

103



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

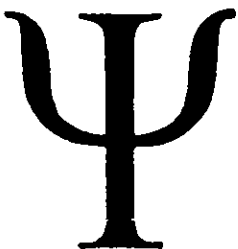
---

FACULTAD DE PSICOLOGIA

PAPEL DE LA VIA COLINERGIA SEPTO-  
HIPOCAMPAL EN EL CONDICIONAMIENTO  
AVERSIVO AL OLOR.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
LICENCIADO EN PSICOLOGIA  
P R E S E N T A :  
RICARDO SILVA GANDARIAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI



MEXICO, D. F.

2000

277813



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

*To NeSa and Simba*

*The light of my life...*

*I love you guys*

Dedico este trabajo con todo mi cariño y más entero agradecimiento a mis Padres, hermanos y sobrinos, como una manera de mostrar mi agradecimiento por darme su apoyo en todo momento.

A mi Mami (Virginia Gandarias Solís), la mujer más fuerte en este mundo, gracias por acompañarme en momentos difíciles.

A mi Pa (José Luis Silva Alcántara), gracias por estar conmigo y cuidar de mí además de respetar y apoyar mi decisión.

A mi Manolo (Pepe), por que no existen palabras suficientes para decirte cuánto le agradezco a la vida el tenerte como hermano y como padre.

A Vivi, por que aún tengo esperanzas de que algún día todo esté bien.

A mi Chaparro (Héctor) por permitirme vivir tus pasos, por hacerme sentir muy orgulloso de ti.

A Pavel gracias por tu linda sonrisa.

To my Dad, love, I thank you for love me like the way you do, for turn my world in a beautiful place, for share with me the deepest honesty and for all that we will live together. Thank you for everything, I really love you.

A mis otros tres hermanos Nando, Rodri y Ricardo, por ser bien chicos, gracias por aguantar mis misterias y por ser mis cuates.

A dos grandes profesores que la vida me dio la fortuna de conocerlos, José Jesús Manuel Granados Magdaleno y Margarito Álvarez Rubio, gracias por su apoyo.

A los compañeros del laboratorio e Instituto Maribel, Gustavo, Ranier, Vincent, Martina, Oreste, Yola y Lino, muy especialmente a Lety, Enrique, Humberto, Zania, Marisela, Porrón, Cris, Tamara Pili y al Pelón, por su invaluable amistad, por hacer más liviano el trabajo en el laboratorio, constante aliento y valiosos comentarios.

A mis amigas y compañeras de la fac. Anita, Esperanza, Florencia, Gaby, Geraldine, Mari y Omar.

A mis tías y a las familias Silva-Ayala, Vazquez-Silva y Arroyo-León, muchísimas gracias por todo.

To May-Ann Cheng Yuquimpo, thank you for let me use your computer while I was there.

Por supuesto a ti abuelo Héctor, te extraño.

Claro y al diseñador del formato Caquama ☺

## **Reconocimientos**

Quiero agradecer al **Dr. Federico Bermúdez Rattoni** por su inagotable paciencia y su decidido apoyo, a la **Dra. Dolores Rodríguez**, al **Dr. David Velásquez Martínez**, al **Dr. Víctor Ramírez Amaya** y al **Mtro. Oscar Galicia** por su tiempo y sus valiosos comentarios a este trabajo.

Así mismo a **Oreste Carbajal** y **Lino Méndez Lazo** a quienes debo el cuidado de mis animales y **Yolanda Días de León**, por la ayuda para éste trabajo.

## INDICE

INDICE.....	1
ABREVIATURAS .....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
Capítulo 1.....	8
PARTICIPACIÓN DE LA ACETILCOLINA (ACh) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y SU PAPEL EN LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA.....	8
Anatomía del sistema colinérgico en el SNC.....	10
NBM-Corteza, Septum-Hipocampo. Dos vías colinérgicas involucradas en procesos de aprendizaje y memoria.....	16
Vía NBM- Corteza y su papel en los procesos cognitivos.....	16
Vía Septum - Hipocampo y su papel en los procesos cognitivos.....	19
Consideraciones anatómicas del hipocampo.....	21
Capítulo 2.....	28
CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL OLOR (CAO).....	28
Principales sistemas sensoriales involucrados en el CAO.....	31
Sistema olfativo.....	31
Sistema somatosensorial.....	32
Vías de convergencia.....	33
Capítulo 3.....	34
OBJETIVO GENERAL Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
Capítulo 4.....	35
MÉTODO.....	35
Sujetos.....	35
Procedimiento conductual.....	36
Cirugía para la implantación de la guía cánula.....	36
Procedimiento de la inyección intraseptal a través de la guía cánula.....	37
Cirugía para la lesión con 192-IgG-Saporina.....	38
CAO:.....	39
Procedimientos histológicos.....	40
Capítulo 5.....	42
RESULTADOS.....	42
Experimento 1.....	43
Efectos de la lesión con 192-IgG Saporina en el septum medial sobre el condicionamiento aversivo a los olores.....	43
Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba.....	45
Consumo de agua el día de la prueba.....	46
Análisis histológico de los Animales Lesionados.....	47

Experimento 2 .....	48
Efectos de la infusión de TTX en el septum medial 15 minutos antes de la adquisición en la latencia de llegada al bebedero y el consumo de agua el día de la prueba.....	48
Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba.....	49
Consumo de agua el día de la prueba .....	51
Experimento 3 .....	53
Efectos de la infusión de TTX en el septum medial 15 minutos antes de la prueba en la latencia de llegada al bebedero y el consumo de agua el día de la prueba.....	53
Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba .....	53
Consumo de agua el día de la prueba .....	55
Análisis histológico de los animales canulados .....	56
Capítulo 6.....	57
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	57
REFERENCIAS .....	65



## **ABREVIATURAS**

ACh	Acetilcolina
CBA	Cerebro basal anterior
ChAT	Colín-acetil-transferasa
ASM	Área septal medial
NBM	Núcleo basalis magnocellularis
SNC	Sistema nervioso central
GD	Giro dentado
CA1	Campos de Amon 1
CA2	Campos de Amon 2
CA3	Campos de Amon 3
PPTg	Núcleo tegmental del pedúnculo pontino
NMDA	n-metil-D-aspartato
AMPA	Ácido propiónico
FCN	Factor de crecimiento neural
CAS	Condicionamiento aversivo al sabor
CAO	Condicionamiento aversivo al olor
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
RC	Respuesta condicionada
CI	Corteza insular
TTX	Tetrodotoxina
GABA	Ácido gama-amino-butírico

## INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que recibe mayor atención de los investigadores dentro del campo de la neuropsicología, es aquel que concierne a la interesante capacidad del sistema nervioso para almacenar información. Esta facultad de alterar las funciones cerebrales en respuesta a la experiencia le proporciona al organismo la capacidad de aprender y recordar.

