

199
2es.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

PARTICIPACION DIFERENCIAL DEL HIPOCAMPO Y
LA CORTEZA INSULAR EN LA MEMORIA DE TRABAJO
Y LA MEMORIA DE REFERENCIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A :
ITZEL ORDUÑA TRUJILLO

DIRECTOR DE TESIS: DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI

MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

268406



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.

A mis padres, por inculcarme el valor de la profesión, por su cariño y apoyo, y porque sin ellos, esto no habría sido posible.

A Carlos Enrique, por su alegría.

AGRADECIMIENTOS

A todos mis sinodales, por su revisión y valiosos comentarios en la elaboración de el presente trabajo. Un especial agradecimiento al Dr. Federico Bermúdez por su apoyo y confianza en todo momento.

Al Maestro Gustavo Bachá, porque gracias a él descubri y he reforzado mi interés por la investigación.

A Víctor Ramirez, por su gran ayuda en la implementación de los experimentos, análisis estadístico y por sus comentarios a esta tesis.

A todos mis compañeros del laboratorio 201, en especial a Humberto, Leti, Maribel y Marisela por ayudarme y escucharme....y sobre todo, por echarme porras. A Claudia González, por contagiarme su entusiasmo al escribir esta tesis.

A Oreste Carbajal y Yolanda Díaz por el apoyo técnico proporcionado durante el desarrollo de este trabajo.

Al triburoncito, por su primera carta de puño y letra. Después, por haber sido mi pretexto. Y por permitirme descubrir (posiblemente sin darse cuenta),mi fortaleza.

A la “Fundación UNAM”, por su enorme contribución a mi formación académica.

A mis hermanos, a todos mis amigos y, en general, a toda a la gente que ha creído en mí.

A la Esperanza, por ser inquebrantable (y por tener vida propia)...

“Me pareció justificarme por la desconfianza que me inspiraban sus extraños pensamientos: en el fondo no era más que miedo. Porque Demian hubiera exigido de mí mucho más de lo que exigieron mis padres. Habría intentado hacerme más independiente con el estímulo y la exhortación, la burla y la ironía. Si, eso lo se yó, nada hay más molesto para el hombre que seguir el camino que le conduce a sí mismo”...

Herman Hesse

... A Ramón. Por haberme dicho la hora. Por los eslabones que ha quitado a mi cadena. Por enseñarme, simplemente, a “ser”

INDICE

INTRODUCCION

Antecedentes históricos	01
El concepto de memoria de trabajo	06
La dualidad memoria de trabajo-memoria de referencia	07
El estudio neurofisiológico de la memoria	11
El hipocampo	15
La neocorteza y la memoria de referencia	20
La corteza insular	21
Planteamiento del problema y propuesta experimental	25

EXPERIMENTO 1

METODO

Sujetos	27
Procedimiento quirúrgico	28
Recuperación postoperatoria	29
Aparatos	30
Procedimiento conductual	30
Perfusión	33
Procedimiento histológico	34
Análisis estadístico	34
Resultados	35
Discusión	39

EXPERIMENTO 2

METODO

Sujetos	42
Procedimiento quirúrgico	43
Recuperación postoperatoria	43
Aparatos	44
Procedimiento conductual	44
Resultados	44
Discusión	49

DISCUSION GENERAL	51
-------------------	----

CONCLUSION	58
------------	----

REFERENCIAS	59
-------------	----

RESUMEN

El presente estudio evalúa la participación de la dos regiones cerebrales en la memoria de referencia y la memoria de trabajo en ratas. En el experimento uno, se realizaron lesiones excitotóxicas de la corteza insular, mientras que en el experimento dos las lesiones fueron producidas en el hipocampo. Se emplearon dos procedimientos del laberinto de agua de Morris para la evaluación de memoria de trabajo y memoria de referencia. Los resultados indican que existe una disociación en la participación de ambas estructuras neurales en estos tipos de memoria. Las lesiones en la corteza insular produjeron severas deficiencias en la memoria de referencias, dejando la memoria de trabajo inafectada. En contraste, las lesiones hipocampales produjeron severas deficiencias en la memoria de trabajo, observándose únicamente deficiencias moderadas en la memoria de referencia.

PARTICIPACION DIFERENCIAL DEL HIPOCAMPO Y LA CORTEZA INSULAR EN LA MEMORIA DE TRABAJO Y LA MEMORIA DE REFERENCIA

INTRODUCCION

Antecedentes históricos

Resulta casi imposible definir el término memoria sin necesidad de aludir en paralelo al concepto de aprendizaje, ya que históricamente, ambos conceptos han ido evolucionando simultáneamente. Mientras que el estudio del aprendizaje se ha apoyado en un análisis de cambios observables en la conducta del organismo, el estudio de la memoria concierne la elucidación de los mecanismos cognitivos que subyacen dichos cambios. El aprendizaje es comúnmente definido como un proceso mediante el cual ocurren cambios relativamente permanentes en el potencial conductual del organismo como resultado de la experiencia (Anderson, 1995). Esta definición hace evidente la dificultad para desvincular la investigación en aprendizaje de la investigación en memoria: con el objeto de aprender, el organismo requiere almacenar cierta información relevante durante una experiencia dada, con el objeto de poder emplearla durante la siguiente ocasión en que se presente una experiencia similar, como una especie de "puente temporal" que le permita emplear información relevante cuando ésta no se encuentra presente. De este modo, puede definirse a la memoria como un proceso mediante el cual el organismo puede almacenar de un modo relativamente permanente, la información que subyace al aprendizaje (Anderson, 1995).

El estudio experimental de la memoria vio su surgimiento con los estudios llevados a cabo por Ebbinghaus, reportados en su monografía publicada en 1885. Ebbinghaus desarrolló la curva del olvido, que refleja las variaciones en la retención de la información en función del tiempo transcurrido a partir de la adquisición de dicha información. La importancia de los estudios realizados por Ebbinghaus radica principalmente en el desarrollo de procedimientos experimentales para el estudio de la memoria en humanos, así como en la descripción por primera vez mediante métodos experimentales, de variables

importantes para la retención de la información, tales como la demora y el tiempo de estudio.

Una vez iniciado el estudio experimental de la memoria comenzaron a surgir modelos que intentaban explicar la manera en que la información es almacenada. Uno de los modelos más importantes y aceptados fue el modelo de Atkinson y Shifrin (1968). Este modelo establece que la información en memoria se encuentra alojada en distintos almacenes, cada uno de los cuáles cuenta con propiedades particulares. De acuerdo a Atkinson y Shifrin, existen tres almacenes de la memoria, denominados memoria sensorial, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo.

La memoria sensorial se ha estudiado en los sistemas visual y auditivo, llevando por nombre memoria icónica y ecóica respectivamente (Neisser, 1967; Morray, Bates y Barnett 1965). Se trata de una memoria inmediata de los estímulos que son procesados sensorialmente, una representación exacta de dichos estímulos, que sin embargo decae rápidamente: después de máximo un segundo en el caso de la memoria icónica y cuatro segundos en el caso de la memoria ecóica (Sperling, 1960; Darwin, Turvey y Crowder, 1972). La cantidad de información que este tipo de memoria puede almacenar es ilimitada o, en todo caso, limitada únicamente por la capacidad del sistema sensorial en cuestión, siendo éste por tanto, un límite de tipo sensorial y no mnémico.

El segundo de los compartimentos descritos por este modelo es el de la memoria a corto plazo. De acuerdo a Atkinson y Shifrin, la información proveniente de la memoria sensorial puede ya sea decaer pasivamente o bien, ser transferida a la memoria a corto plazo. El decaimiento o la transferencia de la información se encuentra mediado por un proceso atento, de modo que sólo aquellos estímulos a los que se les ha prestado atención serán procesados y por lo tanto transferidos a memoria a corto plazo. De acuerdo a este modelo, la memoria a corto plazo es un almacén de capacidad limitada. Miller (1956) había ya presentado evidencia experimental que puede ser interpretada en favor de esta idea,

afirmando que la capacidad de este almacén es de 7 más o menos dos elementos, sin importar el tamaño de los mismos.

Otra de las características importantes de este almacén es que la información sólo puede encontrarse allí transitoriamente y es sujeta a un decaimiento pasivo a menos que sea transferida al almacen de memoria a largo plazo o que sea constantemente repetida o repasada. De acuerdo a este modelo, la información podría incluso ser mantenida en este almacén indefinidamente siempre y cuando no deje de repasarse. Sin embargo, dado que es un almacén de capacidad limitada, y que todo organismo se encuentra constantemente interactuando con información relevante para su sobrevivencia, no es posible que la información sea repasada indefinidamente. De acuerdo a Atkinson y Shifrin, la repetición o repaso de la información, tiene entonces dos objetivos fundamentales: por un lado, permite que la información sea mantenida en memoria a corto plazo, y por otro, aumenta las probabilidades de que dicha información sea transferida al almacén de memoria a largo plazo.

El almacén de memoria a largo plazo es aquél donde se acumula de una manera permanente, aquella infomación proveniente de memoria a corto plazo. Como puede observarse, este modelo es serial en naturaleza, ya que asume que la información debe haber pasado por el almacen previo, como condición necesaria para ser transferida al siguiente. De esta forma, la información no puede ser almacenada permanentemente si no ha sido previamente procesada en el almacen de memoria a corto plazo, y no puede encontrarse en memoria a corto plazo sin haberse encontrado antes en el almacén de memoria sensorial.

Otra de las características relevantes del modelo de Atkinson y Shifrin es que establece que existen diferencias de codificación en los almacenes de memoria a corto y largo plazo y que estas diferencias pueden ser empleadas como un criterio para la clasificación de la memoria. Se señala así que mientras que la información en memoria a

corto plazo es sensorial en naturaleza, la información en memoria a largo plazo está codificada semánticamente, esto es, sus contenidos se codifican en términos del significado de la información (e.g. Kintch and Buschke 1969). Esto fue demostrado mediante el análisis de los errores cometidos en pruebas de memoria en las cuáles los sujetos debían estudiar una lista de palabras tras lo cual se les pedía que dijeran al experimentador las que recordaban. Típicamente se observa que aquéllas palabras al principio y al final de la lista son recordadas mucho mejor que aquellas de en medio de la misma. A estos efectos se les conoce como efectos de primacía y de recencia respectivamente y se argumenta que mientras el primero refleja la información que ya ha sido trasferida a memoria a largo plazo, el segundo refleja la información que se encuentra aún en memoria a corto plazo. Las palabras de la parte central de la lista, sin embargo, no son fácilmente recordadas debido a que ni han sido transferidas a memoria a largo plazo, ni se encuentran en posibilidad de ser repasadas en memoria a corto plazo. Bajo estas circunstancias, es posible estudiar por separado los diferentes almacenes de la memoria mediante la manipulación de variables que se consideran relevantes y la observación de los efectos que dichas manipulaciones producen sobre los efectos de recencia y primacía. Valiéndose de esta estrategia, Kintch and Buschke (1969) mostraron que el efecto de primacía es particularmente susceptible a interferencia acústica de palabras que suenan similar (homófonas) , pero no de aquéllas palabras que tienen significados similares (sinónimos), mientras que el efecto de primacía es susceptible a confusiones semánticas. Estos resultados sirvieron de sustento a la idea de que existe una diferencia en términos de codificación entre los almacenes de memoria a corto y largo plazo.

El modelo de Atkinson y Shifrin sin embargo, presenta varias deficiencias. En el caso del almacén a corto plazo, una de las críticas más severas que ha recibido concierne al papel del repaso de la información como un puente entre la memoria a corto y la memoria a largo plazo. Como se mencionó previamente, dicho modelo asume que la información es mantenida en memoria a corto plazo y transferida a memoria a largo plazo por medio del repaso de la misma. Se propone así que el repaso por sí mismo es el responsable de dicho

proceso. Sin embargo, existen evidencias que muestran que no es el repaso "per se" el que determina que la información no decaiga. Por ejemplo, Glenberg, Smith and Green (1977) pusieron a sus sujetos a estudiar un número de cuatro dígitos durante dos segundos, posteriormente debían repasar una palabra durante 2, 6 o 18 segundos y luego recordar y repetir el dígito. Se llevaron a cabo 64 ensayos. Los sujetos pensaron que el objetivo del investigador era que ellos memorizaran el dígito y que la palabra solo había sido empleada para llenar el intervalo temporal. El experimentador, sin embargo, pidió a los sujetos que recordaran la palabra que habían estado repasando. Se encontró que los sujetos tuvieron un porcentaje de retención de solo 11, 7 y 12 por ciento para los intervalos de ensayo de 2, 6 y 18 segundos respectivamente y no había un efecto del tiempo de estudio sobre el recuerdo. Por lo tanto, la repetición pasiva de la información no aumentó la probabilidad de que las palabras fueran recordadas, lo cual constituye un argumento que demuestra que no es la repetición por sí misma la que determina el recuerdo.

En cuanto a la organización serial de la memoria propuesta por Atkinson y Shiffrin (1968), se han encontrado también evidencias en contra. La más clara de ellas se encuentra en relación con casos de pacientes con lesiones cerebrales. Los pacientes con lesiones en el lóbulo parietal izquierdo, tienen serias deficiencias de capacidad en memoria inmediata, con una capacidad mnémica de dos o tres elementos (e.g. Shallice, 1972), pero no tienen problema alguno para recordar la información durante de un periodo prolongado. Esto sugiere que los pacientes pueden tener una buena memoria a largo plazo a pesar de tener serias deficiencias en memoria a corto plazo. De acuerdo a esto, ambos sistemas deben estar actuando de manera paralela, pues de hacerlo serialmente se esperaría que deficiencias en memoria a corto plazo ocasionaran serias deficiencias en memoria a largo plazo.

La propuesta sobre una codificación diferencial en memoria a corto plazo y memoria a largo plazo también se ha encontrado con problemas. Por ejemplo, se ha demostrado que tareas que presumiblemente dependen de la memoria a corto plazo también se ven influenciadas por códigos semánticos. En 1970, Bower y Springton demostraron que sus

sujetos podían tener una capacidad superior de memoria por secuencias de letras cuando éstas forman palabras significativas (por ejemplo: IBM; FBI, CIA, etc.). Así, este tipo de tarea dependiente de memoria a corto plazo, estuvo facilitada por información semántica, la cuál de acuerdo al modelo constituye un tipo de codificación concerniente a memoria a largo plazo. Del mismo modo, se argumenta que el hecho de que la gente sea capaz de recordar por ejemplo rimas y canciones por un gran periodo largo de tiempo proporciona evidencia de una codificación acústica (sensorial) en memoria a largo plazo (Anderson, 1995, p. 165)

Otra de las deficiencias de este modelo tiene que ver con la temporalidad de la información en memoria. Se asume que la memoria a corto plazo es un tipo de memoria que tiene una temporalidad limitada, mientras que la información en memoria a largo plazo es almacenada de una manera permanente. Sin embargo, este concepto de "permanencia" es relativamente problemático dado que existe evidencia empírica de que no toda la información es mantenida indefinidamente. Por ejemplo, recientes estudios con modelos animales (Rosenzweig et al. 1993) han demostrado que diversos tratamientos bioquímicos aplicados en modelos animales para el estudio de la memoria, interfieren con el almacenamiento de información a diferentes intervalos temporales. De acuerdo a este criterio, podría agruparse a la memoria a largo plazo en por lo menos tres etapas de acuerdo a su duración, lo cual es inconsistente con la idea de una memoria a largo plazo unitaria, constituyendo un aspecto que limita de una manera importante el poder explicativo de la teoría de Atkinson y Shiffrin.

El concepto de memoria de trabajo

Las deficiencias en este modelo serial de la memoria impulsaron el desarrollo de nuevos modelos con mayor poder explicativo. Uno de los mas relevantes para el presente trabajo es el propuesto por Baddeley (1974), dado que dicho modelo introduce el concepto de memoria de trabajo. Baddeley sustituyó el término de memoria a corto plazo por el de memoria de trabajo. La conceptualización general de la memoria de trabajo propuesta por

este autor es la de un sistema mnémico de capacidad limitada, que se encarga del manejo de aquella información que es relevante al organismo de una manera transitoria. Baddeley se opone a la idea de que el procesamiento de la información en memoria de trabajo constituya un prerequisite para su transferencia a un sistema de memoria permanente, eliminando de su modelo la idea de serialidad entre los diferentes almacenes de memoria. Así, podemos notar que Baddeley conceptualiza la memoria de trabajo como un sistema de procesamiento activo de la información (de allí el término de memoria de trabajo). En esta nueva propuesta el repaso de la información juega un papel crucial, pero a diferencia de su presunto papel en memoria a corto plazo, no se propone éste como un mecanismo suficiente y necesario para almacenar la información de una manera permanente. En lugar de ello, Baddeley propone que el repaso de la información es el mecanismo que permite mantener la información en un estado de activación y es ésta activación la que constituye una variable importante para la disponibilidad de la información, de modo tal que ésta sea accesible para su uso en el momento en que es relevante para el desempeño adecuado del organismo. Del mismo modo, es importante mencionar que el concepto de memoria de trabajo propuesto por Baddeley, descarta la temporalidad como criterio relevante de clasificación de la memoria. Siendo la activación y disponibilidad de la información las características importantes de la información procesada en memoria de trabajo, la temporalidad de la misma se torna irrelevante, pues esta información podría encontrarse activa durante un periodo de tiempo ya sea breve o prolongado, y de cualquier forma continuaría siendo procesada por memoria de trabajo.

