobreentrenamiento el CPU no está involucrado en el mantenimiento de estas conductas.

Por otro lado, ya que el sobreentrenamiento protege contra los déficits de memoria cuando la actividad neural del CPU se perturba, se predijo que un efecto similar se encontraría cuando la actividad sináptica de un eslabón anatomofuncional del estriado también se perturbara. Para probar la predicción arriba mencionada se llevaron a cabo dos experimentos.

En este trabajo se extiende la concepción referida para poner de manifiesto que el bloqueo GABAérgico de la SN, dos minutos después del entrenamiento de TPP, en ratas, bajo dos condiciones: a) entrenamiento "normal" y b) "sobreentrenamiento", produce impedimentos significativos y efectos protectores contra los déficits de memoria, respectivamente, en la retención de una conducta reforzada aversivamente, veinticuatro horas después de adquirida.

Los resultados obtenidos en este estudio son congruentes con los existentes en el sistema experimental.

SUMMARY

The involvement of the nigrostriatal system (NSS) in passive avoidance (PA) is well documented. Electrical stimulation and electrolytic or neurochemical lesions of the caudate-putamen (CPU) induce significant impairments in the retention of this aversively motivated behavior. Furthermore, blockade of cholinergic synaptic activity of the CPU and GABAergic blockade of the substantia nigra (SN) produce similar effects. It seems that normal functioning of NSS is a requisite for the establishment of long term memory.

Other studies have demonstrated that application of the treatments mentioned above produces retention impairments of PA and of positively reinforced tasks when animals are trained with "normal" amounts of reinforcers; however when animals are "overtrained" these treatments do not induce mnemonic disturbances. These results give strong support to the hypotheses that 1) cholinergic activity of CPU is necessary for the acquisition and early stages of instrumental behaviors and 2) after overtraining the CPU is not involved in the maintenance of these behaviors.

Since overtraining protects against memory deficits when neural activity of CPU is disturbed, it was predicted that a similar effect would be found when synaptic activity of a functional and anatomical link of the striatum were also disturbed. Two experiments were carried out to test the prediction mentioned above.

This work extends the conception referred to above, since GABAergic blockade of the SN two minutes after training of PA, in rats, under two conditions: a) "normal" training and b) "overtraining", produces significant impairments and protects against memory deficits, respectively, in the retention of PA, twenty four hours after training.

The results obtained in this study are congruent with other that exist in the experimental literature.

INTRODUCCION

El aprendizaje y la memoria fundamentan el conocimiento, las decisiones y la expresión de las experiencias vitales que permiten sobrevivir y actuar acorde a las circunstancias cambiantes del ambiente.

Sin aprendizaje y sin memoria no sería posible el conocimiento y menos aún el subsistir ante el mundo que continuamente cambia.

El aprendizaje y la memoria están siendo investigados a diversos niveles, desde el molecular hasta el neuroconductual y se han realizado hasta el momento incontables estudios, con el fin de conocer los sustratos de los procesos básicos involucrados en la adquisición y el almacenamiento de información los cuales permiten la adecuación de cualesquiera sujetos a su medio.

Una herramienta, la manipulación farmacológica de los neurotransmisores, provee un medio para investigar los procesos de memoria y aprendizaje.

La investigación ha puesto en evidencia que algunas estructuras subcorticales participan en los procesos de aprendizaje y memoria, como ha sido demostrado a través de la manipulación de los sistemas dopaminérgico, colinérgico y GABAérgico tanto a nivel del cuerpo estriado (CEE) como de la sustancia nigra (SN).

Para el presente trabajo, se ha elegido al sistema nigroestriatal (SNE), en particular a la SN, por la gran cantidad de aportaciones de los últimos años, en las que

se adscribe a las mismas funciones importantes que determinan la adquisición y el mantenimiento de respuestas aprendidas diversas.

En este estudio se evalúa la interacción neuroquímica del SNE a nivel nigral y especialmente a la acción ejercida por el ácido gamma aminobutírico (GABA) sobre las neuronas dopaminérgicas, que proyectan al CE, para influir en la actividad colinérgica de éste, que a su vez excita a los somas GABAérgicos que proyectan a la SN, postulando una posible participación nigral en los procesos de memoria de largo plazo en un condicionamiento de prevención pasiva, en ratas.

Nota: A lo largo de este trabajo se usarán como sinónimos los términos siguientes: núcleo caudado (NC) caudado-putamen (CPU) y cuerpo estriado (CE).

ANATOMIA Y CITOARQUITECTURA DE LA SUSTANCIA NIGRA

El mesencefalo es la porción más pequeña y menos diferenciada del tronco del encéfalo; consta de:

1. El techo (tectum), representado por los tubérculos cuadrigéminos: superior e inferior
2. La calota mesencefálica (tegmentum), ventral al acueducto cerebral, y
3. Los pies de los pedúnculos cerebrales (crura cerebri).

El tegmentum y la crura cerebri están separados por una gran masa nuclear pigmentada, la SN.

La SN es la masa nuclear más voluminosa del mesencéfalo, ya que se extiende a todo lo largo de éste y en la parte más caudal del diencefalo.

Histológicamente se distinguen dos zonas: una dorsal, compacta o negra y otra ventral, reticular, de color castaño rojizo. La compacta (SNc) aparece como una faja irregular de grandes células poligonales o piramidales estrechamente unidas, que contienen gránulos de melanina. La SNc se extiende hasta la parte más caudal del mesencéfalo, donde está cubierta ventralmente por las vesículas protuberanciales. La zona reticular (SNr), o intermedia, se encuentra próxima al pie del pedúnculo cerebral y está constituida por células dispersas de forma irregular, ricas en hierro. Pueden observarse islotes de estas células internas entre las fibras del pie de los pedúnculos cerebrales. Esta zona se extiende hacia arriba dentro del

encefalo, donde se halla por delante del núcleo subtalámico.

Dorsal a la SN y ventrolateral al núcleo rojo existe una porción que contiene células dispersas de forma y tamaño diferentes, entre las cuales se observan grandes células con melanina; algunos autores consideran que esta región es una prolongación difusamente organizada de la SNc. Por fuera de la SN una capa de células pequeñas, el núcleo perpendiclar, cubre la superficie dorsal del pie del pedúnculo cerebral (18).

Tanto en la rata como en el gato la población neuronal de la SN se caracteriza porque en su mayoría las células son fusiformes o triangulares con un diámetro de 45 μm en el gato y de 28 μm en la rata. Su citoplasma se tiñe de oscuro y no se distinguen los corpúsculos de Nissl. En adición se observa en la SNr pequeñas neuronas redondas (12 a 15 μm) con citoplasma claro. El neuropilo nigral es muy abundante. La SNc presenta un neuropilo muy esparcido, mientras que en la SNr es la parte más prominente del subnúcleo. Las dendritas principales de las neuronas nigrales son relativamente delgadas y rectas; rara vez se ramifican y a menudo se prolongan a considerable distancia estrechándose cada vez más. La porción distal de las dendritas es muy delgada y a menudo en su recorrido se expanden presentando algunas varicosidades.

El neuropilo de la SNr, especialmente, presenta un

enorme número de fibras delgadas no mielinizadas formando haces. Además, existe un gran número de axones mielinizados (supuestamente de origen cortical) que atraviesan al núcleo en dirección rostrocaudal y ventrodorsal.

Con el microscopio de luz es posible identificar en la SN dos tipos de neuronas: grandes y pequeñas. Las neuronas ricas en organelos citoplásmicos probablemente representan a las neuronas grandes y las neuronas más chicas y pálidas con escasos organelos citoplásmicos probablemente representan a las neuronas pequeñas. Existen otras neuronas de tamaño intermedio y su clasificación como grandes o pequeñas es dudosa. Casi todas las neuronas son relativamente grandes y sus núcleos son lobulados, aunque existen otras con núcleos redondos y lisos. El nucleolo de las neuronas suele estar situado excéntricamente.

Algunas neuronas poseen un retículo endoplásmico granuloso prominente con un gran número de ribosomas libres en la porción medial de las dendritas. Las neuronas pequeñas poseen un número de pequeñas cisternas diseminadas en el retículo endoplásmico granular; como regla, el aparato de Golgi es muy prominente, y existe una gran cantidad de lisosomas y también un número moderado de mitocondrias alargadas.

Un número variable de botones hace sinapsis axosómicas con la membrana celular. La superficie del soma, libre de contactos sinápticos, está cubierta

por delgados procesos de células gliales. Es interesante mencionar que las sinapsis axosomáticas están colocadas una a lado de la otra, dando la impresión de que existe la tendencia de que los botones axosomáticos están agrupados.

En contraste, las dendritas que emergen están completamente cubiertas por numerosos botones que conforman a las sinapsis axodendríticas.

En la SN de la rata existen seis tipos de botones, a diferencia de la SN del gato en la que al parecer sólo existen tres tipos. En ambas especies el tipo más común de botón es el de vesículas pleomórficas (Tipo I). Este se caracteriza porque posee vesículas sinápticas densamente agrupadas y cuya forma varía de redondas a elípticas y alargadas. Las vesículas esféricas miden de 45 a 50 nm, mientras que las alargadas son de 550 por 30 nm. El axoplasma es oscuro debido a lo compacto de las vesículas. Es frecuente que existan de una a tres vesículas largas y granuladas (80 a 100 nm) por botón.

Los botones tipo I son los que se encuentran en mayor cantidad en las áreas de contacto sináptico de la porción proximal de las dendritas. El botón tipo I es también el más común en los botones de contacto de las sinapsis axosomáticas. Los botones de vesículas pleomórficas raramente se encuentran en las ramas delgadas y varicosas de las dendritas. Como regla, las sinapsis formadas por botones tipo I son simétricas.

Después de la destrucción del estriado en la rata y en el gato, este tipo de botón degenera; cuando se destruye el núcleo del rafe (dorsal y mediano) en la rata solo un pequeño número de botones degenera en la sustancia nigra (pars reticulada y compacta) limitado al tallo dendrítico. Los botones serotoninérgicos se caracterizan porque poseen un número considerable de vesículas grandes y granulosas, la mayoría de las cuales pertenecen al tipo II. Los orígenes de los otros cuatro tipos de botones (botón vesicular elongado, botón de vesícula redonda grande, botón de vesícula redonda pequeña y terminal clara) existentes en la SN aún permanecen sin ser investigados (4, 43, 51, 108).

Ultraestructuralmente en el gato, los botones sinápticos se clasifican en tres tipos, considerando las diferencias de tamaño y configuración de las vesículas sinápticas contenidas en las terminales nerviosas y las características de las membranas que contactan sinápticamente. El 90% de los botones son tipo I y son de origen estriatal. Estas terminales contienen una densa población de vesículas pleomórficas grandes y que forman contactos sinápticos simétricos. Los tipos II poseen vesículas esféricas más pequeñas y forman sinapsis asimétricas. Los botones tipo III son grandes y contienen vesículas pleomórficas dispersas; las sinapsis en las cuales se agrupan en racimos cerca de la membrana sináptica, suelen ser simétricas. Los tipos I y II son botones

terminales, mientras que los tipo III son de carácter "in
passant". Los orígenes de los botones tipo II y III se
desconocen (51, 93).

CONEXIONES DE LA SUSTANCIA NIGRA

Las dos subdivisiones de la SN se encuentran localizadas en los lados opuestos del circuito nigroestriatal; la SNr recibe fibras del caudado putamen (CPU), y la SNC envía fibras que terminan en el CPU. Sin embargo, existen otros tipos de conexiones que a continuación se describen.

Circuitos intrínsecos:

La SNr está densamente infiltrada por dendritas de la SNC (62, 111, 120).

Conexiones aferentes:

a) Aferencias del núcleo acumbens/estriado ventral (22, 86, 95, 126).

b) Aferencias del núcleo ventral de la amígdala (16, 69).

c) Aferencias de las regiones hipotalámicas anterior y posterior (22, 27, 86, 47, 125).

d) Aferencias del núcleo dorsal del rafe (46).

e) Aferencias del área peribranquial del núcleo tegmental pedunculopontino (45).

f) Aferencias del segmento externo del globo pálido (16).

g) Aferencias del segmento ventral del globo pálido (64).

h) Aferencias de la corteza cerebral (área motora y prefrontal) (46).

i) Aferencias del núcleo parafascicular del tálamo

(42, 118).

j) Aferencias de la habénula lateral (42, 118).

k) Aferencias del núcleo subtalámico (42, 118).

La mayoría de las aferencias de la SNr y SNC provienen principalmente del CP y del GP.

Existen proyecciones del núcleo acumbens a la SNC y del área peribranquial del núcleo tegmental pedúnculo pontino a la SNC y a la SNr, la última proyección es bilateral, aunque el componente ipsilateral es más denso. La sustancia nigra además, recibe proyecciones de la corteza, la habénula lateral, el núcleo parafascicular del tálamo, el núcleo subtalámico, la amígdala, el rafe y el hipotálamo. Todas ellas son ipsilaterales excepto las aferencias hipotalámicas que son bilaterales. Las aferencias ipsilaterales provienen del hipotálamo anterior y las contralaterales del hipotálamo posterior (79).

Conexiones eferentes:

Substancia nigra compacta

a) Eferencias a la corteza cerebral prefrontal-medial (42).

b) Eferencias al tegmento, una lateral difusa que termina en el tegmento lateral del mesencéfalo y del puente, y otra más medial que termina en el núcleo dorsal del rafe (47).

Substancia nigra reticulada

a) Eferencias al tálamo, de la porción lateral de la SNr a los núcleos parafascicular, ventromedial, mediodorsal y lateral dorsal (19, 37).

b) Eferencias al techo, de la porción ventral de la SNr a la capa gris intermedia del techo (37, 46).

c) Eferencias al área peribraquial del núcleo tegmental pedúnculopontino en su porción compacta (43).

Las proyecciones de la SN son muy complejas; sin embargo, está plenamente demostrado que ella proyecta masivamente al CP y al núcleo ventromedial del tálamo. Sin precisar la zona nigral de la cual emergen las proyecciones, se sabe que eferencias de la SN terminan en el núcleo subtalámico, la amígdala, el bulbo olfatorio, el colículo superior e incluso en la médula espinal.

De las eferencias nigrales enunciadas la mayoría son ipsilaterales, siendo bilaterales las del tálamo (núcleo mediodorsal, ventromedial y probablemente la del núcleo laterodorsal), las del colículo superior y las que provienen del techo del puente (79).