Pero ¿a qué nos referimos cuando hablamos de aprender y recordar? Los términos de aprendizaje y memoria son comúnmente utilizados como si fuesen útiles para referirse a un solo proceso. Sin embargo, las evidencias con la que contamos en la neurobiología indican que el aprendizaje y la memoria son partes distinguibles de un mismo proceso. Para este trabajo utilizaremos las siguientes definiciones: **aprendizaje** se refiere, a la generación de representaciones internas durables dependientes de la experiencia, y/o modificación duradera en dichas representaciones dependientes de la experiencia (debido a estos cambios en la representación de estímulos se modifica el potencial conductual). Durables y duraderas significa al menos unos segundos, pero en la mayoría de los casos el período es mucho más largo, y en algunos casos puede ser durante toda la vida; **memoria** se refiere a la retención a lo largo del tiempo de representaciones dependientes de la

experiencia; y **evocación** es el uso de esas representaciones para generar operaciones conductuales (Dudai, 1989).

Sin embargo, existen preguntas primordiales tales como ¿Cuáles son los procesos involucrados en los aprendizajes que son resultado de la experiencia? Y ¿Cómo ocurre el aprendizaje? El Dr. Santiago Ramón y Cajal postuló, en 1894, que el aprendizaje puede producir cambios morfológicos prolongados en la efectividad de las conexiones sinápticas entre células nerviosas, y que esos cambios pudiesen servir como los mecanismos de la memoria (citado por Morris, Kandel y Squire, 1988).

Ha existido durante un largo periodo en el campo de la psicología experimental una disposición para tratar al aprendizaje como inseparable de la respuesta usada para medirlo. La orientación estímulo-respuesta de Thorndike patrocinó en gran medida esta distorsión, al igual que el positivismo lógico ortodoxo, opacando la distinción entre lo que es aprendido y lo que es recordado.

Posteriormente se señaló un problema en el estudio de la memoria que había sido descuidado por la gran mayoría de las investigaciones: el problema de la expresión del aprendizaje (Rescorla y Holland, 1982).

La observación de que en el condicionamiento pavloviano la respuesta condicionada en pocas ocasiones era idéntica a la respuesta incondicionada, llevó a algunos autores (Rescorla, 1988) a postular que la expresión o evocación de las respuestas aprendidas era un proceso relativamente independiente del aprendizaje.

Existe un modelo que da la posibilidad de formar una idea sobre las fases temporales por las que atraviesa el aprendizaje y la memoria. En donde los receptores sensoriales son los encargados de adquirir la información que proviene del medio ambiente. Luego entonces, el organismo debe quedar relativamente intacto por un breve lapso (minutos u horas, dependiente del estímulo) para que ocurra una asociación entre el primer estímulo y el segundo (de origen interno, o externo). Después de lo cual casi ninguna alteración del organismo puede afectar la evocación de la respuesta (recuerdo). De tal manera que el proceso tradicionalmente llamado aprendizaje puede ser considerado como una suma de fases.

Por lo anterior actualmente se distinguen las siguientes etapas del aprendizaje y memoria: a) **adquisición**, en donde el organismo es expuesto a los cambios del medio físico que constituyen los estímulos que se asocian; b) **consolidación**, en donde se activan los mecanismos que permiten una cierta permanencia de la experiencia recién percibida que conduce a la retención, y es sensible a alteraciones; c) **Retención**, fenómeno pasivo en el cual la información se mantiene almacenada dentro del organismo; d) **evocación**, se refiere a la expresión de las conductas determinadas por las experiencias de aprendizajes anteriores, las tres primeras fases del continuo anterior no son en realidad conductualmente observables, sin embargo son inferibles a partir de los diferentes efectos observados en la respuesta (Spear, Miller y Jagielo, 1990).

La aceptación de lo anterior es indispensable para comprender el estudio neurobiológico de la memoria debido a que gran parte de las manipulaciones se llevan a cabo durante alguna (s) de las fases anteriormente mencionadas y no necesariamente durante el aprendizaje, a esto se debe agregar que las manipulaciones experimentales previas al aprendizaje pueden estar afectando cualquiera de estas fases y no el proceso íntegro y total (Spear, Miller y Jagielo, 1990).

## **Capítulo 1**

### **PARTICIPACIÓN DE LA ACETILCOLINA (ACh) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y SU PAPEL EN LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA.**

Dentro de la neurobiología, existe un gran número de estudios que proponen a la ACh como el principal neurotransmisor en los procesos cognitivos, con una relevante participación en los procesos de aprendizaje y memoria. Este especial interés sobre la ACh y su participación en estos procesos tiene sentido si se toma en cuenta que en enfermedades neurodegenerativas que se caracterizan por una disminución casi total de la capacidad cognitiva, como en la enfermedad de Alzheimer, se encuentra también una reducción dramática de la presencia de células colinérgicas en la zona del cerebro basal anterior (CBA) (Christensen, Maltby, Jorm, Creasey y Broe, 1992) y, de la misma manera, un importante decremento, tanto en la corteza como en el hipocampo, en la actividad de la colín-acetiltransferasa (ChAT), que es la enzima que degrada a la ACh, y que como veremos más adelante el hipocampo es una estructura altamente relacionada en las tareas de aprendizaje y memoria. Estas evidencias más los trabajos de laboratorio en donde se lesionan las zonas colinérgicas y se observan efectos en paradigmas conductuales de aprendizaje

## ***Anatomía del sistema colinérgico en el SNC.***

Uno de los sistemas de neurotransmisión mejor descritos en la literatura es, sin duda, el sistema colinérgico, que tiene sus proyecciones ya bien definidas tanto en humanos como en ratas, esta vía se ha propuesto que se puede dividir en dos grandes grupos. El primero se encuentra situado en el CBA, y se compone del área septal medial (ASM), el núcleo de la banda diagonal de Broca vertical y horizontal así como el núcleo basal magnocelular (NBM), que también es conocido como el núcleo basal de Meynert en los seres humanos, que como ya se mencionó está asociado con una neurodegeneración en el síndrome de Alzheimer, y que no obstante que se encuentra en una zona discreta se nombra constantemente como el sistema colinérgico del cerebro basal (Mesulam, Mufson, Levey y Wainer, 1983; Mesulam, Mufson, Wainer y Levey, 1983). La siguiente notación distingue las neuronas del segundo mayor grupo de células colinérgicas que se encuentran en el tallo cerebral en la región del núcleo tegmental del pedúnculo pontino (PPTg) y el tegmentum pontino laterodorsal (Rye, Saper, Lee y Waine, 1987; Mesulam, Mufson, Wainer y Levey, 1983).

Las células colinérgicas del CBA inervan las zonas de la neocorteza, juxtacorticales (corteza del cíngulo) así como las zonas del hipocampo, amígdala basolateral y el bulbo olfatorio, mientras que las células del segundo grupo tienen principalmente proyecciones aferentes hacia el tálamo provenientes en su mayoría desde el PPTg (para un resumen de esta vía ver la figura 1).