La dualidad memoria de trabajo-memoria de referencia

Así como se propone el concepto de memoria de trabajo como sustituto al concepto tradicional de memoria a corto plazo, se ha propuesto que existe una contraparte de la memoria de trabajo a la cual se le denomina memoria de referencia (Honig, 1978). Si bien la memoria de referencia tiene cierta relación con la memoria a largo plazo dadas las características más estables de la información que es almacenada en este tipo de memoria, es importante aclarar que el concepto de memoria de referencia no implica un diferencia de

índole temporal o de durabilidad con respecto a la memoria de trabajo, en lugar de ello, los términos de memoria de trabajo y referencia, aluden a los contenidos de la memoria así como a la manera en que dicha información es diferencialmente procesada por cada uno de los sistemas mnémicos.

La distinción entre memoria de trabajo y memoria de referencia fue establecida por Honig, en 1978. El origen de esta distinción radica en observaciones concernientes al tipo de información que es requerido almacenar con el objeto de ejecutar adecuadamente procedimientos conductuales diseñados para estudiar aprendizaje y memoria. El concepto de memoria de trabajo empleado por Honig y adoptado de allí en adelante dentro del estudio neurofisiológico de la memoria, es similar al previamente descrito por autores como Baddeley (1974), siendo una memoria transitoria en la cual la información se procesa de una manera activa de acuerdo con sus características cambiantes. Con respecto a la memoria de referencia, Honig (1978) señala que todo aprendizaje requiere por lo menos de la asociación de entre dos o más estímulos, o entre respuestas y estímulos que le prosiguen. De acuerdo a él, una vez que dichas asociaciones son establecidas, pasan a formar parte del sistema de memoria de referencia, que él señala como “la permanencia de una estructura psicológica adquirida” (Honig, 1978, p.211).

Cuando pensamos en el tipo de información que se requiere recordar en diferentes procedimientos conductuales, podemos notar que no es el mismo en todas las ocasiones. En el caso del condicionamiento clásico, por ejemplo, el organismo debe recordar la relación que existe entre el estímulo condicionado y el incondicionado y el almacenamiento de esta información es lo que le permite emitir la respuesta condicionada ante la presentación del estímulo condicionado. Esta información es estable a lo largo del tiempo durante el cual se mantiene la contingencia y es necesaria y suficiente para la emisión de la respuesta. Se conoce al tipo de memoria requerida para este tipo de tareas como memoria de referencia, pues dado que la emisión de la respuesta adecuada se encuentra en relación directa y

constante con los estímulos asociados a ésta, se presume que el animal refiere a ellos como clave para la emisión de la respuesta.

Sin embargo, algunos otros procedimientos conductuales requieren que el organismo ajuste su respuesta de momento a momento o de ensayo a ensayo, dependiendo de los estímulos presentados en cada momento. Uno de los ejemplos mas ilustrativos de este tipo de procedimientos es la tarea de no igualación a la muestra. En este procedimiento se presenta al organismo con un estímulo determinado y después de un intervalo de demora, se presenta nuevamente el estímulo presentado durante la muestra, junto con un nuevo estímulo, y se refuerza al organismo ante la elección del estímulo que difiere a aquél presentado durante la muestra. El estímulo muestra cambia de ensayo a ensayo, de modo que el sujeto requiere recordar durante el intervalo de demora cuál fue el estímulo presentado durante la muestra, con el objeto de emitir la respuesta adecuada.

De este modo, en esta tarea la respuesta correcta depende del estímulo presentado previamente, el cual debe ser recordado solo transitoriamente ya que una vez emitida la respuesta y comenzado un nuevo ensayo, otro estímulo debe ser recordado. A este tipo de memoria se le conoce como memoria de trabajo, ya que la respuesta que conlleva a un reforzamiento varía en relación directa con los estímulos de los que esta depende y dado que las cualidades informativas de dichos estímulos son transitorias, la emisión de la respuesta adecuada depende de la capacidad del animal para recordar los estímulos y mantenerlos activamente en memoria sólo por el momento en que son relevantes para la conducta, obligando al organismo a mantenerse en un estado activo y constante de procesamiento de información a lo largo de toda la sesión experimental. Los procedimientos que involucran memoria de trabajo para una ejecución adecuada cuentan también con componentes de memoria de referencia. En el caso del procedimiento de no igualación a la muestra, dicho componente es evidente en la regla que el animal debe recordar durante el entrenamiento. Esta regla consiste en la elección del estímulo que difiere al presentado durante la muestra, y dado que la regla se mantiene constante, involucra

memoria de referencia. Sin embargo, la respuesta de elección varía de ensayo a ensayo de acuerdo al estímulo particular presentado durante la muestra., y es ello lo que constituye el componente de memoria de trabajo, el cuál predomina en este tipo de procedimientos.

Es posible entonces notar que la diferencia principal entre ambos tipos de memoria puede definirse en términos de la estabilidad de la información. En el caso de memoria de referencia el organismo debe recordar una serie de reglas que son las mismas a lo largo de los ensayos. En el caso de memoria de trabajo, en cambio, la información, dada su dependencia solo transitoria de los estímulos, es inestable a lo largo del tiempo. Tradicionalmente se considera a la memoria de referencia como aquella cuyos contenidos son estables a lo largo del tiempo, mientras que la memoria de trabajo es aquella que se emplea con el objeto de monitorear las características variables de la experiencia que, en conjunto con las características estables determinan la respuesta adecuada a la ocasión.

La propuesta de memoria de trabajo y memoria de referencia nos permite resolver algunos de los problemas a los que nos enfrentaba el empleo de los conceptos de memoria a corto y largo plazo. La propuesta de memoria de trabajo-memoria de referencia considera que la variable determinante dentro de ésta distinción es el grado de estabilidad de la información, independientemente de su duración, lo que elimina el problema de temporalidad en este sistema y evita la dificultad de establecer distinciones rígidas para considerar cierta información como de “corta” o de “larga” duración. De esta forma, en el momento en que la temporalidad es eliminada del sistema como variable determinante, la pregunta de cuánto dura la información en cada uno de estos sistemas se vuelve irrelevante.

La distinción entre memoria de trabajo y memoria de referencia, elimina también el problema de codificación diferencial como criterio de clasificación. En este caso, tampoco es importante si las características de la información a recordar son predominantemente sensoriales o semánticas, ya que en ambos casos la información podría ser transitoria o

permanentemente relevante y sería esta última característica la que determinaría si ésta es procesada por uno u otro tipo de memoria.

Esta distinción pretende también resolver el problema en cuanto a la organización serial o paralela de la memoria. La distinción memoria de trabajo-memoria de referencia implica la existencia de dos sistemas que se encuentran operando en paralelo, cada uno de ellos concerniendo diferente información de acuerdo a la estabilidad de la misma. Ello implica a su vez que el tiempo que la información se mantenga en uno de los sistemas de memoria no tiene relación alguna con su procesamiento en el otro de los sistemas, ya que funcionando estos en paralelo, la información es procesada preferencialmente en uno u otro de acuerdo a las características de la información.

El repaso parece jugar un papel importante en la memoria de trabajo dentro de esta dicotomía. Jarrard (1975) demostró que la memoria de trabajo está sujeta a efectos de interferencia, lo que sugiere que de alguna u otra forma, la información debe ser mantenida activa mediante el repaso. Sin embargo, dada la organización en principio paralela de esta dicotomía, no se propone el repaso como un mecanismo para la transferencia de la información, sino como un mecanismo presumiblemente importante para el mantenimiento de la información en memoria de trabajo durante tanto tiempo como dicha información sea relevante al organismo, tras lo cual puede ser desechada, para ser substituida por nueva información relevante.

El estudio neurofisiológico de la memoria

La memoria en general ha sido evaluada tanto en términos de procesamiento de información (i.e. cuáles son las características de ambos tipos de memoria, qué evidencia empírica favorece su clasificación como tipos distintos de memorias, etc) como en términos neurofisiológicos. La evaluación de la memoria desde el punto de vista neurofisiológico es de gran importancia en el sentido que nos permite evaluar el sustrato biológico que subyace a este proceso y que, finalmente, lo hace posible. El estudio de las relaciones funcionales

existentes entre los diversos componentes del sistema nervioso nos permite conocer y comprender los mecanismos cerebrales y por ende los procesos cognitivos/conductuales que como consecuencia de dicho funcionamiento emergen. Dicho conocimiento es de gran valor científico en el sentido de que nos permite conocer tanto los alcances como las restricciones biológicas a las que se ve sujeto el sistema, y ello nos provee de la oportunidad de hacer inferencias sobre las restricciones a que nos debemos sujetar al teorizar sobre los procesos que estamos estudiando, ya que la conducta de un organismo se encuentra delimitada por el equipo neurobiológico con que éste cuenta. En este contexto, por ejemplo, el encontrar que una estructura se encuentra relacionada con un tipo de memoria pero no con otro, apoyaría fuertemente la posibilidad de elaborar una propuesta teórica concerniente a la existencia misma de más de un tipo de memoria, pues la evidencia neurofisiológica implicaría que el organismo cuenta con un sustrato físico que le provee del equipo biológico requerido para la implementación de mecanismos diferenciales para el procesamiento de información.

La importancia de identificar las estructuras cerebrales que se encuentran relacionadas con determinado proceso conductual radica en que su localización nos permite no sólo conocer la importancia de las estructuras de una manera global sino circunscribir el terreno de estudio a dicha área con el objeto de buscar los mecanismos responsables de la participación de dicha estructura neural en el proceso a estudiar. Una de las técnicas más poderosas para la elucidación de las estructuras neurales que participan en determinado proceso conductual o cognitivo es la técnica de lesión. En la implementación de esta técnica, una parte del sistema nervioso que se sospecha podría estar involucrada en el proceso a estudiar, es eliminada mediante una lesión. Si tenemos un procedimiento conductual que nos permite evaluar directa o indirectamente determinado proceso cognitivo, y la ejecución del organismo se ve afectada en ese procedimiento conductual después de una lesión, podemos entonces suponer que la región lesionada participa de alguna manera en el proceso en cuestión.

En este contexto, Olton (1979) aportó una de las primeras respuestas en cuanto a qué regiones del cerebro podrían estar involucradas con la memoria de trabajo, demostrando que el hipocampo tiene una participación importante en este tipo de memoria. Para ello implementó un procedimiento conductual diseñado previamente por él mismo (1976), el cual cuenta con demandas diferenciales de memoria de trabajo y memoria de referencia y que le permitió de este modo evaluar simultánea pero diferencialmente ambos tipos de memoria en ratas. El aparato consiste en un laberinto radial de madera que originalmente contaba con 8 brazos los cuáles fueron posteriormente aumentados a 17. Los brazos irradian a partir de la plataforma central (ver figura 1), la cual se encuentra rodeada por una pared con un hoyo cubierto con una puerta-guillotina de metal a la entrada de cada brazo. Olton subdividió los brazos en un conjunto de 8 brazos "reforzados" y 9 brazos "no reforzados". Para cada uno de los brazos reforzados, un pellet de alimento es colocado al final del mismo y nunca es reemplazado una vez que el animal lo ha consumido. Los brazos no reforzados son aquellos en los que nunca se coloca alimento. El animal es entonces colocado en la plataforma central, con todas las puertas-guillotinas cerradas, impidiéndose por tanto, su paso a cualquiera de los brazos. Al comienzo del ensayo todas las puertas son levantadas, pudiendo el animal elegir cualquiera de los brazos, correr al final del mismo y consumir el reforzador si es el caso. Una vez que el animal ha retornado a la plataforma central, todas las puertas son cerradas, confinando al animal 10 segundos en el centro del laberinto, después de lo cuál las puertas son nuevamente levantadas, dando comienzo a un nuevo ensayo.

En esta tarea, la información que el animal debe mantener en memoria es diferente para el grupo de brazos reforzados y para el de no reforzados. En el caso de los brazos no reforzados, la respuesta correcta es en todo momento no entrar a ellos, ya que no existe reforzador. Por lo tanto, el animal requiere recordar cuáles son los brazos sin reforzamiento y esta información es constante durante toda la sesión. En el caso de los brazos reforzados, en cambio, la respuesta correcta varía a lo largo de los ensayos: en un ensayo en el cuál un brazo reforzado no ha sido visitado aún, la respuesta correcta es entrar a éste. Sin embargo,

en los ensayos siguientes la respuesta adecuada es no regresar a dicho brazo, dado que el reforzador ya ha sido consumido. La participación de memoria de referencia y de memoria de trabajo en esta tarea puede ser evaluada mediante el análisis de los errores que el animal comete. Cada entrada a un brazo no reforzado se considera un error de memoria de referencia, y cada subsecuente entrada a un brazo reforzado donde ya se ha consumido el reforzador, es considerada un error de memoria de trabajo. La gran ventaja de esta tarea es que permite medir ambos tipos de memoria de una manera muy clara. El hecho de que sea una evaluación memoria de referencia y memoria de trabajo intrasujeto e intratarea reduce las fuentes de variabilidad y provee de mayor poder metodológico.

Laberinto radial

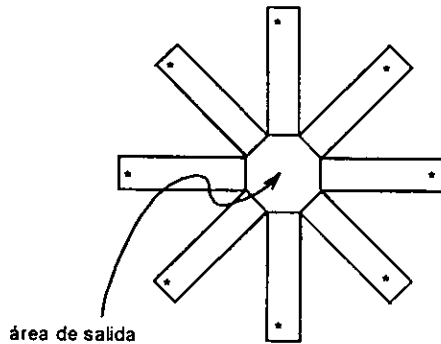


Fig. 1: Un ejemplo del laberinto radial diseñado por Olton (1976)

En 1979, Olton propuso una teoría que establece que el hipocampo participa de manera exclusiva en la memoria de trabajo (Olton, 1979). Empleando el laberinto radial Olton evaluó los efectos de lesiones hipocampales en ratas sobre el desempeño tanto en memoria de referencia como en memoria de trabajo, mediante los procedimientos diferenciales para la evaluación de ambos tipos de memoria, previamente descritos. Los resultados indican que los animales lesionados cometen en un principio errores tanto de memoria de referencia como de memoria de trabajo. Sin embargo los efectos de las lesiones sobre memoria de referencia son transitorios, ya que conforme avanzan las sesiones los animales lesionados

logran el mismo nivel de desempeño que los animales en el grupo control. En contraste, los errores en memoria de trabajo prevalecen, de modo tal que los animales lesionados nunca recuperan el desempeño que mostraban previo a la lesión, con lo que Olton obtiene datos robustos en apoyo a su teoría sobre la participación del hipocampo en memoria de trabajo pero no memoria de referencia.

El hipocampo

El hipocampo es una estructura neural ubicada bilateralmente en el lóbulo temporal, como parte de la formación hipocampal (ver figura 2). Es una estructura cortical filogenéticamente antigua, que forma parte de la llamada arquicorteza.

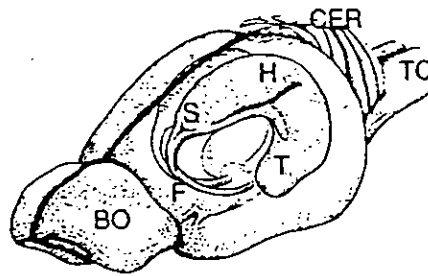


Fig. 2. localización del hipocampo (H) en el cerebro de la rata. Puede observarse su posición con respecto al bulbo olfatorio (BO), corteza entorrinal (CE), tallo cerebral (TC). "S" refiere al polo septal del hipocampo, mientras que "T" refiere al polo temporal. Modificado de Amaral y Witter (1995)

La estructura y organización interna del hipocampo ha sido ampliamente caracterizada mediante métodos histológicos. El hipocampo está conformado por el giro dentado y por los llamados cuernos de amon (Ca) que incluyen las áreas Ca1 y Ca3 (ver figura 3). Esta subdivisión está basada tanto en diferencias del tamaño de las células piramidales (las células piramidales de Ca1 siendo más pequeñas que las de Ca3) como en las diferencias en conectividad entre estas áreas. El hipocampo constituye un circuito trisináptico que comienza con las aferencias provenientes de la corteza entorrinal, las cuáles proyectan a las células granulares del giro dentado, realizando allí la primera sinapsis. Los axones de las células granulares forman las fibras musgosas que proyectan a las células piramidales del

campo Ca3, constituyendo la segunda sinápsis. Los axones de las células Ca3, además de enviar colaterales recurrentes a las células piramidales de Ca3, forman las llamadas colaterales de Schaffer que hacen sinápsis en las células piramidales de ca1. El flujo de la información entre estas regiones del hipocampo es unidireccional en naturaleza.