NEUROTRANSMISORES DE LAS CONEXIONES NIGRALES

Las neuronas del sistema nervioso central (SNC) sintetizan gran número de moléculas que funcionan como neurotransmisores.

Algunos de los probables neurotransmisores de las aferencias a la SN provenientes de la corteza cerebral, CP, GP y el núcleo del rafe son: glutamato y/o GABA (corteza cerebral), GABA, sustancia P y dinorfina (CP), GABA, (GP y núcleo acumbens) y serotonina (núcleo del rafe).

Existen evidencias de que las fibras que proyectan del hipotálamo a la SN liberan en ésta oxitocina y vasopresina.

Algunos estudios de lesión sugieren que al menos la proyección ipsilateral del núcleo tegmental pedunculopontino a la SN es de naturaleza colinérgica (79).

De los neurotransmisores de las aferencias de la SN, solo dos de éstos han sido identificados: la dopamina y el GABA.

Hay tractos dopaminérgicos al CPU, al GP, a la amígdala (82), al núcleo subtalámico (12, 82) al bulbo olfatorio y la médula espinal (79).

El GABA es el transmisor en las proyecciones al colículo superior y al tálamo (3). El GABA está también contenido en las proyecciones al tegmento (79).

Las neuronas del sistema nervioso central también sintetizan cierto número de neuropéptidos los cuales llevan a cabo ciertas funciones endocrinas específicas, porque a nivel sináptico actúan quizá como neurotransmisores y/o

como neuromoduladores, entre los que a nivel de los ganglios basales, tenemos a la colecistocinina y a la sustancia P tanto en el CP como en el GP y la SN, a la somatostatina y a la VIP en el CP y el GP, a la neurotensina y a la TRH en el GP, y a la vasopresina en la SN (79).

ACIDO GAMMA AMINOBUTIRICO (GABA)

Se acepta en la actualidad que el papel del GABA es el del principal neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso, tanto de vertebrados como de invertebrados (61).

La existencia del GABA en el cerebro se descubrió en 1950 y con el paso del tiempo ha sido posible identificarlo al menos en treinta sitios diferentes fuera del encéfalo, en concentraciones muy por debajo del 1% de los niveles cerebrales (36).

La glucosa, la principal fuente de energía del cuerpo, es el precursor más importante del GABA y quizá su principal fuente "in vivo". El aspartato y el piruvato también pueden servir como precursores del GABA.

Las rutas de formación del glutamato a partir de intermediarios del ciclo de Krebs, actualmente están bien establecidas y de ellas la más importante parece ser la transición del alfa-cetoglutarato para dar glutamato. El cual a su vez es descarboxilado por la glutamato descarboxilasa (GAD) con el fosfato de piridoxal como coenzima para formar GABA.

La degradación metabólica del GABA se lleva a cabo por medio de una transaminasa específica (GABA-T) la cual cataliza el transporte de un grupo amino al alfa-cetoglutarato, formando semialdehído succínico y glutamato, producto final que garantiza una disponibilidad continua del sustrato. Por otro lado, el semialdehído succínico formado a partir del GABA

es rápidamente oxidado a ácido succínico por la semialdehído succínico deshidrogenasa (SSADM) para en esa forma ingresar nuevamente al ciclo de Krebs (1, 127).

Al parecer, el glutamato formado sólo es convertido en GABA en las terminales nerviosas específicas, ya que la glía no posee GAD. Lo que sucede en la glía con el glutamato es que éste es transformado por la glutamina sintetasa a glutamina y bajo esta forma captada por la terminal nerviosa GABAérgica donde la enzima glutaminasa convierte a la glutamina en glutamato, conservando la disponibilidad del sustrato (127).

La GAD cataliza el único paso de síntesis del GABA en el SNC. Como todas las descarboxilasas de aminoácidos, la GAD requiere de fosfato de piridoxal como coenzima, la que a su vez es un factor importante en la regulación de la actividad de la GAD. En cuanto al fosfato de piridoxal, éste se sintetiza a partir de piridoxal y ATP por acción de la cinasa de piridoxal (1, 127).

La GAD se cataliza exclusivamente en las neuronas GABAérgicas, y está contenida en la porción soluble de las terminales sinápticas, aunque en presencia del ión calcio y de concentraciones altas del ión potasio se une a las estructuras membranales (127).

Las regiones del cerebro en que la GAD se encuentra más concentrada son la SN y GP, y existe una concentración intermedia de ella en el CPU y la corteza occipital (127).

Existen células no neuronales que presentan actividad de GAD en tejidos como el hígado, el riñón, el corazón, los

islotes pancreáticos, el plexo mientérico y los oviductos (36).

Otras líneas de evidencia indican que la descarboxilación no es el único camino para la síntesis de GABA en los tejidos periféricos y que el GABA se origina a partir de putrecina, "in vivo". El primer paso de esta cadena biosintética es catalizado por la diaminoxidasa que convierte a la putrecina (1, 4 -diaminobutano) en GABA- aldehído y a partir de éste, una aldehído deshidrogenasa forma el GABA. La biodegradación del GABA formado a partir de la putrecina es llevada a cabo por la GABA-T de igual manera que en el cerebro (36).

La GABA-T ha sido purificada de homogenados de cerebro de ratón. Se localiza fundamentalmente en las mitocondrias de las terminales nerviosas y al igual que la enzima GAD requiere de fosfato de piridoxal como coenzima (60, 127).

EL GABA COMO NEUROTRANSMISOR

El GABA es un neurotransmisor cuyas acciones son el resultado de una alteración en el receptor mediada por cambios en la permeabilidad iónica de la membrana postsináptica. El efecto del GABA en la membrana postsináptica es decrementar la excitabilidad de la neurona, a través de aumentar la conductancia de la membrana para el ión cloro, al activar al receptor específico (113).

La importancia de la función inhibitoria del GABA, es evidente si se toma en consideración la acción de algunas drogas que afectan la transmisión mediada por éste. Los efectos dramáticos de algunas de estas drogas son también evidencia de la importancia del GABA.

La presencia de actividad tónica en las vías GABAérgicas es rápidamente demostrada por las acciones de los antagonistas del receptor. Entre estos están la bicuculina que se une al receptor con alta afinidad y que actúa como antagonista GABA específico y también la picrotoxina, aunque este último compuesto más bien se une a una proteína de la membrana, distinta de los receptores del GABA, pero cuyas funciones son las de inhibir el incremento de la conductancia al ión cloro que sigue a la unión del GABA con el receptor (88). Algunos agonistas que mimetizan al GABA también han sido reportados. Por ejemplo, el muscimol que actúa como agonista en las neuronas espinales, y las benzodiazepinas que al parecer ejercen

sus acciones al actuar a través de una proteína distinta del receptor que acrecenta los efectos del GABA sobre la permeabilidad al cloruro.

Las convulsiones son causadas también por drogas que interfieren con la síntesis del GABA. La tiosemicarbazida, antagonista de la piridoxina, produce convulsiones ya que la enzima que sintetiza el GABA, requiere de fosfato de piridoxal como cofactor (113).

EL RECEPTOR GABAÉRGICO

Las señales químicas rápidas en el sistema nervioso actúan invariablemente de manera semejante a la acetilcolina a nivel de la unión neuromuscular, controlando la apertura de los canales iónicos en la membrana de las células blanco.

Los receptores GABAérgicos de las células blanco actúan abriendo los canales al ion cloro, lo que a su vez causa una inhibición al estabilizar el potencial de membrana de la célula blanco en o cerca del potencial de equilibrio para el cloruro.

En fechas recientes, el receptor GABAérgico-ionóforo de cloro ha sido intensa y extensamente estudiado. Los resultados de ello han sido conocer el mecanismo de acción de diversas drogas.

La bicuculina, una droga antagonista, al parecer actúa como un ligando competitivo en los sitios de reconocimiento del GABA; otro antagonista, la picrotoxina, bloquea no competitivamente la acción del GABA, al interactuar con el ionóforo de cloro; los barbitúricos y los tranquilizantes menores de la clase de las benzodiazepinas actúan también en los ionóforos de cloro, o en el acoplamiento de éste y los receptores GABAérgicos para mejorar los efectos del GABA.

Los barbitúricos facilitan la función del GABA, prolongando la acción de la apertura de los canales de cloro y las benzodiazepinas lo hacen incrementando la frecuencia de apertura de los canales al mismo ion en

respuesta al GABA (34, 61).

La avemictina, un agente neurotóxico, actúa en un sitio diferente y al parecer produce una apertura irreversible de los canales de cloro por el GABA.

En los últimos años, una segunda clase de receptores para el GABA ha sido identificada y se ha denominado GABA-B para distinguirlo de los clásicos, GABA-A, arriba descritos. (53). Los receptores GABA-B difieren de los GABA-A porque no son bloqueados por la bicuculina; el baclofen es un agonista GABA-B.

Otros agonistas (muscimol, ácido 3-aminopropano sulfónico) que son potentes GABA-miméticos en los receptores GABA-A, son inactivos o débilmente activos en los receptores GABA-B. Los receptores GABA-B en el cerebro se localizan preferentemente a nivel presináptico en las neuronas monoaminérgicas. La activación de los receptores GABA-B inhibe la liberación de monoaminas (NE y 5-HT), pero el mecanismo de acción de este receptor se desconoce (61).

MECANISMOS GABAÉRGICOS PERIFÉRICOS

Al igual que en el SNC, fuera de él existen receptores GABAérgicos A y B. Los receptores GABA-A se encuentran en los ovarios, las suprarrenales, ciertos vasos sanguíneos y en las plaquetas sanguíneas. Los GABA-B han sido identificados en los ganglios autónomos, los oviductos (músculo liso), células de los islotes pancreáticos y células cromafines adrenales.

Respuestas fisiológicas al GABA

a) Tejido muscular liso

La contractilidad de varios segmentos del intestino de algunos mamíferos puede ser modulada por receptores GABAérgicos locales. El GABA produce contracción vía receptores GABA-A localizados en las neuronas colinérgicas postganglionares en el plexo mientérico. Por otro lado, los receptores GABA-B en el intestino inducen relajación por inhibición de los nervios colinérgicos postganglionares. El GABA estimula la contractilidad espontánea del oviducto aislado de conejo vía receptores GABA-B. Respuestas similares se han observado en tiras de útero.

La motilidad de la vejiga urinaria aislada es inhibida por GABA.

La liberación de acetilcolina puede ser provocada por el GABA en tiras de vesícula biliar. Este efecto es mediado por receptores GABA-A localizados en las neuronas colinérgicas postganglionares.

El GABA inhibe la liberación de norepinefrina y la

respuesta en espiga producida por la estimulación eléctrica en el conducto deferente aislado. Se piensa que estas acciones son mediadas por los receptores GABA-B localizados en las terminales adrenérgicas nerviosas. En la arteria pulmonar aislada, el GABA inhibe la respuesta contractil y la liberación de norepinefrina por los receptores GABA-B. Por otro lado, el GABA relaja a la arteria basilar con los receptores GABA-A del músculo arterial.

A través de los receptores GABA-B localizados en los nervios catecolaminérgicos inhibe la respuesta contractil del músculo anocoxigeo.

Las acciones del GABA sobre los receptores mencionados sugiere que "in situ", dicho neurotransmisor está involucrado en la modulación de la actividad motriz entérica, del transporte del ovulo y la fertilidad, la micción y el flujo sanguíneo tisular.

b) Tejidos endócrinos

La secreción hormonal de la hipófisis parece estar influenciada por el GABA de manera directa. Teniéndose así que los receptores GABA-A localizados en los lactótrofos inhiben la secreción de prolactina, los receptores GABA-A y GABA-B de los melanotrofos estimulan e inhiben respectivamente la secreción de la hormona estimulante de los melanocitos.

También se sugiere que los receptores GABA-B de los somatotrofos inhiben la liberación de la hormona del crecimiento.

Por otro lado, la secreción de hormonas, tales como la luteinizante, la adrenocorticotrófica, la tirotrófica y la vasopresina al parecer están influenciadas por el GABA-A a nivel hipotalámico.

El GABA que actúa en los receptores GABA-A libera catecolaminas de la médula adrenal aislada, así como también incrementa el flujo sanguíneo ovárico y la secreción de estradiol, pero decreta la liberación de progesterona.

Es importante mencionar que el GABA a nivel de la mucosa del antro gástrico "in vitro" estimula la liberación de gastrina, pero inhibe la de somatostatina; ambas acciones al parecer son ejercidas por los receptores GABA-B localizados en la superficie de las células secretoras. En el perfusado de páncreas de perro el GABA incrementa la liberación de somatostatina e inhibe la de insulina; todo ello por los receptores GABA-A. En el ser humano, se ha demostrado que la aplicación de GABA y de baclofen (agonista de los receptores GABA-B), pero no de muscimol (agonistas de los receptores GABA-A) incrementan los niveles plasmáticos de insulina y de glucagón.

c) Otros tejidos

Se ha observado que el GABA deprime o facilita las actividades respiratoria y vasomotora simpática a través de ambos receptores GABAérgicos en diferentes sitios de las vías reflejas respiratoria y cardiovascular (36).

De lo arriba anotado, se deduce que los sistemas GABAérgicos tisulares presentan respuestas fisiológicas

especificas que deben ser tomadas en cuenta al utilizar drogas que actuan sobre el sistema mencionado y la via de administraci3n de las mismas.

EL SISTEMA NIGROESTRIATAL Y SUS INTERACCIONES

La interacción funcional entre el GABA, la dopamina y la acetilcolina (Ach) en el SNE ha sido demostrada en diversos estudios. Existe suficiente evidencia que demuestra que el origen de las aferencias dopaminérgicas se localiza en la SN (131) y además que las fibras GABAérgicas del estriado proyectan a la SN (107, 138). Aunado a lo anterior, algunos autores (47) han demostrado que en el CE existen interneuronas colinérgicas que enlazan a las fibras terminales nigroestriatales dopaminérgicas y a las fibras de proyección estriadonigrales de naturaleza GABAérgica, constituyendo éstas, conexiones recíprocas entre la SN y el CE un sistema de realimentación (53, 54, 91).