Las vías colinérgicas que del CBA envían sus proyecciones hacia diversas partes del sistema nervio central (SNC) pueden dividirse en los siguientes tres grupos:

- Rama rostral, se origina desde el ASM y el brazo vertical de la banda diagonal de Broca. Las fibras de estas células son positivas a la tinción de ChAT en el cíngulo, y viajan de manera caudal a través del fornix para finalmente inervar la formación hipocampal, así como las cortezas entorrinal y perirhinal. Las células blanco de las neuronas colinérgicas han sido bien estudiadas y son principalmente las células del giro dentado (GD), campos de Ammon (CA) 3 y 1 del hipocampo (Naumann, Linke y Frotscher. 1992).



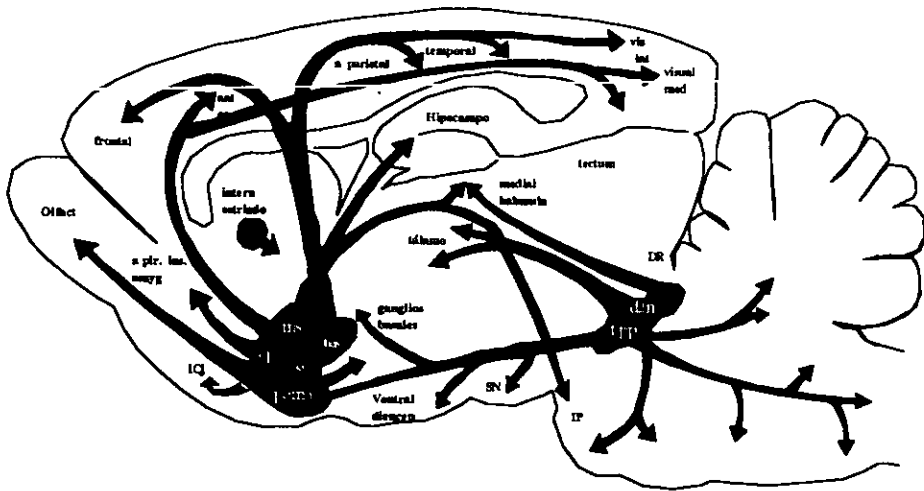


Fig 1. Representación esquemática del plano horizontal de los principales sistemas colinérgicos en el cerebro de mamíferos. Como se observa en la figura, las neuronas colinérgicas centrales muestran dos esquemas organizacionales fundamentales: (a) circuito de células locales, ejemplificadas por las interneuronas del núcleo caudado-putamen, nucleus acumbens, tubérculo olfatorio y el complejo de isletos de Calleja (ICj) y (b) neuronas de proyección (i.e. aquellas que conectan a dos o más regiones diferentes). De las proyecciones de neuronas colinérgicas que se interconectan con estructuras centrales, han sido descritas dos subconstelaciones principales: (a) el complejo colinérgico del CAB compuesto por neuronas positivas a ChAT en el núcleo septal medial (ms), el núcleo de la banda diagonal (td), substancia innominata (si), campo preóptico magnocelular (poma), y el núcleo basalis (bas) y proyecciones a todo el telencéfalo no estriado y (b) el complejo colinérgico pontomesencefalotegmental compuesto por células inmunoreactivas a ChAT en el núcleo tegmental pendunculopontino (tpp) y laterodorsal (dltn) proyectando ascendente al tálamo y a otros sitios diencefálicos y descendientemente a la formación reticular (Rt) pontina y medular, núcleo profundo cerebelar (DeC) y vestibular (Ve) y núcleo del nervio cranial. No se muestran en este esquema las neuronas simpáticas, parasimpáticas y otras eferentes colinérgicas de los nervios craneales 3-12 y las neuronas a and g-motoras autónomas de la columna espinal. Otras abreviaciones: amígdala (amyg), corteza anterior cingulada (ant cg), núcleo del nervio cranial dorsal (CrN), diencefalo (diencep), núcleo rafé dorsal (DR) corteza entorinal (ento) corteza frontal (frontal), corteza insular (ins), locus ceruleus (LC), núcleo lateral reticular (LR), olfatorio (olfact), corteza piriforme (pir), núcleo pontino (PN), corteza perirhinal (pr), corteza parietal (par), substancia nigra (SN), núcleo espinal del nervio cranial 5 (Sp5), corteza temporal (temporal), corteza visual lateral (vis lat), corteza visual media (visual med). Modificado de Woolf por Gutiérrez (1999).

- La segunda rama o vía media, comienza de una parte del brazo vertical de la banda diagonal de Broca, así como del área preóptica magnocelularis, intervando las cortezas cinguladas y retrosplenial, además de ciertas estructuras allocorticales, particularmente el bulbo olfatorio, la amígdala, así como las corteza insular y piriforme.
- Por último la tercera rama del sistema aferente colinérgico del CBA abarca una mayor extensión de proyecciones que se dirigen principalmente a la neocorteza, tal y como se muestra en la figura 1 estas proyecciones se dirigen primordialmente hacia la corteza frontal y la parietal, otras proyecciones van hacia la amígdala (Ambroggi, Baldi, Bucherelli y Tassoni, 1994).

No obstante que las células de estas distintas regiones colinérgicas, en específico las que componen al ASM así como el NBM, comparten muchas características, se ha observado bajo aproximaciones experimentales que estas áreas responden a distintos tipos de aprendizaje, dependiendo de las estructuras que participan en las distintas tareas y de la zona a las que proyecten estas células colinérgicas (Everitt y Robbins, 1997).

Sin embargo, en la mayoría de los estudios en donde se ha podido observar su participación en estos procesos de aprendizaje y memoria, se han utilizado manipulaciones que no sólo afectan a las células colinérgicas, sino que también pueden estar afectando a las neuronas no colinérgicas adyacentes a la zona de infusión de las distintas toxinas que producen las lesiones, como células dopaminérgicas, noradrenérgicas, así como serotoninérgicas. En la mayoría de los casos donde se comenzó a reportar los efectos de las lesiones de las distintas subdivisiones del sistema colinérgico del CBA, fueron producidas por excitotoxinas, tales como n-metil-D-aspartato (NMDA) y ácido propiónico (AMPA). Sin embargo, en años recientes se ha desarrollado una nueva herramienta que soluciona en gran medida la inespecificidad de las toxinas comúnmente utilizadas para lesionar la zona colinérgica (Wiley, Oelmann y Lappi, 1991), esta inmunotoxina es conocida como conjugado 192 IgG-saporina, que destruye selectivamente a las células que expresan el receptor al factor de crecimiento nervioso (FCN) de baja afinidad denominado p75, las células colinérgicas cuentan en gran mayoría con este receptor, debido a que estas neuronas son dependientes de este factor. Esta herramienta de lesión funciona de la siguiente manera: el anticuerpo es internalizado en la célula una vez que es acoplado en el receptor p75 a FCN. Una vez dentro de la célula la saporina comienza a llevar a cabo sus efectos tóxicos como

inactivador ribosomal, lo cual tiene como consecuencia una interrupción definitiva en la síntesis de proteínas provocando la muerte de esta célula alrededor del sexto día. La especificidad de la toxina se ha comprobado en repetidas ocasiones (Wiley, Oeltmann y Lappi, 1991; Book, Wiley y Schweitzer, 1992). Los efectos sobre la conducta en este tipo de lesiones son discutidos en el siguiente apartado.