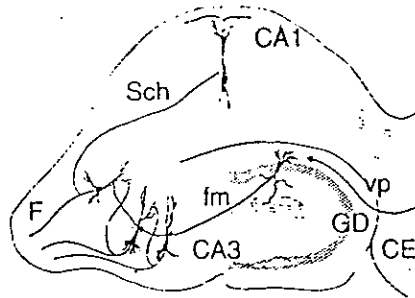


Fig 3. Se ilustra el circuito trisináptico del hipocampo: las proyecciones de la corteza entorrinal (CE) hacen su primera sinápsis en las células granulares del giro dentado (GD), formando la vía perforante (vp). Los axones de las células granulares del giro dentado forman las fibras musgosas (fm) realizando la segunda sinápsis en las células piramidales CA3, cuyos axones a su vez forman las colaterales de Schaffer (Sch), que terminan haciendo la tercera sinápsis en las células piramidales de CA1. "F" refiere al fornix, a donde proyectan también algunos axones de las células piramidales de CA3. Modificado de Ben-Ari y Represa (1990).

La estructura laminar del hipocampo es en general homogénea para todas las regiones de esta estructura. La lámina principal se denomina "lámina piramidal", dado que es la capa donde se encuentran dichos cuerpos celulares. Las dendritas basales de las células piramidales se extienden hacia la capa inferior a la piramidal, denominada "stratum oriens", la cual es una capa relativamente libre de cuerpos celulares. En la región ca3, pero no en ca1, existe una capa delgada libre de cuerpos celulares, denominada "stratum lucidum", donde se encuentran los axones de las fibras musgosas originadas en el giro dentado. La lámina localizada por encima de la lámina piramidal se denomina "stratum radiatum", la cual puede ser definida como la capa suprapiramidal en la cual se localizan tanto las conexiones ca3-ca3, como las ca3-ca1. la parte más superficial del hipocampo se denomina "stratum molecular". Es en esta capa donde terminan las fibras de la vía perforante provenientes de la corteza entorrinal. Algunas fibras aferentes de otras regiones, como el núcleo reuniens de la línea medial del tálamo terminan también en esta capa.

El hipocampo recibe aferencias subcorticales de la amígdala, el claustrum, los núcleos septales, el núcleo supramamilar, el hipotálamo lateral, tálamo anterior, línea medial del tálamo, área ventral tegmental, núcleos del raquí y locus coeruleus. Las principales aferencias subcorticales del hipocampo proyectan a regiones olfativas, amígdala, núcleos septales, núcleo accumbens, tálamo anterior, línea medial del tálamo, hipotálamo y cuerpos mamilares.

Por su parte, las principales aferencias corticales al hipocampo provienen de las capas superficiales de la corteza entorrinal (principalmente de la capa 2), la corteza perirrinal y la corteza medial frontal, enviando aferencias hacia estas mismas cortezas vía subíulum, particularmente a las capas más profundas de la corteza entorrinal.

El hipocampo es una estructura en la cuál se han observado procesos de plasticidad cerebral. Esta puede definirse como “un proceso caracterizado por cambios adaptativos estructurales y funcionales del sistema nervioso que se efectúan como consecuencia de la alteración en su ontogenia” (Brailowsky y Piña, 1991). Un ejemplo de plasticidad en el hipocampo es la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés). La potenciación a largo plazo consiste en un incremento en la efectividad de las sinápsis relativamente perdurable (semanas e incluso meses en algunas preparaciones) como producto de la actividad electrofisiológica previa (Bliss y Lomo, 1973). El LTP, dada su relativa permanencia y su activación como producto de actividad previa se ha propuesto como mecanismo paralelo y probablemente subyacente a procesos de aprendizaje y memoria. En relación a este argumento, Davis, Butcher y Morris (1992) encontraron evidencia que apoya esta idea. Estos autores observaron los efectos de la administración de un antagonista de receptores NMDA (los cuáles son indispensables para el LTP en algunas regiones del hipocampo) sobre la potenciación a largo plazo y la ejecución del laberinto de agua de Morris y observaron que ambos procesos son afectados, lo que sugiere una probable relación entre ellos y por tanto la posibilidad de que el LTP sea un mecanismo subyacente a procesos de aprendizaje y memoria.

Existen también evidencias que señalan una participación particularmente importante del hipocampo en la memoria que involucra el almacenamiento de información de tipo espacial. O'Keefe y Nadel (1978) reportaron la existencia de las "células de lugar". Estos autores reportaron que existe un patrón diferencial de respuesta neural de las células piramidales del hipocampo dependiendo del lugar particular en que el organismo se encuentre, esto es, ciertas células que responden cuándo el animal se encuentra en la posición A no responden al encontrarse éste en la posición B, momento en el cuál otras células están activas. Esta evidencia hizo pensar a O'Keefe y Nadel que el hipocampo es de suma relevancia para la codificación y el almacenamiento de la información de tipo espacial y que es una estructura que permite al organismo la formación de mapas cognitivos de acuerdo a las relaciones espaciales del ambiente en que se encuentra navegando. Dichos mapas están presumiblemente mediados por el patrón de actividad neuronal de las llamadas células de lugar (O'Keefe y Nadel, 1978).

A la luz de las características morfológicas del hipocampo, de su participación en procesos plásticos presumiblemente relacionados con la memoria, así como de su particularmente importante participación en aprendizajes que involucran el recuerdo de relaciones espaciales, podemos entender mas claramente los resultados de Olton (1976) sobre la participación de esta estructura en la memoria (en este caso, particularmente la memoria de trabajo), ya que recordemos, la tarea empleada por Olton fue una tarea que requiere del procesamiento de información espacial para su ejecución adecuada. El empleo de tareas espaciales es particularmente importante debido a que provee de un procedimiento conductual sensible para el estudio del hipocampo en relación con la memoria. Los laberintos constituyen entonces la tareas mas comúnmente empleada en experimentos con ratas, encontrándose entre ellos el laberinto "T", el laberinto "Y" y mas recientemente el laberinto radial (Olton, 1976), previamente descrito, y el laberinto de agua de Morris (Morris, 1981), al cual en breve me referiré con mayor detalle.

La participación del hipocampo en la memoria ha sido documentada también por medio de casos neuropsicológicos. El reporte sobre el paciente H. M. (Scoville and Miller, 1957) constituye una de las evidencias más citadas al respecto. Tras una extirpación bilateral del lóbulo temporal como método de control de epilepsia, H.M. presentó amnesia anterograda (posterior al momento de la lesión) severa. Después de la operación, H.M. era incapaz de retener información por más de algunos segundos. Este paciente podía repetir sin problema una lista de números o letras siempre y cuando no hubiera un intervalo de demora durante el cual su atención fuera desviada de la lista. De hecho, H.M era capaz de mantener la información en memoria por tanto tiempo como pudiera mantenerse repasándola, pero una vez que su atención era desviada y el repaso cesaba, la información se perdía.

El daño cerebral que sufrió HM, sin embargo, no fue restringido al hipocampo sino que abarcó varias estructuras del lóbulo temporal, lo que no permitía discernir cuál de dichas estructuras se podía señalar como responsable por el déficit mnémico observado en el paciente. Sin embargo, el reporte de un nuevo paciente RB, (Zola-Morgan, Squire y Amaral, 1986) , permitió evaluar de una manera más directa la participación del hipocampo en la memoria. El paciente RB sufrió daño isquémico (reducción de la irrigación sanguínea al cerebro) durante una operación al corazón. Dado que las células piramidales de la región CA1 del hipocampo son particularmente susceptibles a daño por isquemia, la lesión producida en RB fue restringida a esta región. Esta observación demostró que el daño al hipocampo es suficiente para producir deficiencias en memoria. Posteriormente, el desarrollo de técnicas de neuroimagen permitió observar que otros casos de amnesia provenían de sujetos con daños circunscritos al hipocampo (e.g. Squire, Amaral y Press, 1990).

Volviendo a los datos presentados por Olton (1979) sobre la participación del hipocampo en la memoria de trabajo, es posible observar que el hecho de ubicar una estructura cuya lesión afecta la memoria de trabajo pero no la memoria de referencia, sugiere que dicha estructura se encuentra participando de manera diferencial con respecto a

ambos tipos de memoria. Con base en esto, podría entonces suponerse que es posible ubicar una estructura diferente que pudiera estar participando en el procesamiento de información concerniente a memoria de referencia. Encontrar una estructura cuya lesión afecta la memoria de referencia pero no la memoria de trabajo nos permitiría realizar una doble disociación en favor de una participación diferencial de ambas estructuras.

La neocorteza y la memoria de referencia

Del mismo modo que el hipocampo ha sido propuesto como una estructura que participa en la memoria de trabajo, se ha sugerido que la información concerniente a memoria de referencia podría estar almacenada en algún lugar de la neocorteza (e.g. Squire, 1992; Eccles, 1983).

La investigación en torno a la participación de la neocorteza en memoria de referencia ha sido menos extensa comparada con la que existe en torno al hipocampo y la memoria de trabajo, sin embargo pueden mencionarse algunos ejemplos de trabajos relevantes a la corteza y la memoria. Por ejemplo, ha sido reportado que la estimulación eléctrica de la neocorteza puede inducir amnesia retrograda -previa al momento de la intervención- (e.g. Buresova y Bures, 1985), lo cual sugiere fuertemente su participación en memoria. Del mismo modo, Kesner y Dimattia (1987) proporcionaron evidencia de la participación neocortical en la memoria de referencia. Estos autores realizaron lesiones en corteza parietal, corteza frontal medial y corteza visual. Los resultados demostraron que no hubo ningún efecto significativo para el caso de las lesiones en corteza visual. Las lesiones en corteza parietal provocaron efectos únicamente en memoria de referencia, pero dichos efectos fueron transitorios, observándose una recuperación total al final del experimento. En el caso de la corteza medial frontal, se encontraron efectos de las lesiones tanto en memoria de trabajo como en memoria de referencia, sin embargo, hubo una completa recuperación funcional de la memoria de trabajo, mientras que para memoria de referencia, se observó tan solo una recuperación parcial y ligera al final del experimento.

Estos resultados sugieren entonces, que la corteza frontal es particularmente importante en la memoria de referencia, sin embargo es relevante mencionar que Kesner y DiMattia realizaron lesiones mediante el método de aspiración, lo que suele tener como consecuencia que las lesiones sean poco circunscritas y existe la posibilidad de que haya ocurrido daño a regiones adyacentes y/o a fibras de paso que comunican una estructura con otro, lo que hace los resultados difíciles de interpretar dado que los efectos podrían deberse ya sea a la lesión en cuestión que se pretendía lesionar, a daños en regiones adyacentes o a la imposibilidad de comunicación entre dos regiones cerebrales como resultado de la lesión de fibras que las conectan entre sí. Debido a estas restricciones en la implementación de lesiones de aspiración, es preferible realizar lesiones excitotóxicas que permiten una mayor especificidad de la lesión y por lo tanto una evaluación más confiable de la participación de la neocorteza en memoria. Sin embargo, el estudio de Kesner y DiMattia (1987) es muy importante en el sentido de que aporta evidencia general sobre la participación de la neocorteza en la memoria.

La corteza Insular

Una de las áreas de la neocorteza que se ha propuesto como relevante dentro de la investigación en memoria es la corteza insular (CI). Es importante a este punto mencionar algunas de sus características neuroanatómicas y fisiológicas que nos permitan una mejor comprensión de su estudio desde el punto de vista funcional.

La corteza insular es un área que se extiende desde la corteza lateral frontal hasta la corteza peririnal en una dirección rostro caudal y desde el borde ventral de la corteza somatosensorial hasta la corteza piriforme en una dirección dorsoventral. Ha sido dividida en una región anterior y una región posterior. La corteza insular ha sido también conocida como corteza visceral pues se sabe que participa tanto en ese tipo de reacciones, como en reacciones al stress (Van der kooy, Koda, McGinty, Gerfen y Bloom, 1984).

Esta corteza recibe aferencias provenientes de estructuras del sistema límbico, así como aferencias viscerales primarias (e.g. Van der Kooy et al, 1984; Kiefer, 1985). Del mismo modo, existe un área de la corteza insular, la corteza gustativa, que recibe aferencias del área ventromedial del tálamo, la cuál tiene una gran relación con el sentido del gusto.

Las conexiones de la corteza insular han sido señaladas como importantes para el procesamiento de información mnémica son aquéllas con estructuras límbicas como la amígdala, el núcleo mediodorsal del tálamo y la corteza prefrontal. (Krushel y Van der Kooy, 1988). En general, la idea de que la CI pudiera estar participando en procesos mnémicos proviene de estudios con condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) empleando ratas como sujetos experimentales. Este paradigma conductual consiste en presentar al organismo con un estímulo gustativo el cual es sucedido por un estímulo aversivo de tipo visceral, normalmente malestar gástrico, producido por una inyección intraperitoneal de cloruro de litio 15 minutos después de la presentación del estímulo gustativo. Una sola presentación contingente de ambos estímulos es suficiente para que el animal adquiera una aversión condicionada al estímulo gustativo, la cual es evaluada mediante el consumo de dicho estímulo en una segunda presentación. Típicamente, los animales se rehusan a consumir el sabor que ha sido previamente asociado con un estímulo aversivo de tipo visceral. En relación con la corteza insular, se ha observado que lesiones a esta área evitan que el animal adquiera una aversión condicionada (e.g Kiefer, 1985;). Es importante mencionar que aunque la parte gustativa de esta corteza se considera una corteza gustativa primaria, los efectos de las lesiones no se deben a una deficiencia de la discriminación gustativa, porque esos procesos parecen llevarse a cabo en el tallo cerebral y áreas pontinas (Braun, Lasiter y Kiefer, 1982; Norgren, 1984).

Más recientemente, se encontró que lesiones excitotóxicas de la CI interrumpen la adquisición de la tarea de prevención pasiva. En esta tarea los animales son colocados en una caja experimental que posee un compartimento iluminado y uno oscuro. Dado que las ratas son animales fotofóbicos, tienden a evitar los lugares iluminados, sin embargo en este

caso, el lado oscuro es asociado con un choque eléctrico y el animal debe aprender a permanecer en el lado iluminado con el objeto de evitar dicho estímulo aversivo. Los efectos de lesiones de CI sobre la ejecución de esta tarea indican que ésta participa también en aprendizajes que requieren del almacenamiento de información relacionada con eventos exteronociceptivos. Se ha demostrado también que la corteza insular participa preferencialmente en aprendizajes aversivamente motivados (Ormsby et al, 1993).

En 1991, Bermúdez-Rattoni et al. demostraron que la inactivación temporal de la corteza insular mediante la administración de tetrodotoxina (TTX, un bloqueador de la actividad dependiente de canales de sodio), afecta el aprendizaje de la tarea de laberinto de agua. El laberinto de agua es una tarea de aprendizaje que requiere del almacenamiento adecuado de información de tipo espacial por parte del animal para la ejecución adecuada de la tarea. A partir de su creación por Morris en 1981, este laberinto ha sido ampliamente empleado dentro de las neurociencias, en el estudio del aprendizaje y la memoria, por lo que resulta relevante profundizar un poco en las características de esta tarea.

El laberinto de agua de Morris es una tina circular de aproximadamente un metro de diámetro, la cual se encuentra llena de agua. Sumergida aprox. 1 cm por debajo del nivel del agua se encuentra una plataforma de escape (ver figura 4). El fondo de la tina es generalmente oscuro y la plataforma transparente, de modo que ésta última es invisible al animal. Los animales son colocados en el agua en un punto predeterminado de la tina y la única manera que tienen para escapar es encontrando la plataforma sumergida. En la tarea originalmente propuesta por Morris, el punto de partida del animal varía de ensayo a ensayo, mientras que la plataforma se mantiene en un lugar constante a lo largo de la sesión, por lo cuál la única manera de que el animal aprenda la tarea es recordando la localización de la plataforma con respecto a las claves visuo-espaciales a su alrededor, lo que determina la naturaleza espacial de la tarea. Podemos notar también, que dado que dichas claves visuo-espaciales son siempre constantes con respecto a la plataforma, el animal debe recordar la misma información (i.e. donde se encuentran la plataforma con

respecto a dichas claves) para todos los ensayos dentro de la sesión, por lo cual ésta se considera una tarea de memoria de referencia. Los resultados obtenido por Bermúdez-Rattoni et al. (1991) provienen de un estudio en el cuál se empleó este procedimiento para el laberinto de agua de Morris, lo que sugiere por tanto que la corteza insular es importante para la memoria de referencia.

Laberinto de agua

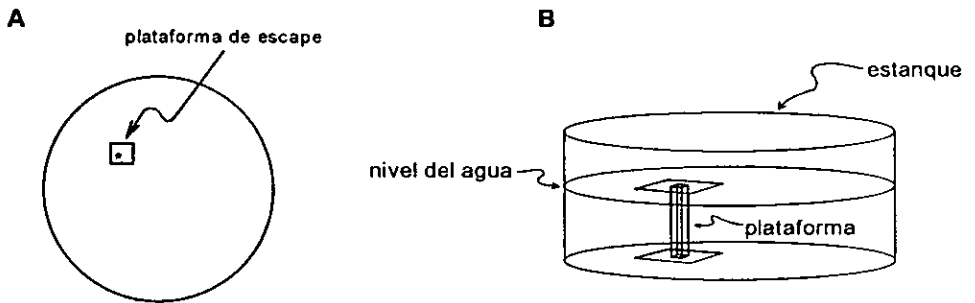


Fig. 4. El laberinto de agua de Morris desde una vista superior (A) y una vista lateral (B).