Tanto los estudios electrofisiológicos como los bioquímicos y los farmacológicos (20) coinciden en que las fibras GABAérgicas estriatales descienden a la SN e inhiben a las neuronas dopaminérgicas de ésta. Por otro lado, trabajos anatómicos y bioquímicos han demostrado que las lesiones del CE reducen significativamente tanto la actividad del GAD como los niveles del GABA en la SN (40), resultados que a su vez han sido corroborados por Racagni y cols. (109) al hemiseccionar las fibras que conectan al NC con la SN, encontrando además, un incremento significativo de las concentraciones de dopamina en el CE. Esto sugiere que las

fibras GABAérgicas estriadonigrales afectan la actividad de las neuronas nigrales dopaminérgicas que proyectan al estriado.

Ademas de lo anterior, Groves y cols. (53, 54) al aplicar haloperidol o amfetamina y registrando simultaneamente en el CE y la SN, observan que cuando el haloperidol se administra directamente al estriado, lo que se obtiene es un aumento de la actividad neuronal de este y una inhibición simultanea de la descarga nigral, mientras que cuando es aplicado intranigralmente lo resultante es un incremento de la actividad a ese nivel con inhibición inmediata de la actividad neuronal del caudado. Por otro lado, si lo que se aplica al CE es la amfetamina, lo obtenido es disminución de la actividad eléctrica tanto a nivel de CE como de la SN, mientras que cuando se aplica tópicamente a la SN lo inducido es inhibición de su actividad con aumento paralelo de las descargas nigrales. Los mismos investigadores tambien observaron, que el haloperidol administrado ya sea por via intraperitoneal o endovenosa revierte los efectos de la amfetamina. Además, Penney y Young (91) demostraron que las neuronas dopaminérgicas a nivel de la SN se autoinhiben en respuesta a su activación.

McLennan y York (80, 81) demostraron que la aplicación de Ach en el NC, va seguida de un aumento de su actividad eléctrica, la cual es bloqueada por la administración tópica en el NC de atropina, y que la

aplicación intraestriatal de dopamina decremента significativamente la descarga neuronal a ese nivel. Estos datos sugieren que en el CE existen neuronas que pueden ser excitadas por la ACh e inhibidas por la dopamina. Graybiel y Ragsdale (47) también han reportado que desde el punto de vista anatómico existen en el NC interneuronas colinérgicas que conectan a las aferencias y a las eferencias estriatales entre sí.

Algunos trabajos farmacológicos, sugieren que las fibras dopaminérgicas nigroestriatales influncian la actividad de las interneuronas colinérgicas del CE, ya que la actividad de éstas al parecer se correlaciona de manera inversa con la actividad dopaminérgica de las fibras que provienen de la SN; es decir que, cuando se decremента la actividad dopaminérgica nigral enseguida se incrementa la descarga colinérgica estriatal (13, 121).

Algunos autores, como Consolo y cols. (30) y McGeer y cols. (77, 78) también han observado que la aplicación de antagonistas dopaminérgicos inducen un decrememento significativo de los niveles de ACh estriatal, mientras que otros investigadores (30, 71, 77, 78, 110) han encontrado que la administración de agonistas dopaminérgicos provocan el efecto opuesto, es decir un incremento de los niveles de ACh estriatal.

Las neuronas que contienen GABA se localizan en el CE y el GP, y sus terminales en la SN siendo esta última la que mayores concentraciones de GABA posee (51, 127).

Yoshida (137) encontró que la bicuculina y la picrotoxina, administradas por vía endovenosa, suprimen la inhibición de la descarga espontánea de las neuronas nigrales. Esto sugiere que el GABA, que es contenido y liberado por las aferencias estriatales, es el neurotransmisor de naturaleza inhibitoria a nivel de la SN, dato que ha sido corroborado por Kemp (63) y el propio Yoshida (137) al seccionar la vía estriado-nigral y obtener una disminución muy importante de los niveles de GABA en la SN.

Bartholini y cols. (8) observaron que tanto la picrotoxina como la bicuculina incrementan la liberación de dopamina y los niveles de Ach estriatales.

Ladinski y cols. (72) utilizando picrotoxina obtuvieron un incremento de los niveles de Ach en el NC, y en otro grupo experimental un bloqueo de este incremento con pimozide, y alfametil-paratirosina. Los datos expuestos sugieren que la acción de la picrotoxina sobre la Ach estriatal es mediada a través del sistema dopaminérgico, propiniéndose que la liberación de dopamina a nivel estriatal sea el producto de la desinhibición de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales que sigue al bloqueo de sus receptores GABAérgicos nigrales. Estos son sitios donde el GABA actúa al ser liberado de las terminales que provienen del CP y que fueron demostradas por Yoshida y Precht (138) al estimular eléctricamente el CE y bloquear la actividad espontánea de la SN. Lo mismo se encontró por la

aplicación microiontoforética de GABA a nivel de la SN y el efecto fue revertido por la administración intravenosa (138) y microiontoforética (52) de picrotoxina.

De la información precedente, es posible integrar un asa anatomofuncional entre la SN y el CE, constituida por fibras dopaminérgicas que desde la SN proyectan al NC haciendo sinapsis con interneuronas colinérgicas a este nivel, las que a su vez contactan con neuronas GABAérgicas que descienden a la SN para regular la actividad de las neuronas dopaminérgicas, las que se autoinhiben en respuesta a su activación y cuyas fibras de proyección completan el asa mencionada a nivel del CP.

Los datos aquí expuestos permiten aseverar que el SNC es una realidad y como tal sirve de base al presente trabajo.

PARTICIPACION DEL SISTEMA NIGROESTRIATAL EN LOS PROCESOS DE MEMORIA Y APRENDIZAJE .

En los últimos años, se ha demostrado que algunas estructuras subcorticales participan de manera crucial en los procesos de memoria y aprendizaje, y de ellas en forma importante las que conforman el SNE.

Los estudios más demostrativos han sido llevados a cabo, manipulando experimentalmente la integridad del sistema aludido y la interacción neuroquímica de la transmisión a diferentes niveles del mismo.

De treinta años a la fecha se han hecho los suficientes trabajos de investigación que avalan que el CE y la SN están involucrados en los procesos de memoria y aprendizaje, ya que diversas manipulaciones experimentales (lesiones electrolíticas o neuroquímicas, estimulación eléctrica, etc.), provocan deficiencia o facilitación en los procesos mencionados (22, 23, 24, 25, 39, 59, 65, 85, 96, 114, 124).

Los trabajos que a continuación se describen confirman la participación del SNE en los procesos enunciados.

PAPEL DEL CUERPO ESTRIADO EN LOS PROCESOS DE MEMORIA Y
APRENDIZAJE

1. Efecto de lesiones

a) Permanentes

La lesión uni o bilateral del NC, en monos produce un déficit significativo en la emisión de respuestas de retardo (33).

Battig y cols. (9) observaron, en monos, que al lesionar bilateralmente al NC se obtenía una disminución en la ejecución de una respuesta de discriminación. Por otro lado, Chorover y Gross (32) encontraron que la lesión bilateral de la porción anterior del CPU en la rata, retarda significativamente la adquisición de un condicionamiento de alternación. Fox y cols. (41), en ratas con lesiones bilaterales del CP anterior encontraron un déficit significativo en la retención de una tarea de prevención pasiva, pero no en una tarea de prevención activa. Posteriormente Hansing y cols. (55) observaron que la lesión unilateral del CE, en ratas, inhibe las respuestas de presionar una palanca con la pata contralateral al sitio lesionado y que la lesión bilateral del CE produce pérdida completa de la respuesta con ambas patas.

Schmaltz e Isaacson (119) encontraron que la lesión del NE, en ratas, produce un deterioro temporal posquirúrgico de una conducta condicionada instrumental, previamente adquirida.

Por otro lado, Kirkby y Kimble (66) al lesionar al NC indujeron un déficit en la retención y en la adquisición de las tareas de prevención pasiva y activa en grupos independientes de ratas.

Winocur y Mills (132, 133) observaron que las ratas con lesión anteroventral del CE fueron capaces de aprender una tarea de prevención activa, pero no una de prevención pasiva. Además de lo anterior, estos mismos autores reportaron que las lesiones de la porción antero dorsal del NC impiden de manera significativa la adquisición de una respuesta de prevención pasiva pero no de una de prevención activa. Sin embargo, Kirkby y Polgar (67) encontraron que las ratas con lesión anterodorsal del caudado fueron más deficientes en la ejecución de la tarea de prevención activa, que las ratas con lesión anteroventral del CE.

Winocur y Mills (132, 133), y Kirkby y Polgar (67) en sus trabajos de lesión del NE, encontraron efectos opuestos sobre el condicionamiento de prevención activa. Esta discrepancia al parecer fue resuelta por Neill y Grossman (87) quienes observaron que las lesiones ventrales del CFU son más efectivas para producir incapacidad para aprender una respuesta de prevención activa que las lesiones de la porción dorsal.

Thompson (128) obtuvo un déficit significativo en la retención de un hábito de discriminación de brillantez al lesionar la porción posterior del NC, pero no cuando las lesiones se localizaron en la porción ventral de

la estructura mencionada. Posteriormente, Cervantes y cols. (21) trabajando con ratas, observaron que las lesiones del NC posterior indujeron un deficit significativo en la retención de una respuesta de prevención pasiva, no obteniendo efecto alguno cuando la lesión se localizaba en la porción rostral del estriado.

Los trabajos citados, por un lado, avalan que el CE participa en los procesos de memoria y aprendizaje, y por el otro sugiere la existencia de una heterogeneidad funcional de la estructura en cuestión.

b) Reversibles

En 1971, Brust-Carmona y cols. (14) encontraron, en gatos, que la aplicación de anestésicos locales en el NC, induce un incremento en el número de errores cometidos por los sujetos de experimentación en un entrenamiento de inhibición condicionada.

Por otro lado, Prado-Alcalá y cols. (104) demostraron, en gatos, que la ejecución de las respuestas condicionadas motoras es severamente impedida por la aplicación bilateral de KCl 3M en el NC. Este mismo autor y sus colaboradores (103) observaron que el bloqueo reversible con KCl 3M del CE, en ratas, da como resultado un deficit importante de la retención de una tarea de prevención pasiva. Además de lo antes mencionado, también se ha observado que la aplicación de KCl 3M en el caudado interfiere notablemente con la conducta de presionar una palanca, siendo de llamar la atención el que el efecto es menor conforme mayor es el

grado de entrenamiento (101).

Estudios más recientes llevados a cabo en ratas, han puesto de manifiesto que la aplicación bilateral de xilocaina al CE anterodorsal no impide la retención de una tarea "sobrentrenada" de prevención pasiva, pero sí cuando es "normal", (92).

Los hallazgos arriba mencionados sugieren que la actividad del NC es necesaria para la regulación motora, que sirve de base a las respuestas aprendidas y para el establecimiento de las respuestas estudiadas, pero que conforme avanza el grado de entrenamiento dicha actividad al parecer ya no es tan esencial.

2. Efecto de la estimulación eléctrica

La estimulación eléctrica de cualquier estructura neural resulta en la interrupción de su actividad normal, ya que produce una respuesta sincrónica de múltiples elementos neuronales desorganizando y deteriorando así la función de la estructura en cuestión.

Varios investigadores han observado que la estimulación eléctrica del CPU induce un deterioro significativo en la retención de una tarea de prevención pasiva (57, 94, 124, 136). Por otro lado, Wyers y Deadwyler (136) ampliaron estas observaciones, al encontrar que las deficiencias en la retención de las tareas de prevención son dependientes del tiempo, es decir, que cuando la estimulación del CPU se aplica cinco minutos después del entrenamiento, lo obtenido es amnesia, mientras que cuando la estimulación se retarda 15 minutos ya no hay tal efecto.

Además de lo anterior, Peeke y Herz (90), en estudios llevados a cabo en ratas implantadas en forma permanente con electrodos intraestriatales y sometidas a un aprendizaje de laberinto, y que fueron estimuladas con pulsos simples después de recibir el reforzador, encontraron que se retardaba la adquisición de la tarea, mientras que cuando en otro grupo independiente de ratas sometidas al mismo paradigma experimental que recibían pulsos múltiples, simplemente los sujetos de estudio no adquirían el aprendizaje.

Es interesante mencionar que Grinberg-Zyberbaum y cols. (48) demostraron que cuando una rata observa la conducta instrumental de otra para obtener un reforzador positivo, la rata observadora adquiere la conducta operante más rápidamente que las que no han tenido la misma experiencia; sin embargo, cuando se estimula eléctricamente al estriado de las ratas observadoras durante el periodo de observación, estas se comportan como las que no tuvieron la oportunidad de observar. Los datos de esta sección permiten mencionar que la integridad funcional del CE es necesaria durante la adquisición de las conductas estudiadas.

3. Efectos de la manipulación de la actividad colinérgica.

El cuerpo estriado tiene los más altos niveles de acetilcolina del sistema nervioso (17, 70, 76, 121) ya que posee el aparato metabólico para ello (7, 35, 74).

a) Antagonistas colinérgicos

Ha sido demostrado ampliamente que la aplicación

directa en el CP de drogas anticolinérgicas produce un estado amnésico en los sujetos que han sido enseñados a presionar una palanca o a recorrer un "laberinto" recto para recibir un reforzador (97, 105) y además, retarda la adquisición de una conducta de automoldeamiento (11).

Hallazgos semejantes, fueron obtenidos por Neill y Grossman (87). Ellos aplicaron escopolamina en la porción anterodorsal del CE de ratas, encontrando que la adquisición de una tarea de prevención activa de dos vías se retardaba significativamente.

Prado-Alcalá y cols. (102) al aplicar atropina en el NC anterodorsal no encontraron efecto alguno sobre la ejecución de la respuesta de prevención activa estudiada. Sin embargo, en otro estudio (98) el mismo tratamiento indujo un decremento significativo de la respuesta de prevención activa de dos vías, solamente cuando el anticolinérgico se administró en la porción posterior del NC. Al parecer las discrepancias en los resultados de estos trabajos es debido a que Neill y Grossman (87) aplicaron la droga en la fase de adquisición de la tarea, y Prado-Alcalá y cols. (102) en la fase de mantenimiento con sujetos sobreentrenados y en el último caso (98) a que al igual que en el primer estudio la respuesta aprendida era de dos vías.

Haycock y cols. (57) estudiaron en ratas entrenadas a beber agua de un tubo y que fueron sometidas a un choque en las patas mientras bebían. Veinticuatro horas

después fueron probadas para determinar la retención de la experiencia. Observaron que si el choque en las patas era seguido por la aplicación directa de escopolamina al CP rostral, se provocaba un serio deterioro en la retención de la experiencia. Posteriormente, Prado-Alcalá y cols. (96, 106) demostraron que existe una relación "dosis - efecto" entre la aplicación, en el CP, de diferentes cantidades de atropina y el grado de amnesia inducida por la droga.