## **NBM-Corteza, Septum-Hipocampo. Dos vías colinérgicas involucradas en procesos de aprendizaje y memoria.**

Una de las aproximaciones que se han llevado a cabo para tratar de dar respuesta al por demás interesante y complejo engrama de la memoria, es la utilización de modelos experimentales de algunas enfermedades, una de ellas la enfermedad de Alzheimer, la cual además de provocar catastróficas e irreversibles alteraciones cognitivas, se correlaciona con una dramática disminución de los niveles del neurotransmisor ACh, haciéndose evidente por:

a) un decremento en la actividad de la ChAT, lo cual se interpreta como una reducción de la presencia de ACh en la corteza cerebral y la formación hipocampal, estructuras altamente relacionadas con procesos de aprendizaje y memoria. b) Una reducción significativa de células teñidas con inmunohistoquímica dirigida a ChAT, principalmente en las zonas del NBM y el septum. Es importante recordar que estas dos vías emiten importantes proyecciones hacia la neocorteza y el hipocampo respectivamente.

### ***Vía NBM- Corteza y su papel en los procesos cognitivos***

Como se puede observar en la figura 1 la más importante entrada colinérgica a la neocorteza es la proveniente de las células del NBM, a las cuales se les ha

atribuido de alguna manera en las funciones cognitivas (Everitt, Sirkiä, Roberts, Jones y Robbins, 1988; Mandel, Gage y Thal, 1989; Wainer y Mesulam, 1990; Butcher, Oh, Woolf, Edwards y Roghani, 1992; Bronzetti, Caporali, Felici, Niglio, Scotti y Amenta, 1993).

La mayor parte del conocimiento de estas áreas y su papel funcional viene de aproximaciones experimentales, en específico de estudios farmacológicos, en los que se demostró que infundiendo sustancias que producen algún tipo de lesión o bloqueo en los núcleos colinérgicos, principalmente por excitotoxinas, así como la infusión sistemática de antagonistas de los receptores colinérgicos, como la atropina y escopolamina, en los núcleos colinérgicos del CBA del SNC, estas manipulaciones farmacológicas producen alteraciones significativas en la adquisición y ejecución de diversas tareas de aprendizaje como la prevención pasiva (Prado-Alcalá, Bermúdez-Rattoni, Velázquez-Martínez y Bacha, 1978; Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez y García, 1987).

Uno de los paradigmas conductuales utilizado con frecuencia para el estudio del aprendizaje y la participación de la ACh en procesos cognitivos, es el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS), reportado por primera vez por

John García (García y Kineldorf, 1955), el cual consiste en asociar un sabor (estímulo condicionado o EC) con un malestar gástrico (estímulo incondicionado o EI) produciendo como consecuencia una aversión al sabor asociado (respuesta condicionada o RC). En estos trabajos se propuso que la participación de la ACh juega un papel relevante en el momento en que los animales tienen la presencia del estímulo novedoso cuando aprenden la tarea del CAS (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1998; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999), apoyando la hipótesis colinérgica del aprendizaje y la memoria.

Sin embargo, en experimentos publicados recientemente se ha reportado que cuando se lesionan solamente las células colinérgicas del NBM con la excitotoxina 192-IgG-saporina, no se produce ningún efecto significativo ni en la adquisición, ni en la evocación de la tarea del CAS (Gutiérrez, Gutiérrez, Ramírez-Trejo, et al. 1999; Gutiérrez, Gutiérrez, Silva-Gandarias, Estrada, Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999; Dougherty, Salat y Walsh, 1996). Lo cual en principio, afecta la aceptación de que la ACh es necesaria para el aprendizaje del CAS.

De la misma manera se ha reportado en la literatura que durante la adquisición del CAS se produce un incremento en la actividad colinérgica en la corteza

insular (CI), a la cual se ha hecho responsable de dicho aprendizaje. Sin embargo, cuando se infunde tetrodotoxina (TTX), que bloquea los canales de Na, y como consecuencia de ello se produce una suspensión temporal de la actividad neuronal, los animales son incapaces de aprender la tarea, y además no se incrementa la actividad colinérgica, lo cual sugiere que efectivamente la ACh puede tener un importante papel dentro del aprendizaje de esta tarea (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999).

Tomando en cuenta lo anterior es evidente que no queda claro cual es, entonces el papel de la ACh durante los procesos de aprendizaje y memoria. Pues si bien se incrementa la actividad colinérgica en el momento de llevar a cabo la asociación del CAS, cuando se lesionan exclusivamente las células colinérgicas no se afecta la tarea y disminuye la actividad colinérgica.

### ***Vía Septum - Hipocampo y su papel en los procesos cognitivos.***

Una de las principales estructuras del SNC relacionada con los procesos de aprendizaje y memoria ha sido el hipocampo, que en este sentido, ha sido una de las regiones más ampliamente estudiadas. Se sabe que esta estructura tiene un papel fundamental en las funciones de aprendizaje y memoria, como lo han



confirmado las observaciones de los efectos adversos que provoca tanto en los humanos como en monos y ratas: la lesión o alteración del hipocampo (Squire, Zola-Morgan, Amaral, Weynspan, Ojemann, Miezin, Petersen, Videen y Raichle, 1992).

Esta relación entre los procesos cognitivos con el hipocampo surgió de estudios clínicos. En especial el caso del paciente HM, donde se comenzó a observar que las lesiones de la zona del lóbulo temporal, lugar donde se encuentra localizado el hipocampo, tenían efectos sobre los procesos cognitivos. Este paciente fue intervenido quirúrgicamente debido a las fuertes y recurrentes crisis epilépticas. Fue entonces removida la porción medial del lóbulo temporal, teniendo como resultado la eliminación de dichas crisis, pero como consecuencia de ésta ablación el paciente experimentó una lamentable y dramática incapacidad para la formación de nuevas memorias a largo plazo. Sin embargo, toda la información que se había almacenado y consolidado hasta antes de la operación no fueron afectadas, es decir solamente se vio mermada la capacidad para formar nuevos recuerdos (Corkin, 1965; Corkin, 1968; Marslen-Wilson y Teuber, 1975).