Ormsby, Ramírez-Amaya, y Bermúdez-Rattoni (1998) presentaron evidencia sugestiva en favor de la participación de la CI en memoria de referencia, empleando como procedimiento conductual el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS), previamente demostrado como una tarea susceptible a lesiones de la corteza insular (Bermúdez-Rattoni et al, 1991). Ormsby et al. evaluaron los efectos de la implantación de tejido fetal en ratas previamente lesionadas en CI, con el objeto de observar si existe recuperación funcional del CAS favorecida por los implantes. Una vez que los animales adquirieron la aversión condicionada al sabor, fueron lesionados de la CI y posteriormente recibieron implantes fetales. 15 o 45 días después, los animales fueron presentados con el estímulo aversivo. Se encontró que, a diferencia de las ratas lesionadas que no habían recibido implantes, los animales que recibieron implantes mostraron aversión al estímulo condicionado al igual que el grupo control (animales no lesionados pero condicionados), lo cual implica que los

implantes habían inducido una recuperación funcional de la corteza insular. Sin embargo, ningún grupo difirió cuando fueron entrenados en un segundo CAS con un estímulo gustativo diferente. Aunque estos resultados no evalúan directamente el papel de la memoria de referencia y/o memoria de trabajo, sí sugieren que la CI sólo es importante para el almacenamiento de la información. El hecho de que los animales lesionados en la corteza insular puedan sin embargo adquirir un nuevo CAS fortalece la idea de que los mecanismos neurales de la corteza insular en relación a memoria se encuentran relacionados con la participación de la corteza insular en un tipo de memoria que involucra el procesamiento de información estable a lo largo del tiempo, de allí su presunta relación con memoria de referencia.

Planteamiento del problema y propuesta experimental

Los estudios realizados por Olton (1979) constituyen una evidencia directa de la participación del hipocampo en la memoria de trabajo. Del mismo modo, la evidencia previamente mencionada con respecto a la corteza insular, aunque indirecta, sugiere la participación de dicha estructura en la memoria de referencia. Sin embargo, no existe precedente en la implementación de un estudio que evalúe simultáneamente la participación de ambas estructuras en la memoria de trabajo y memoria de referencia. El encontrar una participación diferencial de ambas estructuras en estos tipos de memoria nos permitiría realizar una doble disociación que nos daría pistas importantes en el estudio de la memoria tanto desde un punto de vista neurofisiológico (i.e. la participación diferencial de diversas regiones cerebrales en la memoria) como desde el punto de vista del procesamiento de información en el sentido de que dicha participación diferencial constituye un sustrato fisiológico que sustenta la posibilidad (en términos funcionales) de que la información sea procesada de una manera distinta de acuerdo a sus características.

Para la evaluación de la memoria de referencia y de trabajo en relación con corteza insular y el hipocampo se propone emplear el laberinto de agua de Morris. La razón para emplear una tarea de tipo espacial como ésta se basa principalmente en la importante

participación del hipocampo en el procesamiento de este tipo de información, lo cuál nos provee de la oportunidad de emplear esta tarea como una medida sensible que nos permitirá observar variaciones conductuales aún si estas no son demasiado pronunciadas. Como se ha señalado previamente, la participación de la corteza insular también ha sido evaluada mediante procedimientos espaciales, de modo que el empleo de esta tarea nos da la capacidad de realizar una evaluación comparable de la participación de ambas estructuras. Si bien el laberinto radial podría considerarse una mejor manera de evaluar ambos tipos de memoria debido a que nos permite mayor control siendo un diseño intratarea e intrasujeto (Olton, 1976), la participación de la corteza insular preferencialmente en procedimientos motivados aversivamente (Ormsby et al., 1993), imposibilita el uso de el laberinto radial para la evaluación de esta estructura, dejando como mejor opción en este caso el empleo del laberinto de agua de Morris.

La participación de la memoria de trabajo y memoria de referencia es evaluada de una manera diferencial por dos procedimientos conductuales en el laberinto de agua. El procedimiento original propuesto por Morris, por sus características, es empleado para la evaluación de la memoria de referencia (ver páginas 23 y 24 para una descripción general del procedimiento).

Además del procedimiento tradicional para la evaluación de la memoria de referencia, se empleará en el presente estudio una variación de dicho procedimiento con el objeto de evaluar memoria de trabajo. Este procedimiento se lleva a cabo a lo largo de cuatro sesiones experimentales, una cada día. Cada sesión está conformada por dos ensayos durante los cuáles la plataforma se mantiene en el mismo lugar. Sin embargo, la ubicación de la plataforma es variada de sesión a sesión, por lo que el animal debe recordar una ubicación diferente cada día. La estrategia que el animal debe emplear para encontrar la plataforma consiste en recordar en qué lugar se encontraba ésta durante el ensayo anterior de ese mismo día. La evaluación de memoria de trabajo es entonces evaluada mediante el comportamiento del animal durante el segundo ensayo de cada sesión: se presume que si el

animal disminuye su tiempo de llegada a la plataforma en este segundo ensayo con respecto al primero, es porque ha sido capaz de recordar la localidad donde se encontraba la plataforma en el ensayo previo. En este caso, las claves visuo-espaciales que el animal pudiese estar obteniendo del ambiente son relevantes para su conducta solo transitoriamente. Por ejemplo, el animal podría estar almacenando información sobre la localización de la plataforma con respecto a claves externas durante el primer ensayo, y esta información es relevante para la localización de la plataforma durante el segundo ensayo de la misma sesión. Sin embargo, esta información deja de ser útil en el primer ensayo de la siguiente sesión debido a que entonces la plataforma habrá cambiado de localidad, y las claves espaciales adquiridas durante el día previo habrán cambiado con respecto a la plataforma y por lo tanto serán no informativas para la localización de la misma.

Así, puede notarse que de sesión a sesión, el animal debe adaptar su respuesta, recordando aquella información que es relevante únicamente por el tiempo en que la plataforma se mantenga en la misma posición y deshechándola posteriormente con el objeto de recordar la información que es ahora importante de acuerdo a los nuevos estímulos (i.e. a la nueva distribución espacial de las claves externas con respecto a la plataforma).

De esta forma, se propone el uso de estos dos procedimientos en el laberinto de agua, para la evaluación de los efectos de lesiones del hipocampo y la corteza insular sobre la memoria de trabajo y la memoria de referencia.

EXPERIMENTO 1: Evaluación de los efectos de las lesiones de corteza insular sobre la memoria de referencia y la memoria de trabajo.

METODO

Sujetos

Cuarenta ratas albinas macho de la cepa de wistar, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular fueron empleadas como sujetos experimentales. Los animales tuvieron una edad aproximada de 4 meses y un peso promedio de 250 gramos al inicio del

animal disminuye su tiempo de llegada a la plataforma en este segundo ensayo con respecto al primero, es porque ha sido capaz de recordar la localidad donde se encontraba la plataforma en el ensayo previo. En este caso, las claves visuo-espaciales que el animal pudiese estar obteniendo del ambiente son relevantes para su conducta solo transitoriamente. Por ejemplo, el animal podría estar almacenando información sobre la localización de la plataforma con respecto a claves externas durante el primer ensayo, y esta información es relevante para la localización de la plataforma durante el segundo ensayo de la misma sesión. Sin embargo, esta información deja de ser útil en el primer ensayo de la siguiente sesión debido a que entonces la plataforma habrá cambiado de localidad, y las claves espaciales adquiridas durante el día previo habrán cambiado con respecto a la plataforma y por lo tanto serán no informativas para la localización de la misma.

Así, puede notarse que de sesión a sesión, el animal debe adaptar su respuesta, recordando aquella información que es relevante únicamente por el tiempo en que la plataforma se mantenga en la misma posición y deshechándola posteriormente con el objeto de recordar la información que es ahora importante de acuerdo a los nuevos estímulos (i.e. a la nueva distribución espacial de las claves externas con respecto a la plataforma).

De esta forma, se propone el uso de estos dos procedimientos en el laberinto de agua, para la evaluación de los efectos de lesiones del hipocampo y la corteza insular sobre la memoria de trabajo y la memoria de referencia.

EXPERIMENTO 1: Evaluación de los efectos de las lesiones de corteza insular sobre la memoria de referencia y la memoria de trabajo.

METODO

Sujetos

Cuarenta ratas albinas macho de la cepa de wistar, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular fueron empleadas como sujetos experimentales. Los animales tuvieron una edad aproximada de 4 meses y un peso promedio de 250 gramos al inicio del

experimento. Las ratas fueron mantenidas en cajas individuales con alimentación y agua ad libitum, en un ciclo de 12:12 hrs luz-obscuridad.

Previo al inicio del experimento, cada animal fue asignado aleatoriamente a uno de los siguientes grupos, de acuerdo al tipo de ontervención quirúrgica al que serían sujetos:

- a) Lesión excitotóxica (LxCI, n=16)
- b) Lesión fantasma (n= 12)
- c) Control intacto (n=12)

Procedimiento quirúrgico

a) Lesión excitotóxica

Los animales asignados a los grupos de lesión excitotóxica fueron anestesiados con pentobarbital sódico en una dosis de 50 ml por kg. de peso, diluido en una solución salina al .9% en una proporción 1:3 mediante una inyección intraperitoneal. Una vez anestesiados, los animales fueron montados en un aparato estereotáxico. Las lesiones fueron realizadas bilateralmente: la punta de una aguja dental de acero inoxidable fue colocada por encima de la corteza insular, de acuerdo a las coordenadas señaladas en el atlas estereotáxico de Paxinos (1973):

Anteroposterior (AP):+1.2

Dorsoventral (DV):-6.0

Lateral (lat): \pm 5.5

La aguja fue conectada mediante un tubo de polietileno (0.46 mm diámetro) a una microjeringa Hamilton de 10 microlitros, la cual a su vez fue conectada a un microinyector automático. Las lesiones fueron realizadas mediante la inyección de 1.0 microlitro de N-metil-D-aspartato (NMDA) diluido en una solución amortiguadora fosfatos al .2 molar durante dos minutos (.5 microlitros/minuto) tras lo cual las agujas se mantuvieron colocadas

sobre la corteza insular durante dos minutos adicionales, con el objeto de permitir la difusión adecuada de la solución.

b) Lesión fantasma

El procedimiento quirúrgico fue idéntico al empleado para las lesiones excitotóxicas, excepto que a los animales asignados al grupo de lesión fantasma únicamente se les inyectó 1.0 microlitro de solución amortiguadora fosfatos y no el NMDA, con el objeto de tener un grupo control tanto para el procedimiento quirúrgico en sí como para el volumen de líquido introducido en el área de la corteza insular.

c) Control intacto

Los animales pertenecientes a este grupo no fueron sujetos a intervención quirúrgica alguna.

Recuperación postoperatoria

Tras la intervención quirúrgica, se proporcionó a todos los animales operados un periodo de recuperación de 15 días, después de lo cual cada uno de los grupos (Lesión excitotóxica, Lesión Fantasma, Control Intacto) fue subdividido aleatoriamente, asignándose la mitad de cada grupo al procedimiento de memoria de referencia y la mitad restante al procedimiento de memoria de trabajo, como puede observarse a continuación:

	Corteza Insular		
	Lesión excitotóxica (LxCI)	Lesión Fantasma	Control Intacto
Memoria de Trabajo	8 sujetos	6 sujetos	6 sujetos
Memoria de Referencia	8 sujetos	6 sujetos	6 sujetos

Aparatos

El laberinto de agua empleado consistió en una tina circular de metal galvanizado, pintada de color negro, de 90 centímetros de diámetro y 85 cm. de profundidad. Se empleó como plataforma de escape una columna de acrílico de 29 cm. de longitud con una base superior de forma cuadrangular con medidas de 10 cm. por lado. El nivel del agua fue de 30 cm, de modo tal que la plataforma quedó sumergida 1 cm. por debajo del nivel del agua. El agua se encontró a una temperatura de 24 grados centígrados y fue cambiada diariamente.

El registro de la actividad de los animales durante las sesiones experimentales se realizó mediante un sistema de circuito cerrado de televisión (Chromo Track 3.0; San Diego Instruments, San Diego, CA, E.U.) conectado a una computadora Lanix 386, la cual registró el patrón de nado de los animales, permitiéndole de este modo obtener tanto la distancia recorrida, como el tiempo de llegada al blanco (plataforma de escape) de los animales durante cada sesión experimental.

Procedimiento

1.-Memoria de referencia

1.1 Entrenamiento

Para el entrenamiento en memoria de referencia se colocaron claves visuo-espaciales alrededor del laberinto. El laberinto de registro en la computadora fue dividido en cuadrantes (ver figura 5B) seleccionándose uno en el centro del cual se colocó la plataforma de escape. Cada sesión constó de 10 ensayos durante los cuales la plataforma se mantuvo en un lugar constante. Se designaron aleatoriamente 10 puntos diferentes de partida del animal con respecto a la plataforma de escape, (ver figura 5A), comenzando cada ensayo con la colocación del animal en el punto de partida correspondiente (punto número 1 en el ensayo 1, 2 en el ensayo 2 y así sucesivamente). Cada ensayo podía terminar de dos maneras:

a) En el momento en que el animal encontrara la plataforma de escape y subiera a ella, o bien

b) Una vez pasados 60 segundos a partir del inicio del ensayo, si el animal no había localizado la plataforma, momento en el cual el experimentador le guiaba con la mano hacia la plataforma, y le colocaba sobre ésta última.

Una vez en la plataforma, se permitió al animal permanecer allí durante 30 segundos, tras lo cual fue colocado en una caja de acrílico durante 30 segundos adicionales, obteniéndose de esta forma un intervalo entre ensayos de un total de 60 segundos, tras lo cual se daba inicio a un nuevo ensayo (ver figura 6). Se registró el tiempo de llegada al blanco para cada uno de los ensayos.

1.2 Prueba

El día posterior al entrenamiento, los animales en este grupo fueron sujetos a un ensayo de prueba. En este ensayo, la plataforma fue removida del laberinto de agua, dejando a los animales sin posibilidad de escape. El ensayo comenzó con la colocación del animal en el punto de partida número uno (ver figura 5A), y terminó una vez transcurridos 60 segundos después de lo cual el animal fue removido del laberinto. Durante esta prueba se registró el número de cruces que el animal realizó en el área correspondiente a la localización de la plataforma durante el entrenamiento, así como en el área que correspondería a una posición análoga de la misma en los tres cuadrantes restantes.

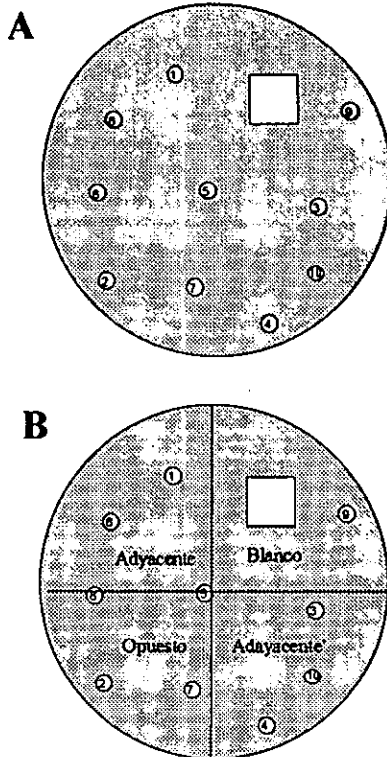


Figura 5. Mapa representativo de A) los puntos de partida (1-10) designados para la tarea de memoria de referencia en el laberinto de agua y B) Los cuadrantes empleados en esta tarea, se denomina cuadrante "blanco" a aquél en el cual se encontraba la plataforma de escape.

2.-Memoria de trabajo.

El procedimiento de memoria de trabajo consistió en cuatro sesiones experimentales, una cada día. Cada sesión constó de dos ensayos durante los cuales la plataforma permaneció en un lugar constante. Sin embargo, la plataforma fue colocada en el centro de un cuadrante diferente cada día, siendo ésta por tanto, constante dentro de cada sesión, pero variada entre cada una de las sesiones. El punto de partida al inicio del ensayo se mantuvo constante (punto número uno) a lo largo de los ensayos y de las sesiones. Se registró el tiempo de llegada al blanco para cada uno de los ensayos. En semejanza con la tarea de memoria de referencia, cada ensayo podía terminar de dos maneras:

a) con la llegada del animal a la plataforma, o bien

b) Una vez transcurridos 120 segundos, siendo el animal guiado y colocado por el experimentador sobre la plataforma de escape.

El intervalo entre ensayos fue de una hora, tiempo durante el cual los animales permanecieron dentro de sus respectivas cajas de acrílico en el cuarto experimental. No se realizó una sesión de prueba para este procedimiento ya que la evaluación de memoria de trabajo se llevó a cabo diariamente mediante la comparación del tiempo de llegada al blanco durante el primer y segundo ensayo.