También ha sido demostrado que los procesos de memoria de corto plazo no dependen de la actividad colinérgica del CE (96, 106). Para esto, los autores entrenaron ratas en la tarea de prevención pasiva e inyectaron atropina en el CE dos minutos después del entrenamiento y la retención de la tarea se midió a los treinta minutos y a las veinticuatro horas, encontrándose sólo amnesia cuando se midió la retención a las veinticuatro horas. Por otro lado, el mismo grupo de investigadores (105a) puso en evidencia que el proceso de consolidación de la memoria es dependiente del tiempo y de la actividad colinérgica estriatal, al evaluar los efectos del bloqueo colinérgico, inducido a los 2:00, 3:45, 7:30, 15:00 y 30:00 minutos después de la sesión de entrenamiento de una tarea de prevención pasiva, en ratas. Como era de esperarse, al medir la capacidad de retención veinticuatro horas más tarde, solamente los grupos inyectados a los 2:00 y a los 3:45 minutos presentaron amnesia.

Además, Prado-Alcalá y Cobos-Zapain (99) encontraron que conforme aumenta el nivel de entrenamiento de una tarea reforzada positivamente, el efecto de la atropina intraestriatal llega a ser nulo sobre la ejecución de ella.

Aunado a los trabajos ya citados, Sanberg y cols. (117) al aplicar intraestriatalmente AF64A (neurotóxico colinérgico) también indujeron incapacidades significativas en la adquisición y el mantenimiento de un aprendizaje de prevención pasiva.

b) Agonistas colinérgicos

La aplicación de acetilcolina en el estriado acelera la adquisición de la conducta de presionar una palanca (15) y en forma similar, la aplicación de colina también incrementa el nivel de ejecución de dicha tarea, una vez que ha sido aprendida (120).

Por otro lado, cuando se inyecta colina en el CE, tanto la retención como la ejecución las tareas de prevención pasiva y activa se mejoran significativamente (38, 98). También se ha reportado que el entrenamiento de la prevención pasiva induce un incremento sustancial de la síntesis de acetilcolina en el CP (6). Los datos mencionados sugieren que la actividad colinérgica del NC está involucrada en la adquisición y mantenimiento de las conductas instrumentales aludidas.

4. Efectos de la manipulación de la actividad GABAérgica

a) Antagonistas GABAérgicos

En experimentos realizados en el NC anterodorsal, Chávez-Martínez y Prado-Alcalá (31) encontraron que el bloqueo con picrotoxina o bicuculina da como resultado un efecto dosis-respuesta, es decir, que a mayor dosis mayor decremento en la retención de una tarea de prevención pasiva.

Adicionado a esto, se tiene que Salado-Castillo y Prado-Alcalá (115) al administrar tópicamente picrotoxina en diversas porciones del CE observaron una diferente participación de las zonas mediales y de las laterales de la estructura en cuestión en la tarea de prevención pasiva, ya que encontraron un gradiente mediolateral de interferencia con la retención de la tarea, lo que sugiere la existencia de un gradiente de receptores GABAérgicos o quizá sea el grado de especificidad de los receptores.

La información precedente pone de manifiesto que, a nivel estriatal, tanto la actividad colinérgica como la GABAérgica se encuentran implicados en los procesos mnémicos.

b) Agonistas GABAérgicos

Martínez de Muñoz y Oscós (75) observaron, en ratas, que cuando por vía subcutánea administraban 5-metil, 5-fenil 2-pirrolidona (agonista GABAérgico) se facilitaba la adquisición de un aprendizaje de discriminación.

Shoji y cols. (122) encontraron que la aplicación intraperitoneal de ácido aminooxiacético inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de discriminación,

mejora notablemente la ejecución de la tarea en la siguiente sesión de prueba, obteniéndose el efecto opuesto al utilizar picrotoxina y la misma vía de administración. Estos mismos autores reportaron que cuando se aplicaron ambas sustancias en grupos independientes de ratas, sesenta minutos después del entrenamiento, los efectos sobre la ejecución de la respuesta fueron nulos. Los autores sugieren que el sistema GABAérgico central, juega algún papel en la formación de la memoria de largo plazo.

Algunos autores (130) han reportado que los ansiolíticos (agonistas GABAérgicos) facilitan la ejecución de respuestas de prevención activa, y que incluso pueden mejorar la conducta de prevención activa de ejecutores pobres.

Además de los datos citados, Misslin y cols. (83) observaron que cuando el Di-n-propilacetato (inhibidor de la GABA-T) es administrado por vía intraperitoneal treinta minutos antes de la prueba, a ratas y ratones, mejora significativamente sus respuestas de prevención activa; obteniendo el efecto opuesto cuando la tarea es de presionar una palanca. Estos mismos autores (84) utilizando ratones, encontraron que el Di-n-propilacetato aplicado por vía intraperitoneal treinta minutos antes del entrenamiento de una prueba condicionada aversiva facilita su adquisición.

Por otro lado, Banfi y cols. (5) trabajando con ratones, demostraron que el efecto amnésico de drogas electroconvulsivas aplicadas inmediatamente

después de la sesión de entrenamiento de una tarea de prevención pasiva y determinada por su latencia de retención a las veinticuatro horas, es antagonizado por el GABA si este es administrado por vía intraperitoneal sesenta minutos antes de la sesión de adquisición de la tarea.

Los trabajos precedentes permiten apoyar el que los sistemas GABAérgicos centrales intervienen de alguna forma en los procesos de adquisición y mantenimiento de algunas respuestas condicionadas.

5 Efectos de la manipulación de la actividad dopaminérgica

Prado-Alcalá y Cobos-Zapain (99) reportaron que la aplicación de haloperidol en el NC de gatos entrenados a ejecutar una tarea instrumental tiene como consecuencia un incremento en la ejecución de la respuesta operante.

Por otro lado, ha sido demostrado que las lesiones pre-entrenamiento ipsi o bilaterales del haz dopaminérgico nigroestriatal con 6-hidroxidopamina, bloquean los déficits mnémicos inducidos por la estimulación de la SN, y que el déficit de la memoria inducido por la estimulación del CF no es afectado por la lesión de la vía nigroestriatal (39). Estos resultados indican que el efecto mnémico inducido por la estimulación de la SN es mediado por la vía dopaminérgica nigroestriatal, pero que esta no está críticamente involucrada en los procesos de memoria y aprendizaje, como lo está el sistema colinérgico intraestriatal.

LA SUSTANCIA NIGRA Y LOS PROCESOS DE MEMORIA Y

APRENDIZAJE

1. Efecto de lesiones

a) Permanentes

Saldaña y Silva (116), después de aplicar 6-hidroxi-dopamina a la SN, en ratas, no encontraron déficits en la ejecución de tareas de prevención pasiva y activa. Por otro lado, Fibiger y Phillips (39) también encontraron que la lesión del haz nigroestriatal con 6-hidroxi-dopamina no interfiere con los procesos de memoria y aprendizaje.

Sin embargo, Mitcham y Thomas (85) al lesionar eléctricamente a la porción rostral de la SN en grupos independientes de ratas, estas presentaron retardos significativos en la adquisición de tareas de prevención activa y pasiva. Estos autores consideran que sus resultados se explican en términos de la íntima relación anatómica y neuroquímica de la SN con el CP.

Más recientemente, Thompson y cols. (129) dieron cuenta de que, tres semanas después de lesionar las partes laterales de la pars compacta y la pars reticulada de la SN con ácido iboténico, se obtiene como resultado una adquisición significativamente inferior a la de los grupos control en tareas de discriminación visual y de laberinto. Sugiriendo que con estos datos no es posible

determinar cual de las porciones de la SN sea la involucrada en el proceso de los aprendizajes estudiados. Sin embargo, hacen hincapié en que quizá sean las células dopaminérgicas nigrales las que intervienen en el aprendizaje.

Es importante anotar que aunque los resultados expuestos en este apartado no son concluyentes, si se considera que la SN, el CE y sus relaciones neuroanatómicas y neuroquímicas se encuentran funcionalmente enlazadas y participan en los procesos de memoria y aprendizaje.

2. Efecto de la estimulación eléctrica

Routtenberg y Holzman (114) demostraron que la estimulación eléctrica de la SN pars compacta, en ratas, durante o inmediatamente después de la adquisición de una respuesta de prevención pasiva impide la retención de la tarea veinticuatro horas más tarde.

Bajo las mismas condiciones experimentales, pero estimulando a la SN pars reticulada, la retención de la tarea no se decrementó. Esto sugiere que la SN pars compacta forma parte de un sistema importante para consolidar o almacenar información. Esta observación es de particular interés, ya que la SN pars compacta es el sitio de origen de la vía nigroestriatal dopaminérgica.

Fibiger y Phillips (39) corroboraron los resultados obtenidos por Routtenberg y Holzman (114) y además, encontraron que la lesión del haz nigroestriatal, por sí

sola no afecta ni la adquisición, ni la retención de una tarea de prevención pasiva. De lo citado, los autores sugieren que la estimulación de la SN pars compacta provoca una liberación excesiva de dopamina en el NC que interfiere con sus eventos sinápticos, que son substratos de los procesos mnémicos.

En 1978, Staubli y Huston (124) observaron también, que la estimulación eléctrica de la SN, post-entrenamiento, induce amnesia anterógrada para un aprendizaje de prevención pasiva. Los autores explican que este resultado es debido a los efectos perturbadores de la estimulación eléctrica de la sustancia nigra.

Las evidencias precedentes avalan que la integridad funcional de la SN compacta, es esencial para los procesos de memoria y aprendizaje de manera semejante al CE.

3. Efectos de la manipulación de las actividades dopaminérgicas y GABAérgica.

Es bien conocido que la estimulación del NC induce amnesia para algunas tareas aprendidas y de manera similar, el que la estimulación eléctrica de la SN induce amnesia retrógrada, para la retención de respuestas de prevención pasiva.

Por otro lado, ha sido demostrado que los efectos amnesicos de la estimulación post-entrenamiento de la SN pueden ser prevenidos por lesiones del haz nigroestriatal con 6-hidroxi-dopamina, lo cual sugiere que la dopamina algún papel juega en la amnesia inducida por la estimulación de la SN.

Cobos-Zapain y Prado-Alcalá (25) observaron que la aplicación de haloperidol en la SN inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de prevención pasiva, lo obtenido fue un déficit significativo en la retención de la tarea medida a las veinticuatro horas. Los autores sugieren que este efecto es debido al bloqueo de la actividad dopaminérgica, mediado por autoreceptores somáticos o dendríticos de las neuronas nigrales que proyectan al CP.

Kim y Routtenberg (65) demostraron que la inyección de picrotoxina en la SN rostral, también induce amnesia. Resultados similares fueron obtenidos por Cobos-Zapain y Prado-Alcalá (22, 23) al aplicar picrotoxina o bicuculina a la SN, en ratas utilizando un paradigma de prevención pasiva.

Además de los trabajos mencionados, Huston y Staubli (59) observaron que la aplicación de sustancia P a la SN reticulada induce amnesia cuando se aplica inmediatamente después del entrenamiento. Los autores creen que las proyecciones estriado nigrales contienen sustancia P y que cuando son activadas excitan a las neuronas dopaminérgicas de la SN compacta, que proyecta al CE y que dan como consecuencia una excesiva liberación de dopamina a nivel estriatal lo que a su vez bloquea la actividad de las interneuronas colinérgicas locales, interfiriendo así con los procesos de memoria y aprendizaje.

En resumen, los trabajos de investigación existentes en

la literatura permiten sugerir que el sistema nigroestriatal
esta involucrado en los procesos de memoria y
aprendizaje, lo cual avala la realización del presente
trabajo.

SECCION EXPERIMENTAL

Antecedentes relevantes e hipótesis

Existen suficientes evidencias en la literatura que ponen de manifiesto que el sistema nigroestriatal participa en los procesos de memoria y aprendizaje, y en particular en la adquisición y ejecución de conductas instrumentales. Los estudios más relevantes han sido llevados a cabo interfiriendo con la integridad anatomofuncional del sistema en cuestión.

La estimulación eléctrica y las lesiones electrolíticas o neuroquímicas del CPU o de la SN producen impedimentos significativos en la retención de tareas motivadas aversivamente (21, 32, 41, 48, 55, 66, 67, 85, 87, 94, 96, 114, 116, 117, 124, 128, 129, 132, 133, 134, 135, 136) y resultados similares se obtienen, cuando se bloquea la actividad sináptica colinérgica del CE (11, 38, 44, 57, 87, 96, 97, 99) y la GABAérgica de la SN (25, 65). Otros estudios han demostrado que la aplicación de cloruro de potasio o de anestésicos locales en el CPU tienen como resultado déficits significativos en la retención de tareas reforzadas negativa o positivamente cuando los animales de experimentación reciben cantidades de "reforzador normales" (baja intensidad del choque eléctrico en las patas o bajo nivel de entrenamiento al ejecutar una respuesta operante); pero si los sujetos son sobreentrenados, los tratamientos antes mencionados tienen como efecto que conforme avanza el grado de entrenamiento, el decremento

de la ejecución de la conducta estudiada es menor hasta llegar a ser nula (92, 96, 99, 101), Aunado a lo anterior, se tiene que cuando se aplican antagonistas GABAérgicos ya sea al CE o a la SN, estos inducen déficits significativos en la retención de tareas reforzadas "normales" de naturaleza aversiva (25, 31, 65, 115).

Los datos enunciados apoyan las hipótesis de que:

a) La integridad anatomofuncional del CE, y en particular su actividad colinérgica, es necesaria para la adquisición y etapas iniciales del mantenimiento de conductas instrumentales, y que después del sobreentrenamiento de éstas la Ach del CE ya no está involucrada en el mantenimiento de tales conductas; siendo un sistema neuroquímico diferente el que se hace cargo de la mediación de ellas.

b) En condiciones de sobreentrenamiento el papel funcional del NC sea reemplazado por otras estructura neuronales y

c) La actividad GABAérgica del sistema nigroestriatal también sea esencial para la adquisición y etapas primarias del mantenimiento de conductas operantes.