En estudios posteriores, tanto en pacientes como en modelos experimentales, se demostró que la principal estructura de esta zona que regulaba la adquisición de nueva información era la formación hipocampal.

Las conexiones del hipocampo con otras estructuras han recibido una gran atención de los investigadores. Se sabe que mantiene una importante comunicación bidireccional con el septum, siendo esta conexión una de las más estudiadas debido a que la actividad colinérgica que se registra en el hipocampo es, gran medida, dependiente en del septum. Cabe señalar que tanto el septum como el hipocampo forman parte conspicua del sistema límbico.

### ***Consideraciones anatómicas del hipocampo***

El hipocampo es una zona del SNC considerada por algunos autores como una estructura cortical filogenéticamente antigua (Amaral y Witter, 1985), está localizada en los dos hemisferios, bajo la neocorteza. Tiene una estructura tridimensional compleja, en forma de una “C” con un extremo en la región septal en las regiones mediales del cerebro, y otro en las partes laterales y profundas del lóbulo temporal (figura 2). La organización interna del hipocampo es laminar, se encuentra bien definida y es fácilmente observable.

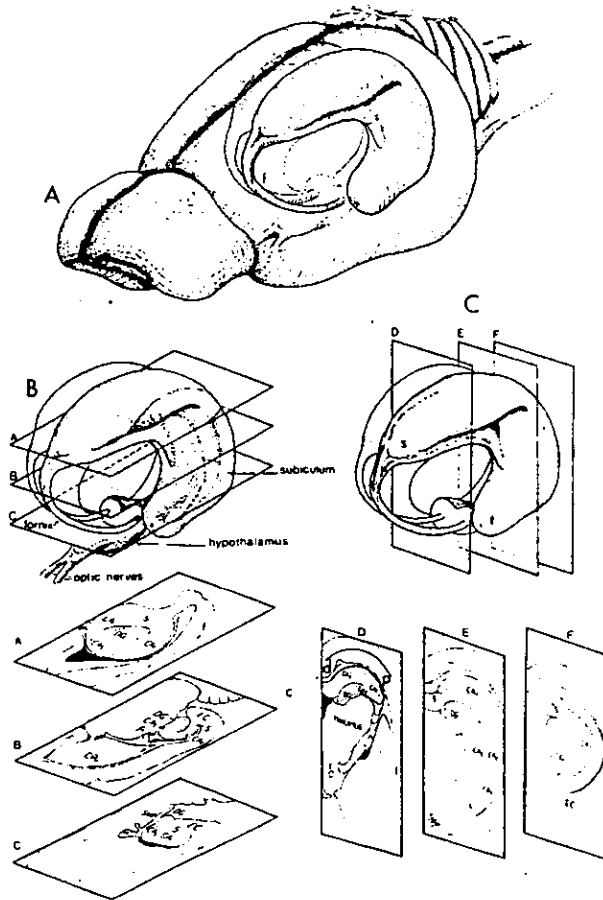


Figura 2. Esquema que muestra la organización tridimensional de la formación hipocámpal en el cerebro de rata. (A) Se muestra la curva en "C" que forma la imagen del hipocampo en un cerebro con corteza transparente. (B) Se observan tres secciones horizontales a distintos niveles dorsoventrales. (C) Se muestran tres secciones coronales en tres diferentes niveles anteroposteriores (modificado de Amaral y Witter, 1985).

<b>Aferencias</b>	<b>Eferencias</b>	<b>Interconexiones</b>
<b>Subcorticales</b>	<b>Subcorticales</b>	<b>Corticales</b>
Amígdala	Regiones Olfatorias	Corteza Entorhinal
Clastrum	Amígdala	Corteza Retrosplenial
Núcleo Septal	Núcleo Septal	Corteza Frontal Medial
Núcleo Supramamilar	Tálamo Medio	
Hipotálamo Lateral	Núcleo Accumbens	
Tálamo Anterior	Tálamo Anterior	
Tálamo Medio	Hipotálamo	
Área Tegmental Ventral	Núcleo Mamilar	
Núcleo del Rafe		
Locus Coeruleus		

Tabla 1. Lista de las conexiones de entrada y salida que mantiene el hipocampo con otras estructuras del SNC (modificado de Amaral y Witter, 1985).

Las conexiones extrínsecas aferentes y eferentes que mantiene el hipocampo son tanto con estructuras corticales como subcorticales (ver tabla 1). Sin embargo, es importante remarcar la importancia que tiene la vía aferente de la corteza entorhinal para el modelo del condicionamiento aversivo a los olores (CAO). Pues esta a su vez recibe información directa del bulbo olfatorio, estas fibras olfatorias terminan en las capas II y III de la corteza entorhinal (Carlsen, De Olmos y Heimer, 1982), y conectan directamente al hipocampo a través de la vía perforante que tiene a su terminal en el área del giro dentado del hipocampo (figura 3).

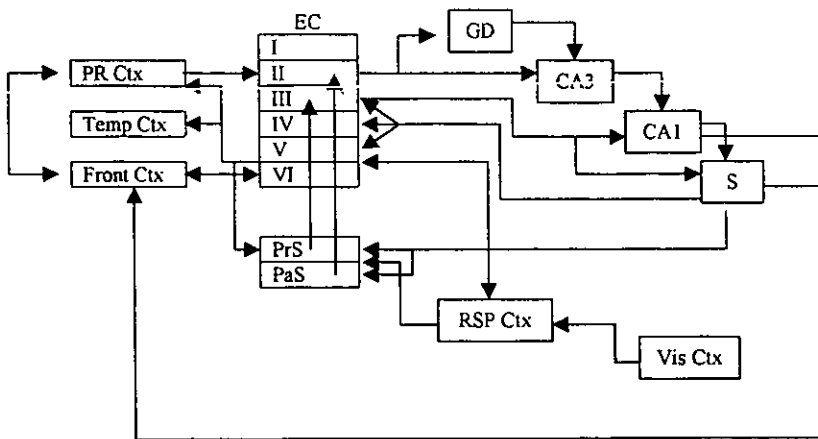


Figura3. Diagrama que resume las principales conexiones intrínsecas de la formación hipocampal con las principales aferencias corticales, es importante remarcar que la principal que una de las principales entradas de información viene de la corteza olfativa. PR Ctx, corteza perirhinal; Temp Ctx, corteza temporal; Front Ctx, corteza frontal; Vis Ctx, corteza visual; PrS, presubiculum; PaS, parasubiculum; S, septum; CA1 y CA3; cuernos de Amon 1 y 3 respectivamente; GD, giro dentado (modificado de Amaral y Witter, 1985).