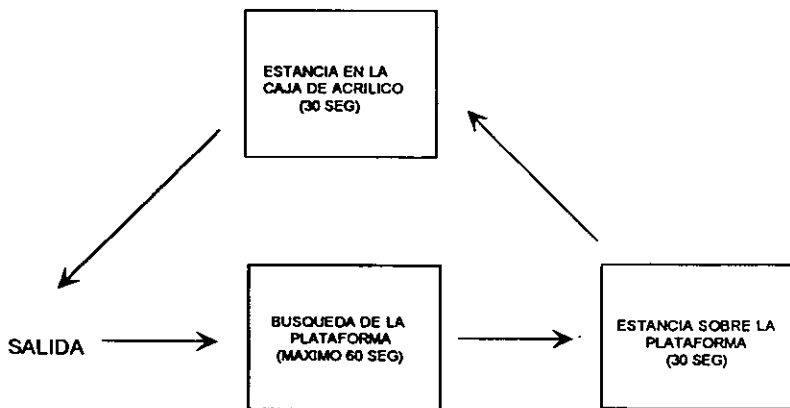


Figura 6. Diagrama representativo del procedimiento de memoria de referencia en el laberinto de agua. La sesión culmina tras la implementación de 10 ensayos.

Perfusión.

Una vez concluido el procedimiento conductual, las ratas fueron sacrificadas mediante anestesia profunda y perfundidas intracardialmente a través del ventrículo derecho del corazón y la aorta ascendente con una solución salina en concentración fisiológica (.9%) y posteriormente con una solución de paraformaldehído diluido en una solución amortiguadora fosfatos. Los cerebros fueron removidos y mantenidos durante una semana en una solución de sacarosa diluida en solución amortiguadora fosfatos en una concentración de 30%, tras lo cual fueron sujetos a procedimiento histológico.

Procedimiento histológico

Con el objeto de evaluar la localización y tamaño de las lesiones, se obtuvieron rebanadas seriales de la corteza insular (cada uno de 40 micras de ancho) por medio de un microtómo. Posteriormente, las rebanadas fueron montadas en laminillas y teñidas mediante el procedimiento de Nissl (procedimiento que permite teñir cuerpos celulares con violeta de Cresilo) para su exploración en el microscopio.

Análisis Estadístico

Por medio del programa para análisis estadístico “Statview”, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) independientes para cada tipo de procedimiento conductual (memoria de referencia, memoria de trabajo), para la comparación de la ejecución de los tres grupos experimentales (lesión excitotóxica, lesión fantasma y control intacto) en el laberinto de agua. Como variable dependiente para ambas tareas, se empleó la latencia de llegada al blanco (plataforma de escape). En el caso de memoria de referencia se tomó como segunda variable dependiente el número de cruces que durante la prueba el animal realizó por la previa localización de la plataforma (i.e. el lugar donde la plataforma había estado colocada para el entrenamiento), así como por el resto de los cuadrantes.

Para la evaluación de posibles diferencias entre grupos en cada uno de los ensayos de la tarea de memoria de referencia, se llevó a cabo un análisis de varianza factorial de una sola vía (grupo: lesión excitotóxica, lesión fantasma y control intacto). Se realizaron también ANOVAS de medidas repetidas para cada grupo con el objeto de evaluar las variaciones en la latencia de llegada a la plataforma en función de los 10 ensayos de entrenamiento, así como un ANOVA de medidas repetidas para la evaluación del número de cruces de los animales en cada grupo en función de los diferentes cuadrantes del laberinto de agua..

En el caso de memoria de trabajo, se realizaron anovas de medias repetidas con el objeto de evaluar las diferencias para cada grupo entre las latencias de llegada al blanco durante el primer y segundo ensayo de cada día.

RESULTADOS

Histología

La lesión se observa de manera clara por la pérdida de cuerpos neuronales, o bien por la presencia de células muertas en forma de células picnóticas, así como mediante la evidencia de la perforación que produce la aguja, observándose un espacio con pérdida de tejido y daño generalizado. Las lesiones en el caso de la corteza insular se observaron principalmente en la parte media del eje anteroposterior de la corteza insular, localizándose en su mayoría por encima del surco rhinal. En algunos casos la lesión incluyó el claustrum.

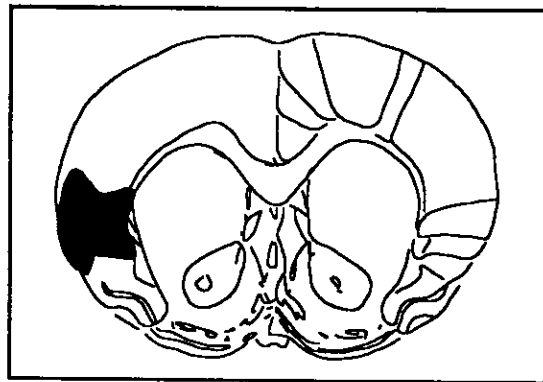


Figura 7. Representación esquemática del sitio de lesión en la corteza insular. Para fines ilustrativos, se presenta un esquema de lesión unilateral, aunque las lesiones se realizaron bilateralmente.

Resultados conductuales.

1. Memoria de referencia.

La figura 8 muestra las medias de las latencias de llegada al blanco para cada grupo en función de los ensayos (1-10). El análisis de varianza de medidas repetidas muestra un efecto significativo para la variable de grupo (control intacto, lesión fantasma, lesión

excitotóxica) ($F_{2, 17} = 25.89$ $p < 0.0001$) y para la variable de ensayos (1-10) ($F_{9, 18} = 8.89$, $p < 0.0001$) pero no para la interacción de ambas variables ($F_{9, 153} = 1.015$, $p = 4.463$). Sin embargo, el análisis de medidas repetidas realizado para cada grupo muestra que mientras existe un efecto significativo de los ensayos sobre la latencia media de los grupos control intacto ($F_{5, 9} = 18.0$, p menor que $.0001$) y lesión fantasma ($F_{5, 9} = 5.5$, $p < .0001$), este efecto no es significativo para el grupo LxCI ($F_{7, 9} = 1.06$, $p = 3.992$).

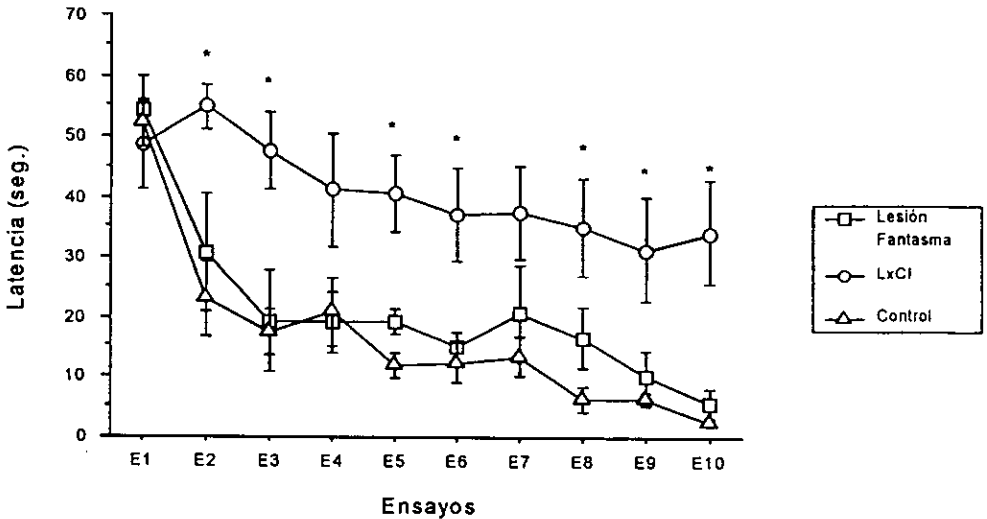


Figura 8. Se presenta la media \pm EEM de la latencia de llegada al blanco en función de los ensayos para cada uno de los grupos experimentales.

El análisis factorial de una sola vía (grupo: lesión excitotóxica, lesión fantasma y control intacto) muestra que existen diferencias significativas para todos los ensayos excepto el 1, 4 y 7 (ver tabla 1).

Los resultados de la prueba de Sheffer muestran que para todos los ensayos, excepto el no. 8, el grupo lesionado excitotóxicamente difiere significativamente tanto del grupo de lesión fantasma como del grupo control intacto ($p < .05$), en tanto que estos dos últimos grupos no difieren significativamente entre sí.

Número de ensayo	Valor F	Valor P
2	6.9	.0061
3	7.3	.0051
5	10.8	.0009
6	5.8	.0121
8	5.7	.0127
9	4.7	.0241
10	8.8	.0024

Tabla 1.- Valores F y P para los ensayos significativos en el análisis de varianza factorial de una sola vía en función de los ensayos

El análisis de medidas repetidas sobre el número de cruces en función del grupo y de los diferentes cuadrantes muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($F_{2, 17} = 3.36$, $p = .0580$), y entre cuadrantes ($F_{3,6} = 7.3$, $p = .0004$), resultando la interacción entre ambas variables también significativa ($F_{3, 51} = 5.1$, $p = .0003$). El análisis de medidas repetidas para cada grupo en función de los cuadrantes, muestra que existen diferencias estadísticamente significativas para el grupo control intacto ($F_{5,3} = 15.9$, $p < .0001$), y para el grupo lesión fantasma ($F_{5,3} = 14.1$, $p = .0001$), pero no para el grupo de lesión en corteza insular.

Con el objeto de determinar de donde provienen las diferencias en la variable de cuadrantes, se realizó un anova general de medidas repetidas excluyendo el cuadrante donde se localizó la plataforma durante el entrenamiento, encontrándose que bajo estas condiciones no existen diferencias significativas en el número de cruces en cada cuadrante, y tampoco existen diferencias en función del grupo. Con base en esto podemos afirmar que las diferencias significativas obtenidas en el análisis de medidas repetidas de acuerdo a cuadrantes, provienen del cuadrante donde la plataforma se había localizado durante el entrenamiento.

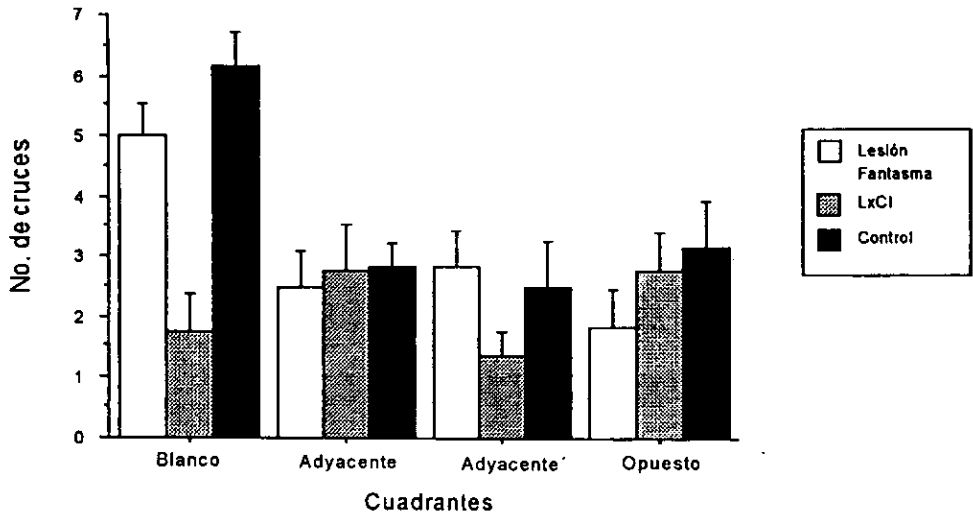


Figura 9. Se presenta la media \pm EEM del número de cruces por la localización correspondiente a la plataforma de escape en función de los cuadrantes en el laberinto de agua.

Como puede observarse en la figura 9, tanto los animales en el grupo lesión fantasma como aquellos del grupo control presentan un mayor número de cruces por el lugar correspondiente a la localización de la plataforma durante el entrenamiento, mientras que el número de cruces en el resto de los cuadrantes es menor con respecto al cuadrante correspondiente a la plataforma y sin diferencias significativas entre ellos. En contraste, los animales en el grupo de lesión excitotóxica no muestran diferencias significativas en función de los diversos cuadrantes.

2. Memoria de trabajo

El análisis de medidas repetidas muestra que no existen diferencias significativas de acuerdo a grupo, pero si de acuerdo a ensayos ($F_{1,2} = p < .0001$). No se encontró interacción significativa entre ambas variables, sugiriendo que la variable cambió de una manera similar para todos los grupos.

De acuerdo al análisis de varianza de medidas repetidas realizado para cada uno de los grupos, se obtuvieron los siguientes resultados (ver figuras 10 y 11):

Para el grupo control intacto, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos ensayos del día 1 ($F_{5,1}= 9.77, p=.0261$), del día 3 ($F_{5,1}= 11.17, p=.0205$), entre los dos ensayos del día 4 ($F_{5,1}=25.40, p=.0040$) y entre el total de los ensayos 1 y 2 ($F_{5,1}=11.47, p=.0195$).

Para el grupo de lesión fantasma, se encontraron también diferencias significativas entre los dos ensayos del día 1 ($F_{5,1}=10.25, p=0.239$), del día 3 ($F_{5,1}= 9.96, p=0.254$), del día 4 ($F_{5,1}=13.41, p=0.146$) y entre la media de todos los ensayos 1 y la media de todos los ensayos 2 ($F_{5,1}=13.57, p<0.142$).

En el caso del grupo de lesión corteza insular se encontraron diferencias significativas entre los dos ensayos del día 1 ($F_{7,1}=8.62, p<0.218$), del día 2 ($F_{7,1}=7.08, p<0.324$), del día 3 ($F_{7,1}= 15.50, p=.0056$), del día 4 ($F_{7,1}= 8.77, p= .0211$) y entre la media total de todos los ensayos no.1 y la media de todos los ensayos no 2. ($F_{7,1}=24.96, p=0.016$).

DISCUSION.

Como se observa en la figura 8, el efecto de los ensayos sobre las latencias de los grupos control intacto y lesión fantasma durante la tarea de memoria de referencia, radica en una disminución en el tiempo de llegada al blanco (plataforma de escape) en función de los ensayos, mientras que los animales en el grupo lesionado no presentan variaciones significativas en su tiempo de llegada al blanco a lo largo de los diez ensayos de la sesión. En la tarea de memoria de referencia en el laberinto de agua, se asume que una disminución significativa en el tiempo que toma al animal encontrar la plataforma de escape a lo largo de los ensayos es un índice confiable de que el animal ha aprendido la tarea. En este contexto, el hecho de que los animales con lesiones en la corteza insular no presenten dicha

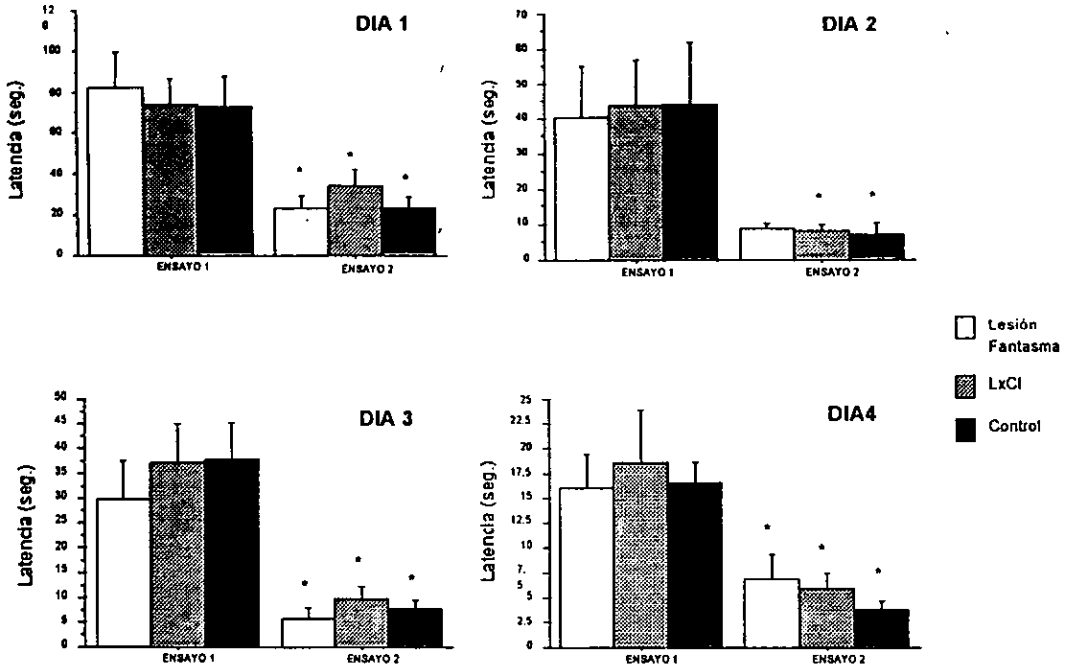


Figura 10. Se presenta la media \pm EEM de las latencias de llegada al blanco en función de los dos ensayos de cada día. La significancia (*) se señala para cada grupo con respecto a sí mismo, tomando como línea base la latencia media en el primer ensayo de cada sesión.