Debido a que el sobreentrenamiento protege contra los déficits de memoria cuando la actividad del CPU está perturbada, pudiera predecirse que un efecto semejante se hallaría cuando la actividad sináptica de un eslabón anatomofuncional del estriado también lo estuviera. Es por ello que, tomando en cuenta que al parecer la integridad anatomofuncional del sistema

nigroestriatal es un requisito para el establecimiento de la memoria de largo plazo, en este trabajo se decidió explorar los efectos del bloqueo GABAérgico intranigral sobre los procesos mnémicos.

HIPOTESIS DE TRABAJO:

"LA APLICACION DE PICROTOXINA O BICUCULINA EN LA SUSTANCIA NIGRA DE RATAS PRODUCIRA UN DEFICIT EN LA RETENCION DE UNA TAREA DE PREVENCION PASIVA, INVERSAMENTE PROPORCIONAL A LA MAGNITUD DEL REFORZADOR AVERSIVO RECIBIDO".

MATERIAL Y METODOS

Para probar experimentalmente esta hipótesis se llevaron a cabo dos experimentos:

METODO GENERAL:

ANIMALES

Se utilizaron ratas macho, de la cepa Wistar, experimentalmente ingenuas, de 250 a 350 g de peso, las cuales fueron alojadas individualmente en cajas de acrílico con acceso libre a agua y comida, mantenidas bajo condiciones de iluminación constante.

CIRUGIA

Bajo anestesia con nembutal (50 mg/Kg/ I.P.), cánulas de doble pared (interna: aguja dental No. 27 y externa: aguja hipodérmica No. 21) fueron implantadas bilateralmente en la SN o en la zona incerta (2) suprayacente a la SN, (A = -5.3, L = 2.5 y H = -7.5 y A = -4.8, L = 3.0 y H = -6.8, respectivamente). Las cánulas de la SN se

localizaron en su porción reticular donde la mayoría de las terminales GABAérgicas hacen sinapsis con las dendritas de las neuronas cuyos somas se encuentran en la SN compacta (112). La Z se localiza a 1.5 mm por arriba de la SN. Las coordenadas estereotáxicas fueron tomadas del atlas de Paxinos y Watson (89). Los animales implantados se mantuvieron de 6 a 8 días en recuperación de los procedimientos quirúrgicos antes de que el entrenamiento fuera llevado a cabo. Para evitar las posibles infecciones postquirúrgicas se aplicaron 50,000 U/Kg/ I.M. de penicilina procaínica a cada rata una vez terminado el proceso de implantación. Además fueron estudiados grupos de animales no implantados.

APARATOS

El entrenamiento y la prueba de retención fueron llevados a cabo en una caja de madera de dos compartimientos del mismo tamaño (30 x 30 x 30 cm) separados entre sí por una puerta de guillotina. La tapa de cada compartimiento y la puerta de guillotina fueron hechas de lucita anaranjada transparente; el piso de uno de los compartimientos fue hecho de barras de aluminio (6 mm de diámetro) separadas 1.5 cm unas de otras. Las paredes laterales en forma de V del otro compartimiento eran de laminas de acero inoxidable; cada una de ellas se continuaba hasta la mitad del piso donde existía una separación entre ellas de 1.5 cm. De esta manera, las ratas siempre estaban en contacto con ambas paredes. Estas paredes podían ser electrificadas con un

estimulador que producía una corriente directa y constante, conectado en serie a un generador de pulsos (LVE/BRS módulo PG/901). La iluminación era producida por un foco de 10 watts localizado en el centro de la tapa del compartimiento emparrillado. La caja ya descrita se encontraba localizada en un cuarto sonoamortiguado.

PROCEDIMIENTO

Entrenamiento

La sesión de entrenamiento o adquisición consistió en lo siguiente: se introdujo al sujeto de experimentación al compartimiento emparrillado o de seguridad (CS) y 10 segundos más tarde se abrió la puerta que divide a los compartimientos, permitiendo al animal pasar el compartimiento electrificable o de castigo (CC). Una vez que la rata pasó al CC se cerró la puerta y se aplicó un choque eléctrico en las patas y 5 seg después se abrió la puerta (manteniendo la aplicación del choque) permitiendo escapar al sujeto al CS, cerrando nuevamente la puerta y manteniendo al sujeto allí 30 seg más, para luego regresarlo a su caja-hogar. Se midió la latencia de adquisición (LA) o de pase del CS al CC y la latencia de escape (LE) o de pase del CC al CS. La intensidad de los choques será especificada en cada uno de los experimentos.

SESION DE RETENCION (SR)

Veinticuatro horas después de la SA se llevó a cabo la SR. Se introdujo al animal al CS y a los 10 seg se abrió la puerta y se midió el tiempo que tardó en pasar al

CC; en esta ocasión no se aplicó el choque eléctrico. Si la rata no pasaba al CC al cabo de 600 seg la sesión se daba por terminada, regresándose al animal a su jaula y se le asignaba un puntaje de 600, al tiempo que la rata tardaba en pasar al CC a CS se le denominó latencia de retención (LR).

TRATAMIENTOS

Una inyección de picrotoxina (P) o de bicuculina (B), disuelta en 1 μ l de solución salina isotónica (NaCl), fue infundida a través de las cánulas implantadas, dos minutos después del entrenamiento. El procedimiento de inyección fue llevado a cabo en un cuarto diferente del de entrenamiento y prueba. Todas las inyecciones fueron bilaterales, en un volumen de 1 μ l a través de cada cánula, durante un minuto; después de inyectada la solución los inyectores se dejaron dentro de las cánulas un minuto más, para permitir una mejor difusión de ella. Cada rata fue inyectada solo una vez. Durante el proceso de inyección los animales no fueron inmovilizados y pudieron desplazarse libremente en sus cajas-hogar, evitándose así las reacciones de estrés que pudieran interactuar con el efecto de los tratamientos.

La microinyección se llevó a cabo con una bomba de infusión SAGE modelo 355, acoplada a una microjeringa Hamilton (50 μ l) conectada por medio de un tubo de polietileno a un inyector de la misma longitud y diámetro que la cánula interna que servía de tapón.

REGISTRO ELECTROGRAFICO

Para descartar si el efecto del tratamiento inducía perturbaciones electrográficas que pudieran interferir con los procesos de memoria y aprendizaje durante el lapso inmediato al entrenamiento de la tarea de prevención pasiva, se procedió a evaluar el efecto que dicho tratamiento producía mediante registros electrográficos. Para ello, se utilizaron cinco ratas macho Wistar experimentalmente ingenuas de 250 a 350 gramos de peso, las cuales fueron anestesiadas con Ketalar (60 mg/kg/V.I.M.) e implantadas unilateral y crónicamente con electrodos de acero inoxidable en las siguientes regiones: amígdala basolateral (A = -2.8; L = 4.7 y H = -8.1), corteza frontal (A = 3.7, L = 2.5 y H = -1.1), corteza parietal (A = Bregma, L = 3.0 y H = -0.8) y SN (A = -5.3, L = 2.5 y H = -7.5) (89).

Los electrodos corticales eran de acero inoxidable y fueron colocados sobre la corteza en el cráneo para registro electrocorticográfico epidural.

La actividad de las estructuras bajo registro se filtró en un rango de 1 a 30 Hz y la velocidad del papel para registro fue de 5 mm/seg.

Diez minutos antes de la microinyección tópica de picrotoxina (0.5 µg disuelta en 1 µl de solución salina isotónica) en la SN, se realizó un registro control por 10 minutos y luego de la microinyección, el registro se mantuvo por 60 minutos.

Las ratas utilizadas fueron sacrificadas, su cerebro

extraído y analizado histológicamente en la forma que se describe en el inciso que sigue.

HISTOLOGIA

Al finalizar cada experimento, todas las ratas implantadas fueron sacrificadas con una sobredosis de nembutal y perfundidas intracardialmente, primero con NaCl y luego con formalina al 10%. Los cerebros fueron extraídos y mantenidos en formol al 10%, al menos durante una semana antes de que se hicieran cortes histológicos coronales (50 μ de espesor), para luego teñirlos con la técnica de Nissl y poder así determinar el sitio donde se encontraban las cánulas o los electrodos.

ESTADISTICA

La prueba de Bartlett demostró que no había homogeneidad de varianza entre los grupos. Por lo que se procedió a la aplicación del análisis de varianza no paramétrica de Kruskal-Wallis, para comparar los puntajes de las LA, LE y LR entre los grupos, y en su caso la prueba de U de Mann-Whitney para comparar las ejecuciones de cada grupo con respecto a cada uno de los demás.

Los análisis estadísticos se realizaron con ayuda de una computadora Cromemco System I.

EXPERIMENTO I

Kim y Routtenberg (65) demostraron que la microinyección unilateral nigral postentrenamiento de picrotoxina produce un déficit en la retención de una tarea de prevención pasiva. En el presente trabajo, se deseó

corroborar tal hallazgo y probar otras dosis de picrotoxina, así como un bloqueador de los receptores de GABA-A, la bicuculina, utilizando un paradigma experimental y de inyección diferente. Este experimento fue también importante ya que permitió determinar la dosis apropiada para ser utilizada en el segundo experimento. Durante la sesión de entrenamiento se utilizó un choque eléctrico de 0.2 mA.

TRATAMIENTO

Una microinyección de picrotoxina (0.25 o 0.5 μ g) o de bicuculina (0.5 a 1.0 μ g) disueltas en 1 μ l de NaCl fue aplicada a través de las cánulas implantadas, dos minutos después del entrenamiento; 1 μ l de solvente fue también inyectado a algunos sujetos experimentales.

GRUPOS

Ocho grupos de ratas fueron estudiados y se distribuyeron al azar como sigue:

No implantados (n = 8), inyectados en la Z con 0.5 μ g de picrotoxina (n = 10), del resto de los grupos fue inyectado en la SN con: NaCl (n = 10), 0.25 μ g de P (n = 9), 0.5 μ g de P (n = 8), 0.5 μ g de B (n = 10), 1.0 μ g de B (n = 7) y 0.5 μ g de P (n = 8) 15 minutos postentrenamiento.

RESULTADOS

HISTOLOGIA

Como se muestra en la figura 1, las puntas de las cánulas de los grupos de la SN se localizaron en su porción reticulada o a 400 μ de ella, mientras que las de la

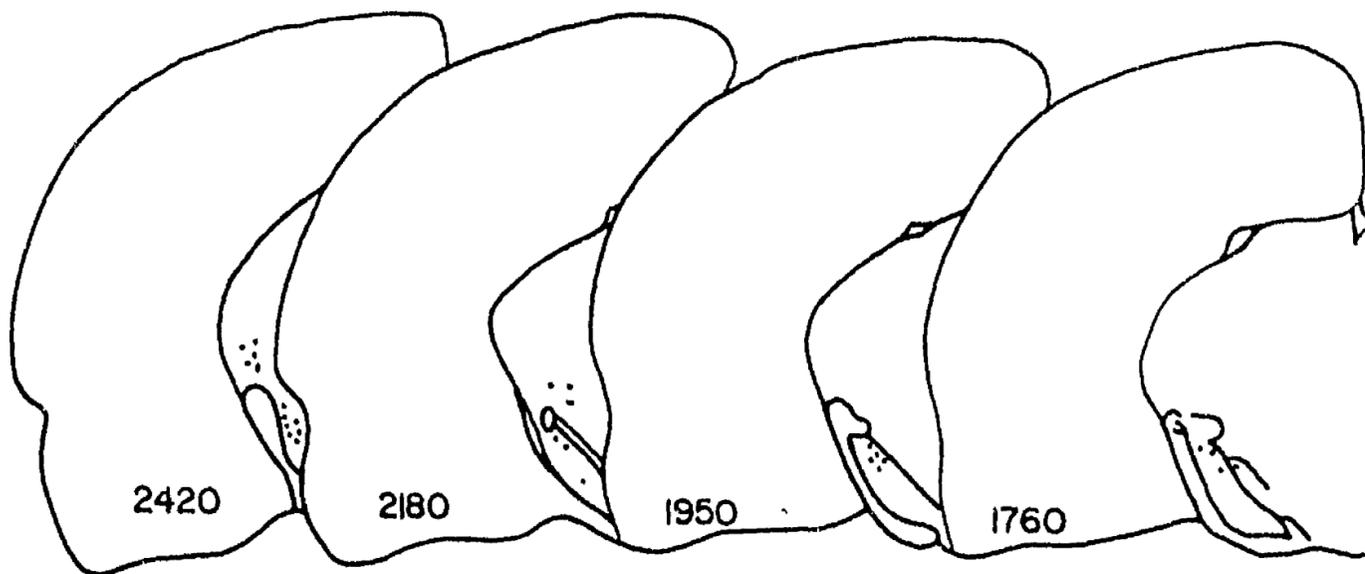


Fig. 1 Representación esquemática de los sitios de inyección en la sustancia nigra. El número de localizaciones de puntos mostrados es menor al total de las cánulas implantadas debido a que en diferentes animales los puntos se encontraron en el mismo lugar. Solo se representan localizaciones en el hemisferio izquierdo. Las secciones coronales están sacadas del atlas de Koning y Klippel (68).

Z yacían disueltos a la SN (a más de 400 μ).

REGISTRO ELECTROGRAFICO

La aplicación bilateral intranigral de 0.5 μ g de P en 1 μ l de NaCl se ilustra en la figura 2. En el trazo control, el patrón electrográfico es normal, al igual que durante el periodo de microinyección, sin embargo 6 minutos después del registro, se aprecia, en la amígdala, actividad espicular de moderada amplitud, mezclada con ondas lentas; dicha actividad se mantiene y progresa en amplitud conforme transcurre el tiempo de registro; 15 minutos después de la inyección se observan espigas aisladas y grupos de poliespigas de gran amplitud, que siguen estando localizadas en la amígdala; entre los 20 y los 22 minutos ocurre una descarga generalizada, con espigas de gran amplitud en todas las estructuras de registro, estas descargas se repiten, durante la primera hora de registro en 5 ocasiones, teniendo una duración desde 30 hasta 40 segundos. Entre las descargas no se suprime la actividad de espigas aisladas de gran amplitud localizadas en la amígdala, y se mantienen por 60 minutos más.

HALLAZGOS CONDUCTUALES

El análisis de varianza demostró que no hubo diferencias significativas entre los grupos cuando se compararon las LA ($H = 10.819$, $gl = 7$ y $P = 0.147$). En contraste, diferencias altamente significativas fueron encontradas cuando se compararon las LE ($H = 14.933$, $gl = 7$ y $P = 0.037$) y la LR ($H = 29.836$, $gl = 7$ y $P = 0.0003$).