Pero la vía que recibe mayor atención en lo que se refiere a procesos cognitivos es la conexión septo-hipocampal. La información proveniente del ASM que llega al hipocampo es través de cuatro vías: por el área dorsal por la fimbria, fornix dorsal, stria supracallosal y ventralmente a través y alrededor del complejo amigdalino. En esta conexión septo-hipocampal, se han llevado a cabo tanto manipulaciones quirúrgicas como farmacológicas, y se sabe que gran parte de la actividad colinérgica del hipocampo es proveniente del ASM

(Carlsen, De Olmos y Heimer. 1982; Amaral y Witter. 1985). De la misma manera se ha propuesto que la integridad de esta vía es importante para llevar a cabo procesos relacionados con aprendizaje y memoria, atribuyendo principalmente la participación de la ACh en dichos procesos, apoyando de esta manera la hipótesis colinérgica de los procesos cognitivos.

En este sentido, se ha reportado en la literatura que lesiones con excitotoxinas del ASM tienen efectos nocivos sobre los procesos de adquisición de nueva información, sin embargo, no ocurre lo mismo para la información ya almacenada (Mizumori, Perez, Alvarado, Barnes y McNaughton, 1990; McNamara y Skeleton, 1993; Marston, West, Wilkinson, Everitt y Robbins, 1994). De la misma manera, también se sabe que la inactivación transitoria de las células del ASM con TTX produce efectos muy similares a los que provocan las excitotoxinas sobre tareas de aprendizaje dependientes del hipocampo (Rashidy-Pour, Motaghd-Larijani y Bures, 1995; Rashidy-Pour, Motamedi y Motahed-Larijani, 1996).

Este tipo de efectos se le han atribuido principalmente a la ACh debido a que la infusión de agonistas colinérgicos en el hipocampo, produce una potenciación de algunas tareas que dependen de esta estructura (Micheau,

Destrade y Jaffard, 1985; Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez y García, 1987; Kim y Levin, 1996; Ridley, Harder y Baker, 1996). Mientras que los antagonistas del mismo neurotransmisor tienen efectos opuestos a los anteriores sobre tareas asociativas dependientes de la formación hipocampal (Alvarez y Banzán, 1986; Ridley, Harder y Baker, 1996; Robinson y Mao, 1997).

No obstante, recientemente se han reportado resultados que en principio contradicen los anteriores hallazgos, y que de alguna manera debilita la teoría colinérgica de los procesos cognitivos. En estos estudios se efectuaron lesiones selectivas las células colinérgicas del ASM con el conjugado IgG-Saporina, y viendo sus efectos en tareas de aprendizaje espacial dependientes de la formación hipocampal, sin embargo, con la lesión producida por la inmunotoxina, no modifica su ejecución en esta tarea, y llevando acabo el análisis *postmortem* se observa una reducción significativa de la actividad colinérgica (Wenk, Stoehr, Quintana, Mobley y Wiley, 1994; Baxter y Gallagher, 1996; McMahan, Sobel y Baxter, 1997)

Es evidente entonces que no queda claro el papel que puede tener la vía colinérgica septo-hipocampal en los procesos de aprendizaje y memoria

dependientes del hipocampo. Pues si bien, por un lado se observa que se ven alteradas las tareas de aprendizaje relacionadas con esta estructura cuando se producen manipulaciones que en principio afectan la actividad colinérgica del hipocampo, no sucede lo mismo si se lesionan de manera selectiva las células colinérgicas del ASM que proyectan al hipocampo, que es la principal responsable de la actividad colinérgica que se registra en el hipocampo.

Con el interés de determinar cual es entonces el papel de la ACh en los procesos de aprendizaje y memoria dependientes del hipocampo, se han llevado a cabo estudios en donde se hacen manipulaciones farmacológicas y los animales son entrenados en paradigmas conductuales, uno de estos paradigmas es el condicionamiento aversivo al olor CAO que se menciona a continuación.



## **Capítulo 2**

### **CONDICIONAMIENTO AVERSIVO AL OLOR (CAO)**

Este paradigma conductual tiene la gran ventaja de involucrar principalmente dos sistemas sensoriales, a diferencia de los demás paradigmas de aprendizaje regulados por el hipocampo, como es el caso del laberinto de agua o el laberinto radial, que también son tareas reguladas por la formación hipocampal, pero que sin embargo, involucran más de dos sistemas sensoriales así como un gran número de estímulos. Además de que es importante remarcar que en la rata el sistema olfativo cobra gran relevancia, de hecho el solo bulbo olfatorio representa el 10% de su SNC, y la vía que involucra este sistema sensorial es bien conocida, y de la misma manera se ha reportado que la adquisición de esta tarea, como aquellas que consisten en discriminación de estímulos olfativos, es fuertemente regulada por la formación hipocampal (Thompson, 1980; Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez y García, 1987).

Este paradigma conductual consiste en la asociación de un olor específico novedoso (estímulo condicionado o EC) con un estímulo aversivo (estímulo incondicionado o EC). El procedimiento es el siguiente (figura 4):