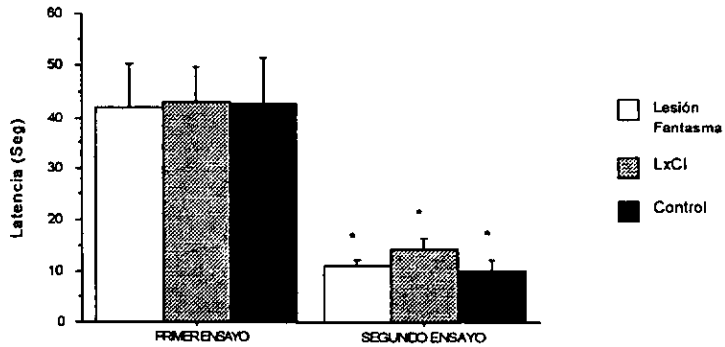


Figura 11. Se presenta la media \pm EEM de las latencias de todos los ensayos no. 1 y todos los ensayos no. 2. La significancia (*) se señala para cada grupo con respecto a sí mismo, tomando como línea base la media de las latencias de todos los ensayos no. 1

disminución en su tiempo de llegada nos permite afirmar que los mismos no aprendieron la tarea, en contraste con el aprendizaje manifiesto de la tarea en los dos grupos restantes. Los animales en el grupo lesionado presentaron a lo largo de la sesión, latencias significativamente más altas con respecto a los animales en el grupo de lesión fantasma y en el grupo control intacto, las cuáles además no disminuyeron en función de los ensayos, lo que sugiere que los animales lesionados fueron incapaces de recordar la localización de la plataforma durante el ensayo previo, información fácilmente accesible para los animales pertenecientes a los dos grupos restantes, cuyo recuerdo les permitió disminuir su tiempo de llegada a la plataforma en los ensayos subsecuentes.

El número de cruces que los animales realizan durante la prueba por cada uno de los cuadrantes del laberinto de agua nos proporciona un índice adicional de la información que los animales recuerdan o no con respecto a la localización de la plataforma. Los resultados de este experimento muestran que los animales de los grupos control intacto y lesión fantasma tuvieron un mayor número de cruces por la localización correspondiente a la plataforma dentro del cuadrante coincidente con aquel empleado durante el entrenamiento, relativo al número de cruces en el resto de los cuadrantes. Dichos resultados indican que los animales pertenecientes a estos grupos recordaban la localización de la plataforma y es allí donde la buscaban más persistentemente durante la prueba. En contraste, para los animales en el grupo LxCI no se encontraron variaciones significativas en el número de cruces por cada uno de los cuadrantes, lo que indica que los animales en este grupo nadaban de una manera aleatoria, buscando la plataforma inespecíficamente, lo que sugiere que estos animales no recordaban la localización de la plataforma y por tanto presentaron dificultades para la búsqueda de la plataforma durante la prueba.

Los resultados obtenidos en la evaluación de la tarea de memoria de trabajo muestran que los animales en todos los grupos disminuyeron significativamente su tiempo de llegada a la plataforma durante el segundo ensayo de cada sesión. En contraste con la tarea de memoria de referencia, en la cuál se evalúa la ejecución global de los animales a lo largo de

todos los ensayos, la memoria de trabajo es evaluada mediante la comparación del tiempo de llegada al blanco de los animales durante el primer y segundo ensayo de cada sesión. Una disminución en el tiempo de llegada sugiere que los animales fueron capaces de recordar el lugar donde habían localizado la plataforma durante el primer ensayo y emplearon esta información para localizarla en menor tiempo durante el segundo ensayo. Como muestran los resultados y como puede ser observado en las figs. 10 y 11, todos los animales tuvieron una ejecución similar durante el aprendizaje de esta tarea, independientemente del grupo al que pertenecieran. Los animales disminuyeron su tiempo de llegada a la plataforma durante el segundo ensayo de cada sesión, habiendo sido capaces, por tanto, de recordar la información relevante obtenida durante el primer ensayo para la localización de la plataforma durante el segundo ensayo.

Con base en estos resultados podemos afirmar que las lesiones en corteza insular tienen un efecto diferencial sobre las tareas de memorias de trabajo y memoria de referencia. Mientras que los animales lesionados excitotóxicamente presentan serias deficiencias en la tarea de memoria de referencia, la memoria de trabajo permanece inafectada.

EXPERIMENTO 2. Evaluación de las lesiones del hipocampo sobre la memoria de referencia y la memoria de trabajo.

Sujetos.

Se emplearon 66 ratas macho de la cepa de Wistar, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, con una edad aproximada de 4 meses y un peso promedio de 250 gramos al inicio del experimento. Fueron mantenidas en cajas individuales con alimentación y agua ad libitum en un ciclo de 12:12 hrs. luz-obscuridad.

Al igual que en el experimento 1, cada animal fue aleatoriamente asignado a uno de los siguientes grupos:

todos los ensayos, la memoria de trabajo es evaluada mediante la comparación del tiempo de llegada al blanco de los animales durante el primer y segundo ensayo de cada sesión. Una disminución en el tiempo de llegada sugiere que los animales fueron capaces de recordar el lugar donde habían localizado la plataforma durante el primer ensayo y emplearon esta información para localizarla en menor tiempo durante el segundo ensayo. Como muestran los resultados y como puede ser observado en las figs. 10 y 11, todos los animales tuvieron una ejecución similar durante el aprendizaje de esta tarea, independientemente del grupo al que pertenecieran. Los animales disminuyeron su tiempo de llegada a la plataforma durante el segundo ensayo de cada sesión, habiendo sido capaces, por tanto, de recordar la información relevante obtenida durante el primer ensayo para la localización de la plataforma durante el segundo ensayo.

Con base en estos resultados podemos afirmar que las lesiones en corteza insular tienen un efecto diferencial sobre las tareas de memorias de trabajo y memoria de referencia. Mientras que los animales lesionados excitotóxicamente presentan serias deficiencias en la tarea de memoria de referencia, la memoria de trabajo permanece inafectada.

EXPERIMENTO 2. Evaluación de las lesiones del hipocampo sobre la memoria de referencia y la memoria de trabajo.

Sujetos.

Se emplearon 66 ratas macho de la cepa de Wistar, obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular, con una edad aproximada de 4 meses y un peso promedio de 250 gramos al inicio del experimento. Fueron mantenidas en cajas individuales con alimentación y agua ad libitum en un ciclo de 12:12 hrs. luz-obscuridad.

Al igual que en el experimento 1, cada animal fue aleatoriamente asignado a uno de los siguientes grupos:

- a) Lesión excitotóxica (Lxhp, n=26)
- b) Lesión Fantasma (n=25)
- c) Control Intacto (n=20)

Procedimiento quirúrgico

Los procedimientos quirúrgicos tanto para las lesiones excitotóxicas como para las lesiones fantasmas, fueron idénticos a los descritos en el experimento 1, excepto que las microinyecciones se realizaron de acuerdo a las coordenadas correspondientes al hipocampo, con base en el atlas estereotáxico de Paxinos (1982):

Anteroposterior (AP): -3.4

Dorsoventral (DV): ± 2.0

Lateral (Lat): -2.7

Recuperación postoperatoria

Con el objeto de permitir la recuperación de los animales operados, se esperó un periodo de quince días a partir de la intervención quirúrgica para iniciar el entrenamiento. Una vez pasado el periodo postoperatorio, cada uno de los tres grupos fue aleatoriamente subdividido de modo tal que la mitad de los animales en cada grupo fue asignado a la tarea de memoria de referencia y la otra mitad a la tarea de memoria de trabajo, como puede observarse a continuación:

	Hipocampo		
	Lesión excitotóxica	Lesión Fantasma	Control Intacto
Memoria de Trabajo	13 sujetos	12 sujetos	5 sujetos
Memoria de Referencia	13 sujetos	13 sujetos	10 sujetos

Aparatos

En la realización del presente experimento se emplearon los mismos aparatos que en el experimento 1.

Procedimiento

1. Memoria de referencia

Este procedimiento fue exactamente igual al implementado en el experimento 1.

2. Memoria de trabajo

Fue idéntico al empleado en el experimento 1, excepto en que el tiempo máximo de nado de los animales para cada ensayo fue de 60 segundos.

Los procedimientos de perfusión, análisis histológico y análisis estadístico de los resultados, no difirieron de aquéllos descritos en el experimento 1.

RESULTADOS

Histología

En el caso de las lesiones hipocámpales, el daño se localizó principalmente en las células piramidales de CA1 (ver figura 12), en pocos casos se observó pérdida de células en la región de CA3, en su mayoría unilateralmente, pero en ningún caso se observó daño en la región del giro dentado.

Resultados conductuales

1. Memoria de referencia

El análisis de medidas repetidas muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas de la latencia de llegada a la plataforma en función del grupo, pero sí en función de los ensayos ($F_{9,18} = 27.25$, $p < 0.0001$). La interacción entre estas dos variables no resultó significativa.



Figura 12. Ejemplo de la lesión producida en el hipocampo. Nótese la pérdida de cuerpos celulares en la región CA1

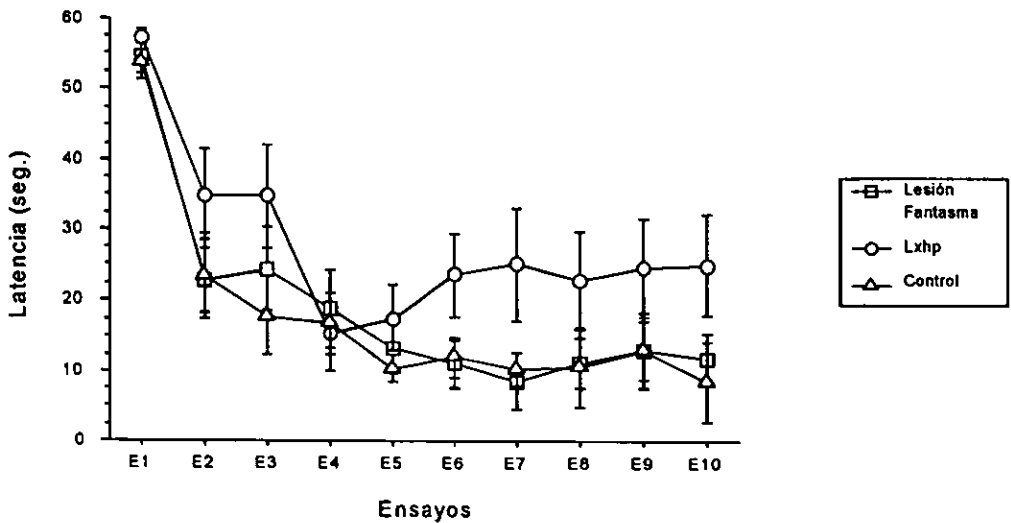


Figura 13. Se presenta la media \pm EEM de la latencia de llegada al blanco en función de los ensayos para cada uno de los grupos experimentales.

El análisis de medidas repetidas realizado para cada grupo experimental (control intacto, lesión fantasma y Lxhp) muestra que existe un efecto significativo en función de los

ensayos para el grupo control ($F_{9,9} = 15.33, p < .0001$), para el grupo de lesión fantasma ($F_{12,9} = 12.59, p < .0001$), y para el grupo Lxhp ($F_{12,9} = 6.18, p < .0001$). Como puede observarse en la figura 13, los animales en los tres grupos de disminuyeron su tiempo de llegada al blanco en función de los ensayos de una manera similar. El análisis factorial de una sola vía (grupo) realizado para cada uno de los 10 ensayos, muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos para ninguno de los ensayos.

El análisis de medidas repetidas para el número de cruces por cada uno de los cuadrantes, muestra que existen diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a grupo ($F_{2,33} p = .0059$) y de acuerdo a cuadrantes ($F_{3,6}, p < .0001$), siendo la interacción entre estas variables también significativa ($F_{3,99}, p = .0183$), esta interacción sugiere que el número de cruces en función del cuadrante varía de una manera distinta para cada grupo. Con el objeto de conocer la naturaleza de esta interacción, se llevó a cabo un análisis de medidas repetidas para cada grupo, el cual indicó que el número de cruces varió significativamente en función del cuadrante en el caso del grupo control fantasma ($F_{12,3} = 6, p = .0020$), del grupo control intacto ($F_{9,3} = 17.58, p < .0001$) pero no en el caso del grupo lesionado, el que sin embargo presenta una tendencia importante hacia la significancia ($F_{12,3} = 2.52, p = .0732$).

Para conocer de donde provienen las variaciones significativas en el número de cruces, se realizó un análisis de medidas repetidas para cada grupo en función de los cuadrantes, excluyendo el cuadrante correspondiente a la localización de la plataforma de escape (blanco) Los resultados de este análisis muestran que bajo estas circunstancias, no existen diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los grupos, indicando que las diferencias obtenidas en el análisis previo provinieron del cuadrante correspondiente a la localización de la plataforma. En concordancia con estos resultados, puede observarse en la figura 14 que durante la prueba tanto los animales en el grupo control intacto como aquellos en el grupo lesión fantasma tienen un mayor número de cruces en el cuadrante correspondiente a la localización de la plataforma durante el entrenamiento. Mientras que

esta diferencia no es obvia en el caso de los animales lesionado excitotóxicamente, es importante notar que existe para este grupo existe una tendencia hacia la significancia en el análisis de medidas repetidas en función de todos los cuadrantes y que el patrón de los datos es similar, siempre que se observa un mayor número de cruces por el cuadrante correspondiente a la plataforma (ver figura 14).

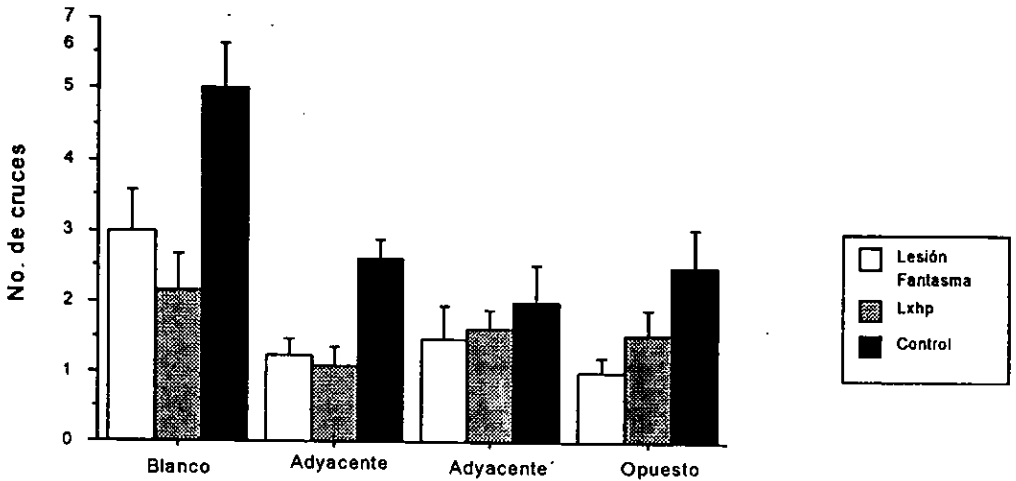


Figura 14. Se presenta la media \pm EEM del número de cruces por la localización correspondiente a la plataforma en función de los diversos cuadrantes.

2. Memoria de trabajo.

El análisis de medidas repetidas muestra que no existen diferencias significativas de acuerdo a grupo, pero si de acuerdo a ensayos ($F_{1,2} = p = .0011$). La interacción entre ambas variables fue significativa ($F_{1,27} = 6.70, p = .0043$), lo que sugiere que la latencia de llegada al blanco en función de los ensayos, varió de una manera diferente de acuerdo a los grupos.

De acuerdo al análisis de varianza de medidas repetidas realizado para cada uno de los grupos, se obtuvieron los siguientes resultados (ver figs 15 y 16) :

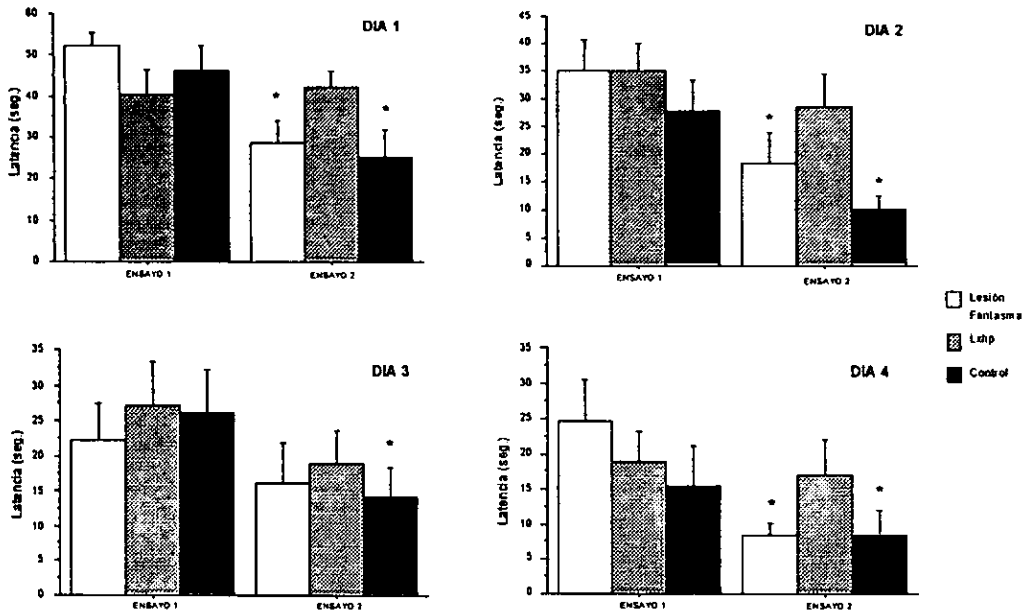


Figura 15. Se presenta la media \pm EEM de las latencias de llegada al blanco en función de los dos ensayos de cada día. La significancia (*) se señala para cada grupo con respecto a sí mismo, tomando como línea base la latencia media en el primer ensayo de cada sesión.