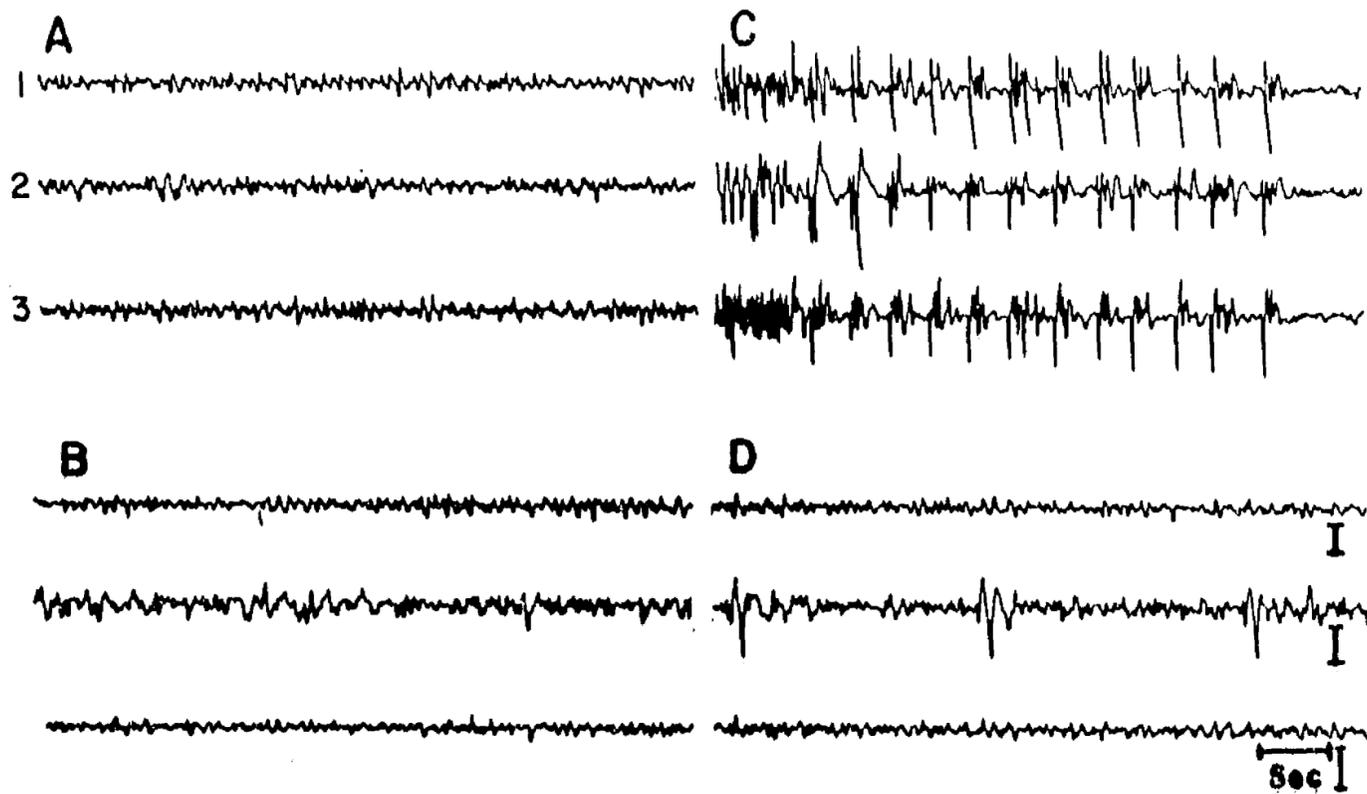


Fig. 2 Actividades electrocorticograficas de las cortezas frontoparietal izquierda y derecha, y de la amígdala izquierda (canales de registro 1, 3 y 2, respectivamente), A y B situaciones de registro antes y durante la microinyección; C y D a los 22 minutos y a los 60 minutos después del tratamiento. Las barras verticales indican la calibración a 50 μ V.

luego se calculó la diferencia entre la LR y la LA de cada uno de los sujetos experimentales de los diferentes grupos para obtener un mejor índice del aprendizaje de la tarea estudiada, procediéndose entonces a compararlos dando como resultado el análisis de varianza diferencias significativas ($H = 27.287$, $gl = 7$ y $P = 0.0006$)

Las comparaciones apareadas de las diferencias ayudadas demostraron que el grupo no implantado, no difirió de los grupos de la SN inyectados con: NaCl, 0.25 μ g de P, 0.5 μ g de B, 0.5 μ g de P 15 minutos postentrenamiento, ni del grupo implantado en la Z e inyectado con 0.5 μ g de P. A su vez cada uno de estos grupos tuvo un puntaje, en la diferencia de LR y LA, mayor que los animales implantados en la SN e inyectados con 0.5 μ g de P y 1.0 de B. Finalmente, los dos últimos grupos mencionados no difirieron entre sí, (Fig. 3).

EXPERIMENTO II

Como se estableció antes, el objetivo de este experimento fue determinar si el sobreentrenamiento de una tarea protegería a la memoria de los efectos amnésicos del bloqueo GABAérgico de la SN, de igual manera que el bloqueo de la actividad neural del NC con KCl 3M, atropina o xilocaina (92, 99, 100). Para probar esto, aquí se usó una tarea de prevención pasiva de un ensayo, que implica sólo una sesión de entrenamiento y la aplicación de un reforzador negativo (choque eléctrico en las patas), y se razonó que con el fin de sobreentrenar a los animales, en esta condición

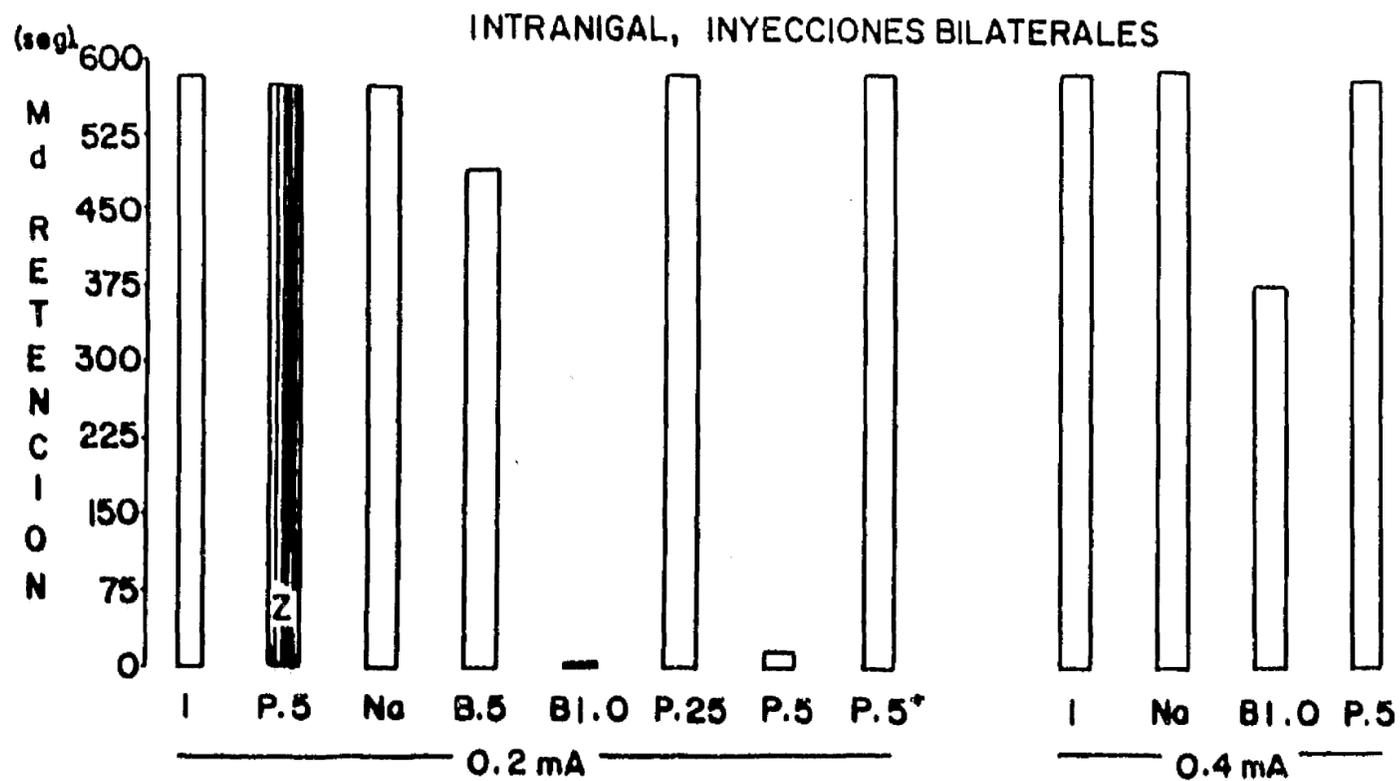


Fig. 3. Mediciones de retención de los grupos probados 24 horas después del entrenamiento. Las abreviaciones significan: I, ratas no implantadas que recibieron choque en las patas, pero que no fueron tratadas con sustancia alguna; Z P 0.5, ratas implantadas en la zona incerta e inyectadas con 0.5 ug. de picrotoxina; los siguientes grupos de ratas fueron implantados en la sustancia nigra e inyectadas con: Na, solución salina isotónica; B 0.5 y B 1.0, bicuculina 0.5 y 1.0 ug respectivamente; P 0.25, y P 0.5, picrotoxina 0.25 y 0.5 ug respectivamente; P 0.5, picrotoxina 0.5 ug, quince minutos después del entrenamiento. Todos los demás animales implantados fueron inyectados 2 minutos después del entrenamiento de la tarea.

experimental se variaría la magnitud del reforzador, aplicandose un choque eléctrico en las patas de intensidad relativamente alta, que sería equivalente a un gran número de reforzadores positivos.

TRATAMIENTOS

Una inyección de P (0.5 μ g) o de B (1.0 μ g) disuelta en 1 μ l de NaCl fue aplicada a través de las cánulas implantadas, dos minutos después del entrenamiento; 1 μ l de NaCl también fue inyectado a otras ratas. A todos los animales se les dió un choque en las patas de 0.4 mA durante el entrenamiento.

GRUPOS

Los cuatro grupos de ratas que fueron estudiados en este experimento fueron los siguientes:

No implantados (n = 8), inyectados en la SN con NaCl (n = 8), 0.5 μ g de P (n = 9) o 1.0 μ g de B (n = 9).

RESULTADOS

HISTOLOGIA

La punta de las cánulas se localizó, como en el experimento I, en la SN reticulada o a no más de 400 μ de ella.

HALLAZGOS CONDUCTUALES

El análisis de varianza de Kruskal-Wallis para muestras independientes demostró que hubo diferencias significativas entre los grupos cuando se comparó la LA (H = 7.878, gl = 3 y P = 0.048), no existiendo diferencias significativas cuando se compararon las LE (H = 2.6, gl = 3 y P = 0.121), posterior a lo

cual se compararon las diferencias entre las LR y LA de cada uno de los grupos, no obteniéndose significancias ($F = 7.471$, $gl = 3$ y $P = 0.058$). Ver Figura 3.

Además de los análisis estadísticos mencionados, también se procedió a comparar los puntajes de las diferencias de las LR y LA de cada uno de los grupos de los dos experimentos, utilizando la prueba de U de Mann-Whitney, la que reveló que los únicos grupos que presentaron diferencias significativas con respecto a los demás fueron los de P (0.5 μ g) y B (1.0 μ g) entrenados con una intensidad de choque de 0.2 mA.

DISCUSION

Los resultados del experimento I confirman los de Kim y Routtenberg (65). Un déficit de retención dosis-dependiente de la prevención pasiva fue encontrado después de inyectar los dos bloqueadores GABAérgicos. La especificidad se demostró a través de dos formas:

- 1) Los animales inyectados con P en la Z y
- 2) Aquellos inyectados con NaCl en la SN y que tuvieron puntajes de retención similares a los sujetos no implantados. De lo anotado se infiere que la P y la B muy probablemente produjeron sus efectos deficitarios via interferencia sináptica con la transmisión GABAérgica a nivel de las dendritas en la SN reticulada de las neuronas dopaminérgicas cuyos somas se localizan en la SN compacta.

En este trabajo se puede descartar que los déficits de retención hayan sido debido a interferencias con funciones

no mnémicas; tales como interferencia con actividades motoras, perceptuales o motivacionales, ya que todos los animales de experimentación fueron tratados después de haber sido entrenados y la retención de la tarea se midió después de que los efectos directos de las drogas se habían disipado. De tal manera que los sujetos fueron entrenados y probados en un estado libre de drogas.

En resumen, en el experimento I se demostró que la interferencia con la actividad GABAérgica de la SN produce un déficit de retención de la prevención pasiva. En el experimento de Kim y Routtenberg (65), se demostró que el bloqueo GABAérgico de la SN interfirió con la retención de la tarea, pero no con su adquisición. Al igual que en este experimento el bloqueo de la actividad GABAérgica fue también inducido inmediatamente después del entrenamiento, por lo que es adecuado postular que los impedimentos mnémicos sean debidos también a una interferencia con la consolidación de la memoria.

Además, la ausencia de efectos mnémicos después de la microinyección de picrotoxina 15 minutos después de la sesión de entrenamiento mitiga la posibilidad de que la picrotoxina inyectada a la SN, dos minutos post-aprendizaje hubiese producido el déficit de retención observado, por causar algunos cambios proactivos en la variable de ejecución durante la prueba de retención o bien, por los cambios electrográficos que se presentaron quince minutos después de la aplicación

nigral de picrotoxina (0.5 μ g). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la consolidación de la memoria es un proceso dependiente del tiempo y sugiere que la picrotoxina inyectada dos minutos después del entrenamiento bloqueó selectivamente los procesos de consolidación de la memoria y que por lo tanto, la actividad GABAérgica nigral está involucrada en dichos procesos.

Los datos obtenidos en este estudio permiten apoyar el trabajo de Routtenberg y Holzman (114) que implicó a la SN en la retención de una conducta de prevención pasiva.

En el experimento II no se encontraron efectos detrimentales en la memoria después de inyectar los bloqueadores GABAérgicos en la SN de las ratas que habían sido sobreentrenadas. Los sujetos de este experimento tuvieron una mejor ejecución que los que fueron igualmente tratados pero no sobreentrenados. Por otro lado, se tiene que las ratas sobreentrenadas no fueron afectadas en su retención y este hecho apoya por sí mismo la idea de que los déficits observados en el experimento I no fueron debidos a interferencias con otros procesos, no mnémicos; ya que si tal hubiera sido el caso los animales tratados con picrotoxina (0.5 μ g) o bicuculina (1.0 μ g) hubieran presentado los mismos déficits de retención.