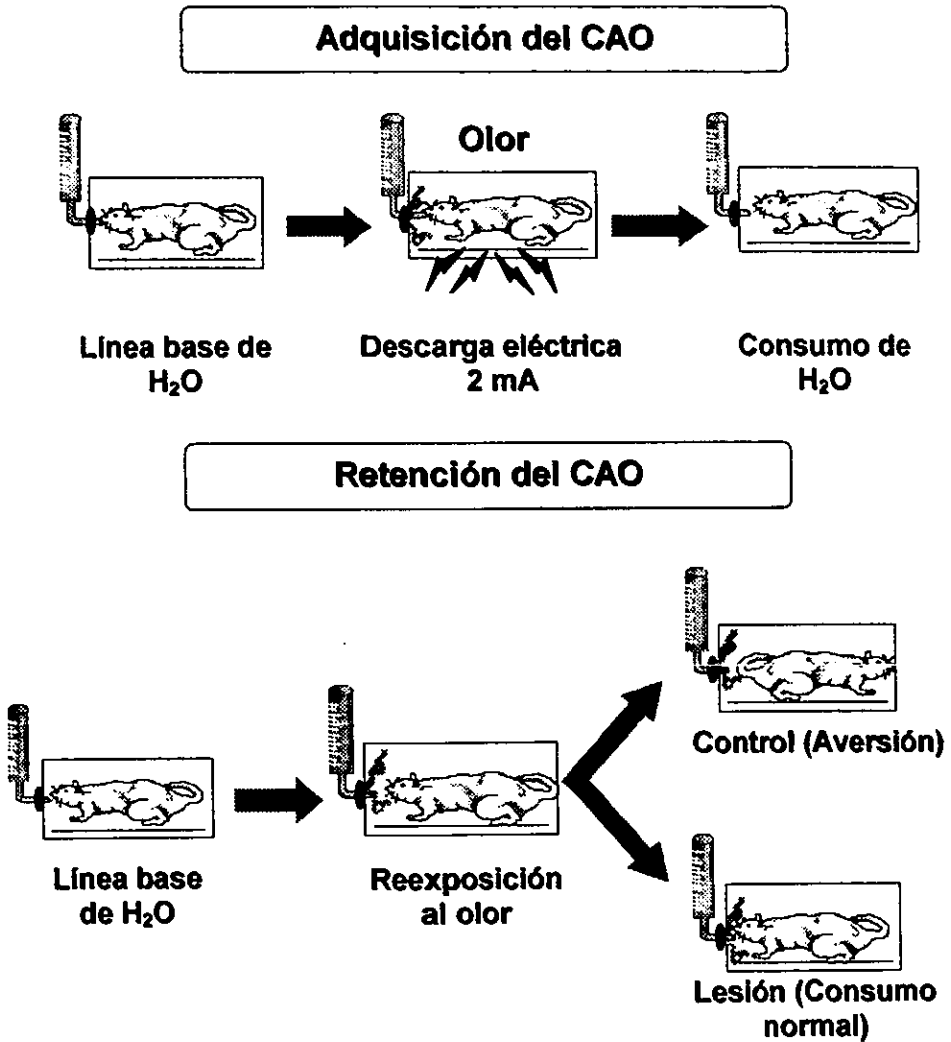


Figura 4. Esquema donde se muestra el protocolo del CAO. Primer registro de consumo de agua, adquisición en donde se presenta al estímulo olfativo junto con la descarga eléctrica, segundo registro de consumo de agua, y la fase de prueba que consiste en una segunda reexposición al olor y el registro del consumo de agua.

En ratas privadas de agua durante las anteriores 24 horas, se toma un registro del consumo de agua por diez minutos, durante cuatro días consecutivos, el quinto día se presenta el EC, y en el momento que el sujeto se acerca al bebedero se le da una descarga eléctrica en las patas del animal (EI), durante los siguientes tres días se toma nuevamente el registro del consumo de agua en las mismas condiciones en la que fue hecha tanto la línea base como la asociación de estímulos.

Finalmente se presenta nuevamente el EC sin la presencia del EI, al término de la sesión se mide el consumo de agua, el cual en principio debe disminuir significativamente cuando es comparado con el consumo de la línea base.

## Principales sistemas sensoriales involucrados en el CAO.

La tarea de que se plantea como modelo para este trabajo se ven involucrados principalmente dos sistemas sensoriales, de los cuales a continuación se hace una breve revisión:

### **Sistema olfativo**

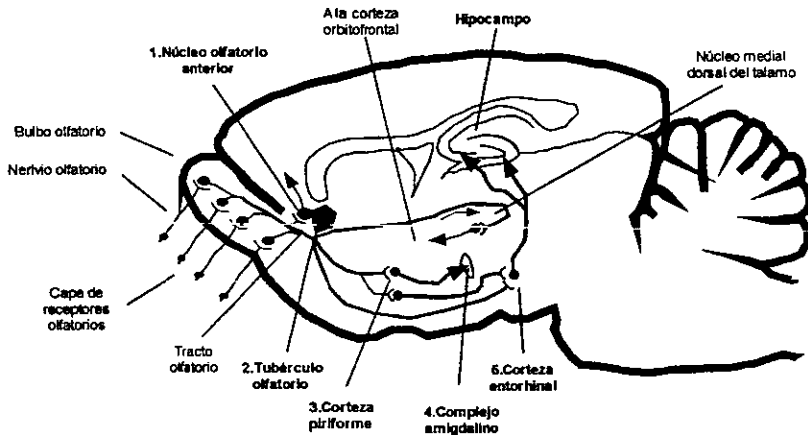


Figura 5. esquema del sistema olfativo donde se presenta la vía principal de este sistema. Una vez que el estímulo llega a los receptores la información se transmite hacia el núcleo olfatorio anterior, posteriormente llega a tubérculo olfatorio, para después viajar hasta la corteza piriforme, de donde una parte de la información se va al complejo amigdalino, el resto se va a la corteza entorrinal, para finalmente llegar a la formación hipocampal, en específico a las zona del GD, CA1, y CA3 (modificado de Kandel, Schwartz y Jessell, 1996).

El sistema olfativo es filogenéticamente uno de los más antiguos. Tiene la principal característica de ser el único sistema que llega a la corteza antes que

a otras estructuras subcorticales. Además que involucra gran parte del sistema límbico, el cual se encuentra asociado con los estados emotivos. La vía y las estructuras que involucra se describe en la figura 5, donde se puede observar que la información proveniente del bulbo olfatorio es enviada directamente a la corteza olfativa y ésta a su vez envía la información hacia la formación hipocampal (Kandel, Schwatrz y Jessell, 1996)

### **Sistema somatosensorial**

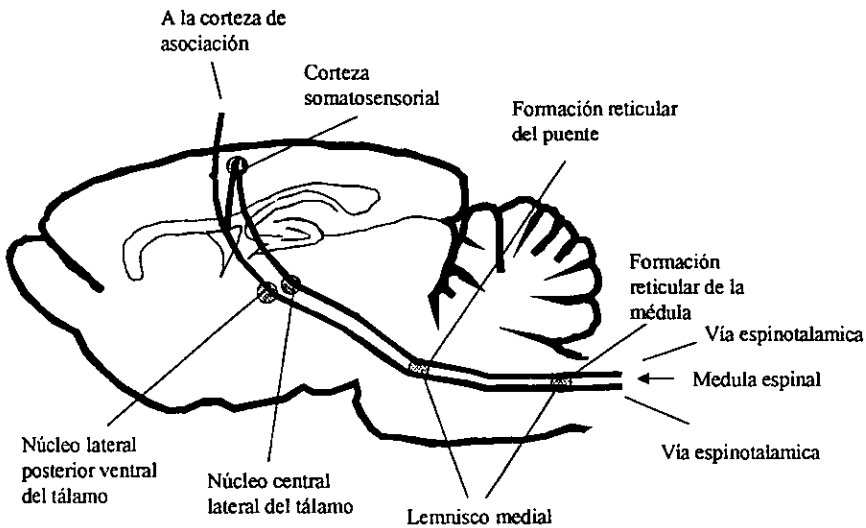


Figura 6. Esquema de dos de las principales vías ascendentes que transmiten información nociceptiva de las astas dorsales de la espina dorsal hacia centros superiores (Kandel, Schwatrz y Jessell, 1996).

A diferencia del sistema olfatorio este sistema sensorial sí involucra estructuras subcorticales antes de que la información llegue a la zona cortical somatosensorial. Y de la misma manera que el sistema olfativo, es bien conocida la ruta que sigue la información. En el caso de este sistema la información entra al sistema nervioso por medio de los receptores somatosensoriales que se encuentran en diferentes capas de la piel. La vía y las estructuras que involucra que sigue la información somatosensorial se describe en la figura 6.