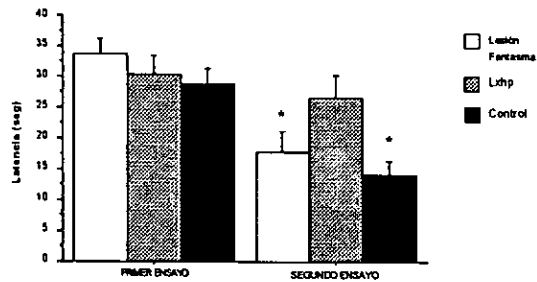


Figura 16. Se presenta la media \pm EEM de las latencias de todos los ensayos no.1 y todos los ensayos no.2. La significancia (*) se señala para cada grupo con respecto a sí mismo, tomando como línea base la media de las latencias de todos los ensayos no. 1

Para el grupo control intacto, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la latencia de llegada al blanco para los dos ensayos del día uno ($F_{4,1}=12.5$, $p=.0241$), del día dos ($F_{4,1}=10.04$, $p=.0339$), del día tres ($F_{4,1}=11.9$, $p=.0261$), y entre las medias correspondientes al total de ensayos 1 y la medias correspondientes al total de ensayos 2 ($F_{4,1}=21.9$, $p=.0094$).

Para el grupo lesión fantasma, se obtuvieron diferencias significativas entre los dos ensayos del día uno ($F_{11,1}=24.98$, $p=.0004$), del día dos ($F_{11,1}=6.2$, $p=.0301$), del día cuatro ($F_{11,1}=7.25$, $p=.0210$) y entre las medias del total de ensayos 1 contra el total de las medias de ensayos 2 ($F_{11,1}=24.24$, $p=.0005$).

En el caso del grupo lesionado excitotóxicamente, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos ensayos de ninguno de los días, ni entre las medias correspondientes al total de ensayos 1 contra las medias del total de ensayos 2.

DISCUSION

Los resultados de memoria de referencia (ver figura 15) muestran que los animales en todos los grupos disminuyen su tiempo de llegada a la plataforma en función de los ensayos lo cual es interpretado como que los animales aprendieron la tarea. No se observan deficiencias significativas en el grupo lesionado excitotóxicamente en el hipocampo. Aunque en la figura 15 puede observarse una latencia incrementada en los últimos ensayos para el grupo lesionado con respecto a los dos grupos restantes, esta diferencia en latencia no es estadísticamente significativa por lo cual resulta difícil de interpretar. Sin embargo, es posible que exista una ligera deficiencia de los animales lesionados en la ejecución de la tarea de memoria de referencia. Esta será comentada mas ampliamente en la discusión general. Como señalan los resultados del análisis de medidas repetidas para el número de cruces por la localización correspondiente a la plataforma en función de los cuadrantes, tanto los animales del grupo control intacto como los del grupo lesión fantasma tienen un mayor número de cruces por la plataforma en el cuadrante empleado durante el

entrenamiento relativo al número de cruces por el resto de los cuadrantes, esto indica que los animales en estos grupos, recordaban el lugar en que la plataforma se encontró durante el entrenamiento y la buscaron ahí con mayor persistencia durante la prueba en ausencia de la plataforma (ver figura 14). En el caso de los animales en el grupo lesionado excitotóxicamente, no se encontraron diferencias significativas en función de los cuadrantes, lo que puede ser interpretado como un indicador de que los animales no recordaban el lugar de ubicación de la plataforma. Sin embargo, es importante puntualizar que se encontró una tendencia a la significancia ($F_{12,3} = 2.52, p = .0732$). Nótese también en la figura 14 que el patrón general de los datos es muy similar al obtenido del grupo control intacto y lesión fantasma, con tendencia a un mayor número de cruces en el cuadrante correspondiente a la ubicación de la plataforma durante el entrenamiento, y sin diferencias significativas en el resto de los cuadrantes. Sin embargo, es posible también que la falta de significancia denote una ligera deficiencia de los animales lesionados en la ejecución de la tarea de memoria de referencia. Esta posible deficiencia será discutida mas ampliamente en la discusión general.

Con respecto a memoria de trabajo, como puede observarse en las figs. 15 y 16, tanto los animales en el grupo control intacto como aquéllos en el grupo de lesión fantasma disminuyeron su latencia de llegada a la plataforma durante el segundo ensayo de cada sesión. De acuerdo al procedimiento de memoria de trabajo empleado en este experimento, una disminución en el tiempo que toma al animal encontrar la plataforma de escape en el segundo ensayo relativo al tiempo empleado durante el primer ensayo se considera un índice de que los animales recordaron la localización de la plataforma durante el primer ensayo y emplearon esta información para encontrarla mas eficientemente (i.e. en un menor tiempo) durante el segundo ensayo. De esta forma, los resultados implican que tanto los animales intactos como los pertenecientes al grupo de lesión fantasma, resolvieron la tarea de una manera eficiente mediante el uso de información concerniente a memoria de trabajo. Los animales lesionados en el hipocampo, en cambio, no presentan una disminución significativa entre los dos ensayos de ningún día, indicando que no fueron capaces de

aprender esta tarea, lo que evidencia deficiencias en memoria de trabajo para los animales en este grupo.

Se observa de este modo, con base en los resultados de este experimento, que existe un efecto diferencial de las lesiones del hipocampo sobre la ejecución de tareas de memoria de referencia y memoria de trabajo. Mientras que las lesiones hipocampales tienen un severo efecto sobre la tarea empleada para medir memoria de trabajo, este efecto es mucho menos importante en el caso de memoria de referencia, como puede observarse en la curva de aprendizaje obtenida para el grupo de animales lesionados en función de los ensayos, la cual no difiere significativamente de la encontrada para los dos grupos restantes. Es importante notar, sin embargo, que los animales lesionados tienen latencias ligeramente mayores en los ensayos 6 al 10 durante la fase de entrenamiento en memoria de referencia – pero no estadísticamente significativas- de llegada al blanco, comparadas con las presentadas en el grupo control intacto y el grupo de lesión fantasma (ver figura 13). Del mismo modo, durante la prueba de memoria de referencia, los animales lesionados no presentan un mayor número de cruces por el cuadrante correspondiente a localización de la plataforma durante el entrenamiento. Estos resultados sugieren que de hecho podría existir una ligera deficiencia en memoria de referencia como consecuencia de las lesiones hipocampales.

DISCUSION GENERAL

La tarea conductual empleada en el presente estudio -el laberinto de agua- , evalúa la memoria no de una forma directa, sino indirectamente, ya que se asume que el aprendizaje de estas tareas requiere de el almacenamiento de información de cierto tipo. Siendo las demandas mnémicas de las dos tareas diferentes, la implementación de los dos procedimientos empleados en el laberinto de agua nos permite evaluar dos tipos de memoria de una manera diferencial.

aprender esta tarea, lo que evidencia deficiencias en memoria de trabajo para los animales en este grupo.

Se observa de este modo, con base en los resultados de este experimento, que existe un efecto diferencial de las lesiones del hipocampo sobre la ejecución de tareas de memoria de referencia y memoria de trabajo. Mientras que las lesiones hipocampales tienen un severo efecto sobre la tarea empleada para medir memoria de trabajo, este efecto es mucho menos importante en el caso de memoria de referencia, como puede observarse en la curva de aprendizaje obtenida para el grupo de animales lesionados en función de los ensayos, la cual no difiere significativamente de la encontrada para los dos grupos restantes. Es importante notar, sin embargo, que los animales lesionados tienen latencias ligeramente mayores en los ensayos 6 al 10 durante la fase de entrenamiento en memoria de referencia – pero no estadísticamente significativas- de llegada al blanco, comparadas con las presentadas en el grupo control intacto y el grupo de lesión fantasma (ver figura 13). Del mismo modo, durante la prueba de memoria de referencia, los animales lesionados no presentan un mayor número de cruces por el cuadrante correspondiente a localización de la plataforma durante el entrenamiento. Estos resultados sugieren que de hecho podría existir una ligera deficiencia en memoria de referencia como consecuencia de las lesiones hipocampales.

DISCUSION GENERAL

La tarea conductual empleada en el presente estudio -el laberinto de agua- , evalúa la memoria no de una forma directa, sino indirectamente, ya que se asume que el aprendizaje de estas tareas requiere de el almacenamiento de información de cierto tipo. Siendo las demandas mnémicas de las dos tareas diferentes, la implementación de los dos procedimientos empleados en el laberinto de agua nos permite evaluar dos tipos de memoria de una manera diferencial.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren fuertemente la existencia de una participación diferencial de la corteza insular y el hipocampo en la memoria. Mientras que las lesiones en corteza insular produjeron severas deficiencias en el manejo de información concerniente a memoria de referencia, la memoria de trabajo no se vió afectada por este tipo de lesiones. Al mismo tiempo, las lesiones hipocampales produjeron deficiencias importantes en memoria de trabajo, no así en la memoria de referencia. Esto nos permite en principio establecer la existencia de una doble disociación en términos de la participación de estructuras neurales en la memoria de referencia y la memoria de trabajo.

En cuanto a la participación preferencial del hipocampo en la memoria de trabajo, los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con aquellos reportados por Olton (1979) y constituyen un argumento adicional en favor de la participación del hipocampo en este tipo de memoria.

Los animales en el presente estudio fueron lesionados en una región particular del hipocampo: Ca1, tras lo cual presentaron deficiencias severas en memoria de trabajo. Estos resultados coinciden con evidencias previas en favor de la participación preferencial de Ca1 (en contraste con otras regiones del hipocampo) en este tipo de memoria. Una de las evidencias altamente sugestiva de la importancia de esta región en la memoria de trabajo, proviene de los datos clínicos reportados por Zola-Morgan y Squire en relación al caso del paciente R.B. Recordemos que este paciente presentó daño isquémico circunscrito a Ca1. Aunque la memoria de trabajo no se evalúa de una manera explícita en este paciente, se ha reportado que R.B. presenta deficiencias en la ejecución de tareas como la igualación a la muestra (Zola-Morgan, Squire y Amaral, 1986), la cual requiere de memoria de trabajo para una ejecución adecuada.

Siguiendo por la misma línea, Friedman y Goldman-Rakic (1988) encontraron incrementos en el nivel de utilización de glucosa en tres regiones del hipocampo durante la ejecución de tareas de memoria de trabajo en primates no humanos, comparado con el nivel

de utilización de glucosa durante la ejecución de tareas que no involucran este tipo de memoria. De acuerdo a este estudio, dicho incremento es observable pero no significativo en la región Ca3 del hipocampo, mientras que tanto en el giro dentado como en Ca1 este incremento resulta altamente significativo, lo que sugiere que comparado con Ca3, Ca1 tiene una participación preferencial en la memoria de trabajo.

Mas evidencias al respecto fueron proporcionadas con Watabe y Niki (1985). Estos autores demostraron una correlación entre la actividad de un gran grupo de células hipocampales y el intervalo entre ensayos (o entre presentación de los estímulos) durante una tarea de memoria de trabajo ejecutada por primates no humanos, encontrándose la mayor parte de dichas células en la región Ca1 del hipocampo. Más recientemente, Nelson et al (1997) encontraron que deficiencias en una tarea de memoria de trabajo en el laberinto de agua, estaban correlacionadas fuertemente con la extensión del daño o pérdida neuronal en la región Ca1, correlación que es mucho mas remarcable para dicha región que para Ca3.

La observación durante el presente estudio de que las lesiones de la región CA1 del hipocampo ocasionan deficiencias significativas en la memoria de trabajo, sugieren junto con la evidencia previa, que esta región participa de una manera importante en este tipo de memoria. Aunque el presente estudio no pretende evaluar diferencialmente la participación de cada región del hipocampo en distintos tipos de memoria, sí aporta datos importantes al respecto a la vez que ilustra la importancia de que futuras investigaciones sean dirigidas a la exploración de esta cuestión.

En el caso de la corteza insular, los resultados del presente trabajo constituyen una fuerte evidencia en favor de la participación de esta estructura en la memoria de referencia. Estos resultados coinciden con el argumento propuesto por algunos autores (e.g. Squire, 1992; Eccles, 1983) de que mientras el hipocampo participa en el procesamiento de información mnémica que es importante solo de una manera transitoria, la información estable se "aloja" en alguna región de la neocorteza. Estos resultados coinciden también con

la propuesta mas específica de Kesner (1985), en cuanto a que la neocorteza se encuentra participando en la memoria de referencia. Aunque las regiones neocorticales evaluadas por Kesner difirieron de la evaluada en este estudio, el encontrar una estructura cortical altamente importante para la memoria de referencia en contraste con una estructura de la arquicorteza importante para la memoria de trabajo, nos permite circunscribir la búsqueda de las regiones importantes para la memoria de referencia a la neocorteza. Estos resultados entonces, nos dan la pauta para explorar la manera en que regiones neocorticales pudieran estar participando en este tipo de memoria.

El hallazgo de esta doble disociación en términos de estructuras neurales nos permite realizar ciertas inferencias sobre la manera en que se está procesando la información mnémica en la adquisición de estas tareas. Primero que nada, el hecho de que estructuras neurales participen diferencialmente fortalece el argumento mismo de la existencia de dos tipos de memoria pues constituye un sustrato fisiológico que sustenta la posibilidad, en términos funcionales, de que la información se esta procesando de manera diferente de acuerdo a sus características.

Podemos ademas elucubrar sobre si la información mnémica se está procesando de una manera serial o paralela, es decir si ambos sistemas mnémicos interactúan entre sí o si en cambio actúan de manera independiente. Si ambos sistemas están actuando independientemente, esperaríamos que alteraciones en un sistema dejaran intacto el otro. En concordancia con esto, observamos que lesiones corticales afectan exclusivamente la memoria de referencia, mientras que la memoria de trabajo permanece intacta, lo que nos hace suponer la independendencia de ambos sistemas.

El caso de las lesiones hipocampales difiere un poco en este respecto Los resultados de memoria de referencia para los animales lesionados en el hipocampo una deficiencia severa en la memoria de trabajo, a la vez que sugieren una ligera deficiencia en memoria de referencia. Si bien la media de las latencias de llegada al blanco durante la adquisición de la

tarea de memoria de referencia fue comparable entre el grupo lesionado y los grupos controles (intacto y lesión fantasma), sin diferencias estadísticamente significativas entre ellas, puede pensarse en una ligera deficiencia de los animales lesionados con base en el hecho de que durante la prueba en ausencia de la plataforma de escape, los animales con lesiones hipocampales no presentaron diferencias estadísticamente significativas en el número de cruces en función de los cuadrantes, en contraste con los grupos controles, quienes sistemáticamente buscaron la plataforma en el cuadrante blanco, sugiriendo que recordaban la localización donde habían encontrado la plataforma y que esta información, almacenada durante los ensayos de entrenamiento, les permitió localizarla de una manera más rápida y eficiente en cada ensayo con respecto al ensayo previo. Es importante aclarar, sin embargo, que aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de cruces por cada cuadrante en el caso del grupo de animales lesionados excitotóxicamente, si se encontró una tendencia hacia la significancia ($F_{12,3} p=.0732$) y el patrón de datos es muy similar al encontrado en los grupos control intacto y lesión fantasma, presentando un mayor número de cruces por el cuadrante correspondiente a la localización de la plataforma durante el entrenamiento (ver figura 14), lo cual sugiere que los animales lesionados podrían, de hecho, estar recordando la información referente a la localización de la plataforma.

Estas ligeras repercusiones en la memoria de referencia como producto de lesiones hipocampales podrían implicar que las alteraciones en memoria de trabajo repercuten de alguna u otra forma en la memoria de referencia pero no viceversa. Pudiera ser que la memoria de trabajo es en cierta forma necesaria también para el procesamiento de la memoria de referencia y por tanto, los animales con déficits en la primera tienen también problemas en la segunda.

Los datos al respecto de un procesamiento serial o paralelo de la información concerniente a memoria de trabajo y memoria de referencia con base en los efectos selectivos o bien, aditivos de lesiones discretas a estructuras cerebrales, resultan poco

consistentes. Por una lado, la observación de moderadas deficiencias en la memoria de referencia como consecuencia de lesiones hipocampales, no resulta del todo sorprendidas: Olton (1979) encontró deficiencias transitorias en memoria de referencia durante una tarea de laberinto radial en animales con lesiones hipocampales. En ese experimento, los animales presentaron errores tanto de memoria de referencia como de memoria de trabajo en su ejecución postoperatoria, sin embargo, a lo largo del entrenamiento los errores de memoria de referencia fueron disminuyendo hasta desaparecer por completo. Los errores de memoria de trabajo, sin embargo, persistieron a lo largo del entrenamiento. Dados estos resultados, Olton argumenta que mientras que las lesiones hipocampales producen una deficiencia severa y permanente en memoria de trabajo, la memoria de referencia es afectada solo de una manera transitoria.