Junto con los experimentos previos de este laboratorio, donde el sobreentrenamiento protegió a la memoria de los efectos de las microinyecciones intraestriatales

de antagonistas colinérgicos, de cloruro de potasio y de anestésicos locales (92, 99, 100), los presentes resultados sugieren que : 1) la consolidación de las tareas instrumentales es dependiente de la actividad neural del sistema nigroestriatal y 2) después del sobreentrenamiento las funciones de recuperación de la información, necesarios para ejecutar las tareas aprendidas son transferidos a otro(s) sistema(s) neural(es).

REFERENCIAS

1. Alger, B. E. GABA and glycine postsynaptic actions. En: Neurotransmitter actions in the vertebrate nervous system, ed. Roganoski, M. A. and Barker, J. L. New York: Plenum Pub. Corp. 1985. pp. 33-69.
2. Anden, N. E. and Stock, G. Inhibitory effects of gamma-hidroxybutiric acid and gamma-aminobutiric acid on the dopamine cells in the substantia nigra. *Neuron-Schm. Arch. Exp. Phat. Pharm.* 279:89-92, 1973.
3. Anderson, M. E. and Yoshida, M. Axonal branching patterns and location of nigrothalamic and nigrocellular neurons in the cat. *J. Neurol. Physiol.* 43:883-895, 1980.
4. Bak, I. J., Choi, W. B., Hassler, R., Usunoff, K. G. and Wagner, A. Fine structural synaptic organization of the corpus striatum and substantia nigra in rat and cat. *Adv. Neurol.* 9:25-41, 1975.
5. Banfi, S., Cornelli, U., Fonio, W. and Dorigotti, L. A. Screening method for substances potentially active on learning and memory. *J. Pharm. Methods.* 8:255-263, 1982.
6. Barker, L. A., Glick, S. D., Green, J. P. and Khandelwall, J. Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one trial passive training. *Neuropharmacology* 21:183-185, 1982.
7. Barret, E. F. and Magleby, V. C. Physiology of cholinergic transmission. En: *Biology of cholinergic function*, editado por: Golderg, A. M. and Hanin I. New York: Raven Press, 1976, pp. 29-100.

8. Bartholini, G., Stadler, H., Gades-Ciria, M. and Lloyd, K. C. The use of push-pull cannula to estimate the dynamics of acetylcholine and catecholamines within various brain areas. *Neuropharmacology*. 15:515-519, 1976.
9. Battig, K., Rosvold, M. E. and Mishkin, M. Comparison of the effects of frontal and caudate nucleus lesions on discrimination learning in monkeys. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 55:458-463, 1962.
10. Bentivoglio, M., Van der Kooy, D. and Kuypers, M. G. J. M. The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat: A retrograde fluorescence double labeling study. *Brain Res.* 174:1-17, 1979.
11. Bermudez-Rattoni, F. and Prado-Alcala, R. A. Cholinergic blockade of the caudate nucleus and autoshaping in rats. *Soc. Neurosci. Abst.* 5:314, 1979.
12. Brown, L. L., Makman, M. M., Wolfson, L. I., Dvorkin, B., Warner, C. and Katzman, R. A. direct role of dopamine in the rat subthalamic nucleus and adjacent intrapeduncular area. *Science* 206:1416-1418, 1979.
13. Browning, E. T. Acetylcholine synthesis: substrate availability and the synthetic reaction. In: *Biology of cholinergic function*. editado por Goldberg, A. M. and Hanin, I. New York: Raven Press. 1976. 187-201.
14. Brust-Carmona, H., Prado-Alcala y Grinberg-Zylberbaum, J. Bloqueo reversible de respuestas condicionadas por la aplicación de anestésicos locales en el núcleo caudado. *Bol. Est. Méd. y Biol. Méx.* 27:109-114, 1971.
15. Brust-Carmona, H., Prado-Alcala, R. A., Grinberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, F. J. and Zarco de

- Coronado, I. Modulatory effects of acetylcholine and catecholamines in the caudate nucleus during motor conditioning. En: Neurohumoral coding of brain function. Editado por Meyers, R. D. and Drucker-Colin. R. R. New York: Plenum Pub. Corp. 1974, pp. 171-187.
16. Bunny, B. S. and Aghajanian, G. K. The precise localization of nigral afferents in the rat as determined by retrograde tracing technique. Brain Res. 117:423-436, 1976.
 17. Butcher, S. G. and Butcher, L. L. Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. Brain Res. 71:167-171, 1974.
 18. Carpenter, M. B. Neuroanatomia humana. 5a. edición, Ed. Lib. El Ateneo Editorial. Buenos Aires, 1976, pp. 345-374.
 19. Carpenter, M. B., Nakano, K. and Kim, R. Nigrothalamic projections in the monkey demonstrated by autoradiographic technics. J. Comp. Neurol. 165:401-416, 1976.
 20. Cattabeni, F., Bugatti, A., Groppetti, A., Maggi, A., Parenti, M. and Racagni, G. GABA-neurotransmitters, editado por Krogsgard-Larsen, P., Scheel-Kroger, J. and Kofod, M. New York: Academic Press, 1976. pp. 107-117.
 21. Cervantes, V. G., Maldonado, M. G., Silva, R. M. E., Saldaña, L. M. y Prado-Alcalá, R. A. Núcleo Caudado II. Efectos diferenciales de la localización y tamaño de las lesiones electrolíticas en el núcleo caudado. XVIII Congreso Nal. de C. Fisiológicas. San Luis Potosí, México, 1975.
 22. Cobos-Zapain, G. G. y Prado Alcalá, R. A. Déficit en

- la memoria producido por la aplicación de bicuculina en la substancia nigra reticulada. V Congreso Nal. de la Soc. Mexicana de Psiquiatría Biológica. Puebla, México. 1986a.
23. Cobos-Zapalaín, G. G. y Prado-Alcalá, R. A. Aplicación de la picrotoxina en la substancia nigra reticulada. Efectos sobre la memoria de largo plazo, en una tarea sobreentrenada. XXIX. Congr. Nal. de C. Fisiológicas, Guanajuato, México, 1986b.
24. Cobos-Zapalaín, G. G. y Prado-Alcalá, R. A. Efectos de la aplicación de bicuculina en la substancia nigra sobre la memoria de largo plazo, en una tarea sobreentrenada. XXX Cong. Nal. de C. Fisiológicas, Xalapa, México, 1987a.
25. Cobos-Zapalaín, G. G. y Prado-Alcalá, R. A. Aplicación de haloperidol en la substancia nigra reticulada: efectos sobre la memoria de largo plazo. XXX Cong. Nal. de C. Fisiológicas, Xalapa, México, 1987b.
26. Conrad, L. C. A. and Pfaff, D. W. Autoradiographic tracing of nucleus accumbens efferents in the rat. Brain Res. 113:589-596, 1976a.
27. Conrad, L. C. A. and Pfaff, D. W. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat I. An autoradiographic study of the medial preoptic area, J. Comp. Neurol. 169:185-220, 1976b.
28. Conrad, L. C. A. and Pfaff, D. W. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat II. An autoradiographic study of the anterior hypothalamus. J. Comp. Neurol. 169:221-262, 1976c.
29. Consolo, S., Ladinski, M. and Bianchi, S. Decrease in

cat striatal acetylcholine levels by some direct and indirect acting dopaminergic antagonists. *Exp. J. Pharmacol.* 33:345-351, 1975.

30. Consolo, S. Bianchi, S. and Ladinski, M. Effect of carbamazepine on cholinergic parameters in rat brain areas. *Neuropharmacology* 15:653-657, 1976.
31. Chavez-Martínez, M. E. y Prado-Alcalá, R. A. Núcleo Caudado y Aprendizaje XXVII. Interferencia con la memoria de largo plazo por la aplicación de agentes bloqueadores del GABA. XXIX Cong. Nal. de C. Fisiológicas, Guanajuato, México, 1986.
32. Chorover, S. L. and Gross, Ch. G. Caudate nucleus lesions: Behavioral effects in the rat. *Science.* 141:826-827, 1963.
33. Dean, W. H. and Davis, G. D. Behavior changes following caudate lesions in rhesus monkey. *J. Neurophysiology* 12:525-527, 1959.
34. Dingemans, J. and Bremer, D. D. Benzodiazepines receptors. *Pharm. Inter.* 5:33-36, 1984.
35. Domino, E. F., Krause, R. R. and Bowers, J. Various enzymes involved with putative neurotransmitters. *Arch. Gen. Psychiat.* 29:195-201. 1973.
36. Erdo, S. L. Peripheral GABAergic mechanisms. *Trends in Pharm. Sci.* 6:205-208, 1985.
37. Faull, R. L. M. and Mehler, W. R. The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience.* 3:989-1002, 1978.
38. Fernández, S. M. Solodkin, M. M. and Prado-Alcalá, R.

A Blockade and activation of caudate cholinergic activity. Soc. Neurosci. Abst. 3:232, 1977.

39. Fibiger, M. C. and Phillips, A. C. Retrograde amnesia after electrical stimulation of the substantia nigra: mediation by the dopaminergic nigrostriatal bundle. Brain Res. 116:23, 1976.
40. Fonnum, F., Grofova, I. Rinvik, K., Storm-Mathisen, J. and Walberg, F. Origin and distribution of glutamate decarboxylase in substantia nigra of the cat. Brain Res. 71:77-92, 1974.
41. Fox, S. S., Kimble, D. P. and Lickey, M. V. Comparison of caudate nucleus and septal area lesions on two types of avoidance behavior. J. Comp. Physiol. Psychol. 58:380-386, 1984.
42. Gerfen, C. R. Staines, W. A., Arbuthnot, G. W. and Fibiger, H. E. Crossed connections of the substantia nigra in the rat. J. Comp. Neurol. 207:283-303, 1982.
43. Gerfen, C. R. The neostriatal mosaic. I Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. J. Comp. Neurol. 236:454-476, 1985.
44. Giordano, M. and Prado-Alcala, R. A. Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer. Pharm. Biochem. Behav. 24:905-909, 1986.
45. Graybiel, A. M. Direct and indirect preoculomotor pathways of the brainstem: An autoradiographic study of the pontine reticular formation in the cat. J. Comp. Neurol. 175-:37-78, 1977a.

46. Graybiel, A. M. Organization of the nigrotectal connections: An experimental tracer study in the cat. *Brain Res.* 143:339-348, 1978.
47. Graybiel, A. M. and Ragsdale Jr., C. W. Fiber connections of the basal ganglia. *Prog. Brain Res.* 51:239-283, 1979.
48. Grinberg-Zylberbaum, J., Carranza, M. B., Cepeda, G. B., Vale, T. C. and Steinberg, N. N. Caudate nucleus stimulation impairs the process of perceptual integration. *Physiol. Behav.* 12:913-918, 1974.
49. Grofova, I. The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 91:286-291, 1975.
50. Grofova, I., Deniau, J. M. and Kitai, S. T. Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labelled with HRP. *J. Comp. Neurol.* 208:352-368, 1980.
51. Grofova, I. and Rinvik, E. An experimental electromicroscopic study of the striatonigral projections in the cat. *Exp. Brain Res.* 11:249-262, 1970.
52. Grossman, A. R., Walker, R. J. and Woodruff, G. N. PicROTOXIN antagonism of GABA inhibitory response and synaptic inhibition in the rat substantia nigra. *Br. J. Pharmac.* 49:696-698, 1973.
53. Groves, P. M., Wilson, Ch. J. and Young, S. J. Self-inhibition by dopaminergic neurons. *Science* 190:522-529, 1975.

54. Grove, P. M., Fenster, G. A., Tepper, J. M., Nakamura, S. and Young, S. J. Changes in dopaminergic terminal excitability induced by amphetamine and haloperidol. *Brain Res.* 221:425-431, 1981.
55. Hansin, R. A., Schwartzbaum, J. S. and Thompson, J. B. Operant behavior following unilateral and bilateral caudate lesions in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 66:378-388, 1968.
56. Hattori, T., Fibiger, W. C. and McGeer, P. L., Demonstration of a pallido-nigral projection innervating dopaminergic neurons. *J. Comp. Neurol.* 161:487-504, 1975.
57. Haycock, J. W., Deadwyler, S. A., Sideroff, S. I. and McGaugh, J. L. Retrograde amnesia and cholinergic system in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Exp. Neurol.* 41:201-213, 1973.
58. Hill, D. R. and Bowery, N. G. 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline - insensitive GABA-B sites in rat brain. *Nature. Lond.* 290:149-162, 1981.
59. Huston, J. H. and Staubli, U. Retrograde amnesia produced by post-trial injection of substantia P into substantia nigra. *Brain Res.* 159:468-472, 1978.
60. Iversen, L. L. Psicofarmacologia del GABA. En: *Psicofarmacologia*, editado por M. A. Lipton, A., Di Massio, y Killam, K. F. Barcelona: EXPAX, S. A., 1982, pp. 57-72.
61. Iversen, L. L. Aminoacids and peptides: Fast and slow chemical signals in the nervous system? *Proc. R. Soc. Lond. B.* 221:245-260, 1984.

62. Luska, J. A., Wilson, C. J. and Groves, P. M. The substantia nigra of the rat: A Golgi study. *J. Comp. Neurol.* 172:585-600, 1977.
63. Kemp, J. M. The termination of striopallidal and strionigral fibers. *Brain Res.* 17:125-128, 1970.
64. Kim, R., Nakano, K., Jayarama, A. and Carpenter, M. B. Projections of the globus pallidus and adjacent structures: an autoradiographic study in the monkey. *J. Comp. Neurol.* 169:263-290, 1976.
65. Kim, H. J. and Routtenberg, A. Retention disruption following post-trial picrotoxin injection into the substantia nigra. *Brain Res.* 113:620-625, 1976.
66. Kirkby, R. J. and Kimble, D. P. Avoidance and escape behavior following striatal lesions in the rat. *Exp. Neurol.* 20:215-227, 1968.
67. Kirkby, R. J. and Polgar, S. Active avoidance in the laboratory rats following lesions of dorsal ventral caudate nucleus, *Physiol. Psychol.* 2:301-306, 1974.
68. Koning, J. F. R. and Kippel, R. A. The rat brain: a stereotaxic atlas. Baltimore: Williams and Wilkins, 1963.
69. Kretter, J. E. and Price, J. E. Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.* 178:225-254, 1978.
70. Ladinsky, H. and Consolo, S. Determination of acetylcholine and choline by enzymatic radioassay. In: *Handbook of chemical radioassay methods*. editado por I. Hanin. New York: Raven Press, 1974, pp. 1-17.