De este modo, podría suponerse que la deficiencia en memoria de referencia presentada por los animales lesionados en el hipocampo en el presente estudio podría deberse a una alteración transitoria de dicho tipo de memoria. El diseño empleado aquí, sin embargo, no nos permite discernir sobre si el observado es un déficit transitorio o permanente. Futuras investigaciones serán requeridas con el objeto de evaluar la permanencia de dicho déficit. Lo que si resulta evidente es que el déficit no es tan severo como aquél encontrado por ejemplo, en los animales con lesiones en la corteza insular.

Por otro lado, Kesner and DiMattia (1987) encontraron asimismo deficiencias transitorias en memoria de trabajo en preparaciones que producen deficiencias permanentes en memoria de referencia. Recordemos que en su experimento reportado en 1987, las lesiones en corteza medial prefrontal produjeron un mayor número de errores de memoria de trabajo que desaparecieron a lo largo del entrenamiento, mientras que los errores de memoria de referencia nunca desaparecieron. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el presente experimento, ya que mientras que las lesiones que produjeron déficits en memoria de trabajo causaron además un ligero déficit para memoria de referencia, esto no

es verdad en el caso contrario, dado que los animales afectados en memoria de referencia (i.e. lesionados en la corteza insular) no presentaron deficiencias en memoria de trabajo.

Los animales lesionados por Kesner en corteza frontal, sin embargo, presentaron deficiencias exclusivamente en memoria de referencia, sin afectar en absoluto la memoria de trabajo, estos resultados conductuales son similares a los obtenidos en el presente estudio como consecuencia de las lesiones en la corteza insular. Podemos entonces notar, que con base en los presentes resultados, así como en resultados previos, resulta difícil establecer la manera en que ambos sistemas de memoria se encuentran actuando, lo que evidencia la necesidad de continuar explorando experimentalmente si ambos sistemas se encuentran actuando de una manera serial o paralela.

Recordemos también que toda tarea de memoria de trabajo requiere para su ejecución o aprendizaje del manejo de información concerniente a memoria de referencia. En el caso del laberinto de agua, si bien es relevante para el animal recordar el lugar de ubicación de la plataforma durante el ensayo previo de cada sesión, información que varía de momento a momento y por lo tanto concierne a memoria de trabajo, el animal también requiere recordar elementos o características de la tarea que permanecen constantes a lo largo de la misma. De este modo, el conocimiento sobre la existencia de una plataforma, el saber que ésta constituye un medio de escape, son aspectos pertenecientes a la memoria de referencia que sin embargo son inseparables de la medición de memoria de trabajo ya que son sumamente relevantes para la ejecución adecuada de la tarea. Aún teniendo una memoria de trabajo intacta, si el animal tuviera un déficit tan profundo de memoria de referencia que no le permitiera recordar la posibilidad de escape mediante la localización de la plataforma, no habría forma de llegar a una solución exitosa del problema al que se enfrenta el animal al ser colocado en el laberinto de agua. Ello nos enfrenta a lo siguiente: Si toda tarea de memoria de trabajo posee componentes de memoria de referencia, podríamos esperar que los animales con déficits de memoria de referencia presentaran asimismo un ligero déficit en memoria de trabajo reflejando aquéllos componentes de la

tarea que forman parte de memoria de referencia. Sin embargo, notemos que nuestros animales lesionados en la corteza insular, a pesar de sus deficiencias en memoria de referencia, no presentan deficiencias en memoria de trabajo. Eso podría indicar que las demandas de memoria de referencia que forman parte del procedimiento de memoria de trabajo no son tan altas como las requeridas por el procedimiento de memoria de referencia y por lo tanto no influyen sobremanera en la ejecución del animal. Por otro lado, no se espera lo opuesto: que la tarea de memoria de referencia cuente con componentes de memoria de trabajo que pudieran justificar una deficiencia en el procedimiento de la primera como reflejo de problemas de memoria de trabajo. Las posibles (ligeras) deficiencias en memoria de referencia para los animales lesionados en hipocampo podrían entonces estar reflejando un déficit legítimo, sugiriendo la posibilidad de una relativa dependencia de la memoria de referencia en la memoria de trabajo, pero no viceversa.

CONCLUSION

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, es posible que existe una participación diferencial del hipocampo y la corteza insular en la memoria de trabajo y la memoria de referencia en el laberinto de agua de Morris. Mientras que la corteza insular es necesaria únicamente para la memoria de referencia, el hipocampo participa preferencialmente en el procesamiento de información concerniente a memoria de trabajo. Aunque los datos sugieren ligeros efectos en memoria de referencia tras lesiones hipocampales, estos efectos no son en su totalidad significativos por lo cual no aportan datos interpretables al respecto. Dado que las lesiones fueron realizadas en la región CA1 del hipocampo, dejando el resto de esta estructura intacta, nuestros datos apoyan previos hallazgos en relación a la participación de esta estructura en la memoria de trabajo de una manera preferencial. Nuestros datos no nos permiten en cambio, determinar la manera en que el resto del hipocampo participan en la memoria de trabajo. La coincidencia de los datos con previos reportes muestra la importancia de continuar explorando la participación de la región CA1 del hipocampo en la memoria de trabajo, así como de evaluar la posible participación del resto del hipocampo en la memoria.

tarea que forman parte de memoria de referencia. Sin embargo, notemos que nuestros animales lesionados en la corteza insular, a pesar de sus deficiencias en memoria de referencia, no presentan deficiencias en memoria de trabajo. Eso podría indicar que las demandas de memoria de referencia que forman parte del procedimiento de memoria de trabajo no son tan altas como las requeridas por el procedimiento de memoria de referencia y por lo tanto no influyen sobremanera en la ejecución del animal. Por otro lado, no se espera lo opuesto: que la tarea de memoria de referencia cuente con componentes de memoria de trabajo que pudieran justificar una deficiencia en el procedimiento de la primera como reflejo de problemas de memoria de trabajo. Las posibles (ligeras) deficiencias en memoria de referencia para los animales lesionados en hipocampo podrían entonces estar reflejando un déficit legítimo, sugiriendo la posibilidad de una relativa dependencia de la memoria de referencia en la memoria de trabajo, pero no viceversa.

CONCLUSION

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, es posible que existe una participación diferencial del hipocampo y la corteza insular en la memoria de trabajo y la memoria de referencia en el laberinto de agua de Morris. Mientras que la corteza insular es necesaria únicamente para la memoria de referencia, el hipocampo participa preferencialmente en el procesamiento de información concerniente a memoria de trabajo. Aunque los datos sugieren ligeros efectos en memoria de referencia tras lesiones hipocampales, estos efectos no son en su totalidad significativos por lo cual no aportan datos interpretables al respecto. Dado que las lesiones fueron realizadas en la región CA1 del hipocampo, dejando el resto de esta estructura intacta, nuestros datos apoyan previos hallazgos en relación a la participación de esta estructura en la memoria de trabajo de una manera preferencial. Nuestros datos no nos permiten en cambio, determinar la manera en que el resto del hipocampo participan en la memoria de trabajo. La coincidencia de los datos con previos reportes muestra la importancia de continuar explorando la participación de la región CA1 del hipocampo en la memoria de trabajo, así como de evaluar la posible participación del resto del hipocampo en la memoria.

Futuras investigaciones deberán ser dirigidas a la evaluación más específica de la participación neocortical en general, y de la corteza insular en particular, en la memoria de referencia, con el objeto de evaluar que parte de dichas regiones cerebrales es más relevante para este proceso, así como posibles interacciones entre diversas regiones de la neocorteza. Si bien tanto en el caso de la corteza como el de la región CA1 del hipocampo, podemos saber —con base en los resultados obtenidos en el presente estudio— que dichas estructuras son necesarias para el procesamiento de información de memoria de referencia y trabajo respectivamente, los datos no nos permiten evaluar si estas estructuras son suficientes, por lo que resultará interesante en el futuro, evaluar la posible participación de otras estructuras tanto corticales como subcorticales en dichos procesos, así como sus probables interacciones en el manejo de la información mnémica.

REFERENCIAS

Amaral, D. and Witter, M. (1995). "Hippocampal Formation", en Paxinos, G. (ed.), *The rat Nervous System*. Academic: Australia

Anderson, J. R. (1995). Perspectives on Learning and Memory. In J.R. Anderson. *Learning and Memory (Eds)*, 4-5.

Atkinson, R. C., & Shiffrin, R. M. (1968). Human Memory: A proposed system and its control processes. In K.W. Spence & J.T. Spence (Eds). *The psychology of Learning and Motivation*, (vol 2). New York: Academic Press.

Ben-Ari, Y. and Represa, A. (1990). "Brief seizure episodes induce long-term potentiation and mossy fiber sprouting in the hippocampus". *Trends in Neuroscience.*, 13 (8): 312-318.

Futuras investigaciones deberán ser dirigidas a la evaluación más específica de la participación neocortical en general, y de la corteza insular en particular, en la memoria de referencia, con el objeto de evaluar que parte de dichas regiones cerebrales es más relevante para este proceso, así como posibles interacciones entre diversas regiones de la neocorteza. Si bien tanto en el caso de la corteza como el de la región CA1 del hipocampo, podemos saber –con base en los resultados obtenidos en el presente estudio- que dichas estructuras son necesarias para el procesamiento de información de memoria de referencia y trabajo respectivamente, los datos no nos permiten evaluar si estas estructuras son suficientes, por lo que resultará interesante en el futuro, evaluar la posible participación de otras estructuras tanto corticales como subcorticales en dichos procesos, así como sus probables interacciones en el manejo de la información mnémica.

REFERENCIAS

- Amaral, D. and Witter, M. (1995). "Hippocampal Formation", en Paxinos, G. (ed.), *The rat Nervous System*. Academic: Australia
- Anderson, J. R. (1995). Perspectives on Learning and Memory. In J.R. Anderson. *Learning and Memory (Eds)*, 4-5.
- Atkinson, R. C., & Shiffrin, R. M. (1968). Human Memory: A proposed system and its control processes. In K.W. Spence & J.T. Spence (Eds). *The psychology of Learning and Motivation*, (vol 2). New York: Academic Press.
- Ben-Ari, Y. and Represa, A. (1990). "Brief seizure episodes induce long-term potentiation and mossy fiber sprouting in the hippocampus". *Trends in Neuroscience.*, 13 (8): 312-318.

Baddeley, A. D., & Hitch, G. J. (1974). Working Memory. In G. W. Bower (Ed) *Recent Advances in Learning and Motivation*. New York: Academic Press Vol. 8.

Bermúdez-Rattoni, F., Intorini-Collison, I. B., & McGaugh, J. L. (1991). Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proceedings of the National Academy of Science, USA.*, 88, 5379-5382.

Bliss, T.V.P and Lomo, T. (1973). Long lasting potentiation in the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, 331-356.

Bower, G.H. and Springton, F. (1970). Pauses as recoding points in letter series. *Journal of Experimental Psychology*, 83, 421-430.

Brailowsky, S y Piña, A. (1991). La plasticidad cerebral. La recuperación funcional después de lesiones cerebrales. *Ciencia*, 42, 355-366

Braun, J. J., Lasiter, P. S., & Kiefer, S. W. (1982). The gustatory neocortex of the rat. *Physiological psychology*, 10, 13-45.

Buresova, O., & Bures, J. (1985). Unilateral and bilateral cortical spreading depression interferes with radial maze performance in rats. *Brain Research*, 334, 365-368.

Darwin, C. J., Turvey, M. T., & Crowder, R. G. (1972). The auditory analogue of the Sperling partial report procedure: Evidence for brief auditory storage. *Cognitive Psychology*, 3, 255-267.

Davis, S., Butcher, S.P & Morris, R.G. (1992). The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at

intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *Journal of Neuroscience*, 12 (1): 21-34

Eccles, J.C. In Seifert, W. (Ed) *The Neurobiology of the hippocampus*. Academic Press Inc. (London) , 1983.

Glenberg, A. M., Smith, S. M., & Green, C. (1977). Type I Rehearsal: Maintenance and more. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*, 16, 339-352.

Honig, W. K. (1978). Studies of working in the pigeon. *In cognitive aspects of animal behavior*. S. H. Hulse, W.K. Honig and H. Fowler (Eds) p211-248. Laurence Erlbaum Associates, Hillsdale. .

Friedman, H. and Goldman-Rakic, P.S. (1988). Activation of the Hippocampus and Dentate Gyrus by Working-Memory: A 2-Deoxyglucose Study of Behaving Rhesus Monkeys. *Journal of Neuroscience*, 8 (12), 4693-4706.

Jarrard, L. E. (1975). Role of interference in retention by rats with hippocampal lesions. *Journal of Comparative Physiology*, 89, 400-408.

Kintsch, W and Buschke, H. (1969). Homophones and synonyms in short term memory. *Journal of Experimental Psychology*, 80, 403-407.

Kesner, R. P., DiMattia, B. V., & Crutcher, K. A. (1987). Evidence for Neocortical involvement in Reference Memory. *Behavioral and Neural Biology*, 47, 40-53.

Kiefer, S. W. (1985). Neural Mediation of Conditioning Food Aversions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 443, 100-109.

Krushel L.A & Van der Kooy, D. (1988). Visceral Cortex: integration of the mucosal senses with limbic information in the rat agranular insular cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 270 39-54.

Miller, G. A. (1956). The magical number seven plus or minus two: Some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review*, 63, 81-97.

Murray, N., Bates, A., & Barnett, T. (1965). Experiments on the four-eared man. *Journal of the acoustical society of America*, 38, 196-201.

Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the Presence of Local Cues. *Learning and Motivation*, 12, 239-260.

Morris, R. G. M., Garrud, P., Rawlins, J. N. P., & O'Keefe, J. (1982). Place Navigation impaired in ratas with Hippocampal lesions. *Nature*, 297, 681-683.

Neisser, U. (1967). *Cognitive Psychology*. New York Appleton.

Nelson, A., Lebessi, A., Sowinski, P. & Hodges, H.(1997). Comparison of effects of global cerebral ischaemia on spatial learning in the standard and radial water maze: relationships of hippocampal damage to performance. *Behavioural Brain Research*, 85, 93-115

Norgren, R. (1984). Central Neural Mechanisms of taste. *In I. Darian-Smith (Ed) Handbook of physiology, the nervous system, sensory processes III* (p.p. 1087-1128). Bethesda, MD: American Physiological Society.

O'Keefe, J. & Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. Clarendon Press, Oxford.

Olton, D. S., & Papas, B. C. (1979). Spatial Memory and Hippocampal Function. *Neuropsychologia*, 17, 669-682.

Olton, D. S., & Samuelson, R. J. (1976). Remembrance of places passed: spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 2, 97-116.

Ormsby, C. E., Ramírez-Amaya, V., & Bermúdez-Rattoni, F. (1998). Long Term Memory Retrieval Deficits of Learned Taste Aversion are ameliorated by Cortical Fetal Brain Implants. *Behavioral Neuroscience*, 112, 172-182.

Ormsby, C.E., Piña, A.L., Ramírez-Amaya, V. & Bermúdez-Rattoni, F. (1993). Differential effects of insular cortex and dorsal striatum lesions in a place conditioning task. *Society for Neuroscience Abstracts*, 19, p.1229

Paxinos, G and Watson, C. (1982) The rat brain in stereotaxic coordinates. *Academic Press*.

Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., Colombo, P. J., Lee, D. W., & Serrano, P. A. (1993). Short term, intermediate term, and long term memories. *Behavioral Brain Research*, 57, 193-198.

Scoville, W. B., & Millner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurol. and Neurosurg. Psychiatric*, 20, 11-21.

Shallice, T. (1972). Dual Functions of Consciousness. *Psychological Review*, 79, 383-393.

Sperling, G. A. (1960). The information available in brief visual presentation. *Psychological monographs*, 74.

Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A sintesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychological Review*, 99, 195-231.

Squire, L. R., Amaral, D. G., & Press, G. A. (1990). Magnetic resonance measurements of hippocampal formation and mammillary nuclei distinguish medial temporal lobe end diencephalic amnesia. *Journal of Neuroscience*, 10, 3106-3117.

Watanabe, T. and Niki, H. (1985) Hippocampal unit activity and delayed response in the monkey. *Brain Research*, 325, 241-254

Van-der-Kooy, D. L., Koda, L. Y., McGinty, C. R., Gerfen, C. R., & Bloom, F. E. (1984). The organization of projections from the cortex, amygdala and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract in rat. *J. Comp. Neurol*, 224, 1-24.

Zola-Morgan, S., Squire, L.R., & Amaral, D.G (1986). Human amnesia and the medial temporal region: Enduring memory impariment following a bilateral lesion limited to field Ca1 of the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 6, 2950-2967.