71. Lakinsky, H., Bianchi, J., Consolo, J., Samanin, R. and Chezzi, D. Cholinergic-dopaminergic interaction in the striatum: The effect of 6-hydroxydopamine or pimozide treatment on the increased striatal acetylcholine levels induced by apomorphine, piribedil and D-amphetamine. *Brain Res.* 84:221-226, 1975.
72. Ladinsky, H., Consolo, J., Bianchi, J., Chezzi, D. and Samanin, R. Link between dopaminergic and cholinergic neurons in the striatum as evidence by pharmacological biochemical and lesions studies. En: *Interactions between putative neurotransmitters in the brain*, editado por: S. Garatini, J. F. Pujol and R. Samanin. New York: Raven Press, pp. 3-21, 1978.
73. Lajtha, A., Beri, S. and Waelsch, H. Compartmentalization of glutamic acid metabolism in the central nervous system. En: *Inhibition in the Nervous system and gamma-aminobutyric acid*, editado por E. Roberts, C. F. Baxter, A. van Harreveld, C. A. G. Wiersma, W. R. Adey, and K. F. Killam. Oxford: Pergamon Press, 1960, pp. 460-467.
74. Lloyd, K. G. Special chemistry of the basal ganglia 2. Distribution of acetylcholine, cholineacetyltransferase and acetylcholinesterase. *Pharmac. Therap. B.* 1:63-77, 1975b.
75. Martinez de Muñoz, D. and Osores, A. Effects of cyclic analogs of GABA on protein synthesis and discrimination learning. *Psychopharmacology.* 54:149-152, 1979.
76. McGeer, P. D., McGeer, E. G., Fildiger, H. C. and Wickson, V. Neostriatal cholineacetylase and cholinesterase following selective brain lesions. *Brain Res.* 35:308-314, 1971c.

77. McGeer, P. L., Fibiger, H. C., Hattori, T. Sing, V. K., McGeer, E. G., and Maler, L. Biochemical neuroanatomy of the basal ganglia En: Neurochemical coding of brain function, advances in behavior and biology. Vol. 1, Editada por R. D. Myers, and R. R. Drucker-Colin, New York: Plenum Press, 1974, pp. 27-48.
78. McGeer, E. G., McGeer, P. L. Greewall, D. S. and Singh., V. K. Electromicroscopic localization of labeled norepinephrine transported in nigrostriatal neurons. Brain Res. 86:478-482, 1975.
79. McGeer, E. G., Staines, W. A., McGeer, P. L. Neurotransmitters in the basal ganglia. Can. J. Neurol. Sci. 11:89-99, 1984.
80. McLennan, H. York, D. M. Cholinergic mechanisms in the caudate nucleus. J. Physiol. 187:163-175, 1966.
81. McLennan, H. York, D. M. The action of dopamine on neurons of the caudate nucleus. J. Physiol. 189:393-402, 1967.
82. Meibach, R. C. and Katzman, R. Origin course and termination of dopaminergic substantia nigra neurons projecting to the amygdaloid complex in the cat. Neuroscience 6:2159-2171, 1981.
83. Misslin, R., Ropartz, P. H. and Mandel, P. Action of Di-n-propylacetate on the spontaneous and acquired behaviour in goldfish, mice and rats. Pharm. Biochem. Behav. 4:643-646, 1975a.
84. Misslin, R., Ropartz, P. H. and Mandel, P. The effects of n-dipropylacetate on the acquisition of conditioned behaviour with negative reinforcement in mice. Psychopharmacologia (Berl.). 44:263-265, 1975b.

85. Mitcham, J. C. and Thomas Jr. P. K. Effects of substantia nigra and caudate nucleus lesions on avoidance learning in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 81:101-107, 1972.
86. Nauta, W. J. H., Smith, G. P., Faull, R. L. M. and Domesick. Efferent connections and afferents of nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience.* 3:385-401, 1978.
87. Neill, O. and Grossman, P. S. Behavioral effects of lesions of cholinergic blockade of dorsal and ventral caudate of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 71:311-317, 1970.
88. Olsen, R. W. Drug interactions at the GABA receptor ionophore complex. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 18:269-289, 1982.
89. Paxinos, G. and Watson, Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates, New York Plenum Press, 1982.
90. Peek, H. V. S. and Herz, M. J. Caudate nucleus stimulation retroactively impairs complex maze learning in the rat. *Sci.* 173:80-82, 1971.
91. Penney, J. B. and Young, A. B. Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders. *Ann. Rev. Neuroscience* 6:73-94, 1983.
92. Pérez-Ruiz, C. y Prado-Alcalá, R. A. Núcleo Caudado y Aprendizaje. XXV. Efectos de la aplicación de un anestésico local sobre los procesos de memoria de corto plazo y largo plazo dependientes de la magnitud del reforzador negativo. XXIX Cong. Nal. C. Fisiológicas, Guanajuato, México, 1986.

93. Phelps, P. E., and Adinolfi, A. M. The postnatal development of the substantia nigra: A light and electromicroscopic study. *J. Comp. Neurol.* 209:123-138, 1982.
94. Piane Le, F. and Phillips, A. G. Differential effects of electrical stimulation of amygdala, caudate-putamen or substantia nigra pars compacta on taste aversion and passive avoidance in rats. *Physiol. Behav.* 21:979-985, 1976.
95. Powell, E. W. and Leman, R. V. Connections of the nucleus accumbens. *Brain Res.* 105:389-403, 1976.
96. Prado-Alcalá, R. A. Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory?. *Life Sci.* 37:2135-2142, 1985.
97. Prado-Alcalá, R. A., Bermudez-Rattoni, F., Velázquez-Martinez, D. and Bacha, M. G. Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: Overtraining-induced protection against behavioral deficits. *Life Sci.* 23:889-896, 1978.
98. Prado-Alcalá, R. A., Cepeda, G., Verduzco, L., Jimenez, A. and Vargas, E. Effects of cholinergic stimulation of the caudata nucleus on active avoidance. *Neurosci. Lett.* 51:31-36, 1984a.
99. Prado-Alcalá, R. A. and Cobos-Zapian, G. G. Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Res.* 138:190-196, 1977.
100. Prado-Alcalá, R. A., and Cobos-Zapian, G. G. Improvement of learned behavior through cholinergic

stimulation of the caudate nucleus. *Neurosci. Lett.* 14:253-258, 1979a.

101. Prado-Alcalá, R. A. and Cobos-Zapian, G. G. Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a "moving" engram. *Brain Res.* 172-577-583, 1979b.
102. Prado-Alcalá, R. A., Cruz-Morales, S. E. and López-Miro, F. A. Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neurosci. Lett.* 18:339-345, 1980.
103. Prado-Alcalá, R. A. Fernández-Samblancat, M. and Solodkin-Herrera, M. Injections of atropine into the caudate nucleus impair the acquisition and the maintenance of passive avoidance. *Pharm. Biochem. Behav.* 22:243-247, 1985b.
104. Prado-Alcalá, R. A., Grinberg, Z. J., Alvarez-Leefman, F. J. and Brust-Carmona, H. Suppression of motor conditioning by the injection of 3M KCl in the caudate nuclei of cats. *Physiol. Behav.* 10:59-64, 1973.
105. Prado-Alcalá, R. A., Grinberg, Z. J., Alvarez-Leefman, F. J., Gómez, A. G., Singer, S. and Brust-Carmona, H. A possible caudate-cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses. *Psychopharmacologia (Berl)* 25:339-346, 1972.
106. Prado-Alcalá, R. A., Signoret, L. and Figueroa, M. Time dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharm. Biochem. Behav.* 15:633-636, 1981.
107. Prado-Alcalá, R. A., Signoret-Edward, L., Figueroa,

- M., Giordano, M. and Barrientos, M. A. Post-trial injections of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term, but not with short-term retention of passive avoidance. *Behav. Neurol. Biol.* 42:81-84, 1984b.
108. Precht, W. and Yoshida, M. Blockage of caudate evoked inhibition of neurons in the substantia nigra by picrotoxin. *Brain Res.* 32:229-233, 1971.
109. Preston, R. J., McCrea, R. A., Chang, H. T. and Kitai, S. T. Anatomy and physiology of substantia nigra and retrorubral neurons studied by extra- and intracellular recording and by horseradish peroxidase labeling. *Brain Res.* 32:231-344, 1984.
110. Racagni, G., Bruno, F., Cattabeni, A., Maggi, A. M. Giulio, A. M. and Gropetti. Interactions among dopamine, acetylcholine and GABA in the nigrostriatal system. En: *Interactions between neurotransmitters in the brain*; editado por S. Garattini, J. F. Pujol and R. Samanin. New York. Raven Press, pp. 61-74, 1978.
111. Kiddel, D. and Szerb, J. C. The release in vivo of dopamine synthesized from labeled precursors in the caudate nucleus of cat. *J. Neurochem.* 13:989-1005, 1971.
112. Rinvik, E. and Grofová, J. Observations of the fine structure of substantia nigra in cat. *Exp. Brain Res.* 11:229-248, 1970.
113. Roberts, E. Some thoughts about GABA and the basal ganglia. En: *The basal ganglia*, editado por M. D. Yarh. New York; Raven Press, pp. 191-203, 1976.
114. Rosenberg, H. C., Chiu, T. H. James, W., Putney, J. W.

- and Askari, A. Modification of membrane function by drugs. En: Physiology of membrane disorders, editado por T. Andreo, J. F. Hoffman, D. D., Fanestil and S. G., Schultz. New York; Plenum Pub., 1986, pp. 309-313.
115. Routtenberg, A. and Holzman, N. Memory disruption by electrical stimulation of substantia nigra, pars compacta. Science 181:83-86, 1973.
116. Salado-Castillo, R. y Prado-Alcala, R. A. Núcleo caudado y Aprendizaje, XXIX. Regulacion regional GABAergica de la memoria de largo plazo. XXX Congreso Nacional de C. Fisiológicas. Xalapa, México, 1987.
117. Saldaña, L. M. y Silva, R. M. Efectos diferenciales sobre el aprendizaje instrumental producido por lesiones con 6-hidroxidopamina en la via nigroestriatal. Tesis profesional, 1976, UNAM.
118. Sanberg, K., Sanberg, P. R. Hanin, I., Fisher, A. and Coyle, J. I. Cholinergic lesions of striatum impairs acquisition and retention of a passive avoidance response. Behav. Neurosci. 98:162-165, 1984.
119. Saper, C. B. and Lowey, A. D. Projections of the pedunculo-pontine-tegmental nucleus in the rat: evidence for additional extrapyramidal circuitry. Brain Res. 252:367-372, 1982.
120. Schmaltz, L. W. and Isaacson, R. L. Effects of caudate and frontal lesions on retention and relearning of a DRL schedule. J. Comp. Physiol. Psychol. 65:343-348. 1968.
121. Schwyn, R. C. and Fox, C. A. The primate substantia nigra: A Golgi and electromicroscopic study. J.

Hirnforsch, 15:95-126, 1974.

122. Onety, R., Roth, R. M. Kuher, M. J. and van woert, M. n. Choline and acetylcholine. Regional distribution and effect of degeneration of cholinergic nerve terminals in the rat hippocampus, Neuropharmacology 12:819-823, 1973.
123. Shoji, S., Matsumoto, A., Watanabe, S. and Ishikawa, K. GABAergic neurons and formation of long term memory. XXIII Cong. Int. de Psicología, Acapulco, Mexico, 1984.
124. Siegel, S. Estadística no paramétrica, México: Edit. Trillas Sa. Edición, 1979.
125. Staubli, S. and Huston, J. P. Effects of post-trial reinforcing vs. Subreinforcing stimulation of the substantia nigra on passive avoidance learning. Brain Res. Bull. 3:519-524, 1978.
126. Swason, L. W. An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. J. Comp. Neurol. 167:227-256, 1976.
127. Swason, L. W. and Cowan, W. M. A note on the connections and development of the nucleus accumbens. Brain Res. 92:324-330, 1975.
128. Tapia, R. El Ácido gamma-aminobutírico. En: Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas. Editado por: H. Pasantes-Morales y H. Aréchiga. México; Gral. Pubs. de la UNAM, 1983, pp. 57-70.
129. Thompson, R. Brightness discrimination loss after

lesions of the corpus striatum in the white rats.
Bull. Psychol. Soc. 3:293-295. 1974.

130. Thompson, R., Gibbs, R. B., Ristic, G. A., Cotman, C. W. and Yu, J. Learning deficits in rats with early neurotoxic lesions to the globus pallidus; substantia nigra, median raphe or pontine reticular formation. *Physiol. Psychol.* 37:141-151, 1986.
131. Treit, D. Animal models for the study of antianxiety: A review. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 9:203, 1985.
132. Ungersted, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.) 361:1-48, 1971.
133. Winocur, G. and Mills, J. A. Effect of caudate nucleus lesions on avoidance behavior in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 68:552-557, 1969.
134. Winocur, G. and Mills, J. A. The caudate nucleus and active avoidance: Reply to Kirkby. *Psychonomic. Sci.* 18:270. 1970.
135. Wyers, E. J., Peeke, H. V. S., Elliston, J. S. and Herz, M. J. Retroactive impairment of passive avoidance learning by stimulation of the caudate nucleus. *Exp. Neurol.* 22:350-366, 1968.
136. Wyers, E. J. and Deadwyler, S. A. Duration and nature of retrograde amnesia produced by stimulation of caudate nucleus. *Physiol. Behav.* 6:97-103, 1971.
137. Wyers, E. J., Deadwyler, S. A., Hirasuna, N. and Montgomery, D. Passive avoidance retention and caudate nucleus stimulation, *Physiol. Behav.* 11:809-819, 1973.

138. Yoshida, M. Functional aspects of and role of transmitter, in the basal ganglia. *Confin. Neurol.* (Basel), 36:282-291, 1974.
139. Yoshida, M. and Precht, W. Monosynaptic inhibition of neurons of the substantia nigra by caudato-nigral fibers. *Brain Res.* 32:225-229, 1971.