### ***Vías de convergencia***

El sitio de convergencia de estos dos sistemas sensoriales es probable que se de en la corteza frontal, pues en ambos casos la información después de ser procesada por las respectivas cortezas (olfativa y sensorial) envía sus proyecciones hacia la corteza frontal, donde probablemente después de pasar por la formación hipocampal se lleva a cabo la asociación de los estímulos.

### **Capítulo 3**

#### **OBJETIVO GENERAL Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Por lo anteriormente expuesto se hace evidente la necesidad de explorar el papel de la vía colinérgica septo-hipocampal y su relación con los procesos de aprendizaje y memoria dependientes del hipocampo.

El objetivo entonces del presente trabajo es evaluar y determinar la participación de la vía septo-hipocampal sobre tareas asociativas que se ha propuesto son reguladas por la formación hipocampal, en específico aquellas en las que se ha propuesto que la ACh tiene un papel relevante. Para lo que se requiere en primera instancia un paradigma conductual que se haya propuesto como un modelo de aprendizaje y memoria y, que además, las vías que procesen la información sean conspicuas y que no involucren demasiadas estructuras del SNC.

Para llevar a cabo los objetivos anteriormente descritos se diseñó el siguiente experimento, en donde se realizarán lesiones en ASM con IgG Saporina, mientras que para determinar la relevancia de esta vía se realizarán

inactivaciones transitorias del ASM con la infusión de TTX antes de la fase de adquisición y antes de la fase de prueba.

## Capítulo 4

### MÉTODO

#### **Sujetos**

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar con un peso que oscilaba entre 250 y 300 gramos al inicio del experimento las cuales se mantuvieron en un ciclo invertido de luz de 12:12 y todos los experimentos se realizaron durante la fase oscura del ciclo. Las ratas fueron separadas en cajas individuales de acrílico transparente con acceso *ad libitum* a comida, el agua les fue retirada 24 hrs antes de comenzar el entrenamiento en las cajas de olor y solamente tuvieron acceso a beber agua durante 10 min cada 24 hrs.

Los animales fueron divididos en 4 grupos: intacto; animales a los que se les lesionó con la inmunotoxina IgG-Saporina (IgG-Sap), y su control de lesión fantasma (Vhe); animales a los que se les infundió la TTX antes de la adquisición de la tarea (TTXADQ), y su respectivo control al que se le infundió vehículo el día de la prueba (Vhe ADQ); finalmente el grupo al que se les infundió TTX antes de la fase de prueba (TTXPRU), y su control de lesión fantasma (VhePRU).



inactivaciones transitorias del ASM con la infusión de TTX antes de la fase de adquisición y antes de la fase de prueba.

## **Capítulo 4**

### **MÉTODO**

#### ***Sujetos***

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar con un peso que oscilaba entre 250 y 300 gramos al inicio del experimento las cuales se mantuvieron en un ciclo invertido de luz de 12:12 y todos los experimentos se realizaron durante la fase oscura del ciclo. Las ratas fueron separadas en cajas individuales de acrílico transparente con acceso *ad libitum* a comida, el agua les fue retirada 24 hrs antes de comenzar el entrenamiento en las cajas de olor y solamente tuvieron acceso a beber agua durante 10 min cada 24 hrs.

Los animales fueron divididos en 4 grupos: intacto; animales a los que se les lesionó con la inmunotoxina IgG-Saporina (IgG-Sap), y su control de lesión fantasma (Vhe); animales a los que se les infundió la TTX antes de la adquisición de la tarea (TTXADQ), y su respectivo control al que se le infundió vehículo el día de la prueba (Vhe ADQ); finalmente el grupo al que se les infundió TTX antes de la fase de prueba (TTXPRU), y su control de lesión fantasma (VhePRU).

### ***Procedimiento conductual***

El entrenamiento de los animales se llevó a cabo en cajas de acrílico de 23 x 32 x 15 cm. Que tienen en el piso dos placas de acero inoxidable las cuales fueron conectadas al estimulador. Estas cajas tienen una perforación de 3 cm de diámetro en uno de los extremos, a través de la cual se coloca el bebedero graduado con una boquilla de acero inoxidable que tiene el disco odorificador.

### ***Habitación:***

Anterior a la cirugía los animales fueron habituados a beber diariamente en las cajas de olor durante 5 días en sesiones de 10 min.

### ***Cirugía para la implantación de la guía cánula:***

El día de la cirugía los animales fueron profundamente anestesiados con pentobarbital sódico (Anestosal, Pfizer, Toluca, Mex) con una dosis de 50 mg/kg, por medio de una inyección intraperitoneal (IP). Se implantó una cánula de acero inoxidable con un diámetro interno de 0.33 mm y diámetro externo 0.63 mm y una longitud de 8 mm (Small Parts INC., Miami, FL.) la cual fue fijada en el cráneo de la rata con tres tornillos y cemento acrílico de

uso dental Nic-Tone (Manufacturera Dental Continental, S.A. de C.V., Zapopan, Jal.), dirigida hacia el septum medial con las siguientes coordenadas estereotáxicas: AP = 0.2 mm; L = 0.0 mm; DV = -2.0 mm a partir de dura, utilizando el atlas de coordenadas estereotáxicas de Paxinos y Watson (1982). Los animales fueron devueltos a su caja nuevamente donde se dejaron recuperar durante un lapso de tres días con agua y alimento *ad libitum*.

### ***Procedimiento de la inyección intraseptal a través de la guía cánula.***

Antes de la infusión los animales fueron momentáneamente dormidos con éter (Sigma Co., St Louis, MO.) para retirarles el mandril, y posteriormente se hizo llegar el inyector (Becton Dicks Co. Cuautitlan Izcalli, Mex) al ASM. En el caso de la coordenada dorsoventral se hicieron dos infusiones de la solución, debido a que el ASM es, en su anatomía, alargada, por lo que para hacer una lesión en toda el área es necesario hacer la infusión de la toxina en dos zonas a las coordenadas dorsoventrales -6.5 mm y -7.0 mm, el inyector estuvo conectado a un tubo de polietileno y éste a su vez conectado a una microjeringa Hamilton (Hamilton Co., Reno, NV.), cuyo embolo es desplazado a una velocidad de 0.4  $\mu$ l/min por medio de una bomba de infusión (Fabrique'Auxetats Unis, USA). Se infundió 0.5  $\mu$ l de TTX 9 g/lml o vehículo

estéril (pH = 7.4) en cada una de las coordenadas dorsoventrales, una vez infundida la solución se dejó el inyector durante 1 min para dar tiempo a la difusión de la solución y finalmente se retiró con suavidad el inyector.

### ***Cirugía para la lesión con 192-IgG-Saporina***

En este caso los animales fueron anestesiados de la misma manera como se menciona en el procedimiento anterior. Una vez con los animales insensibles, se procedió a exponer el cráneo y utilizando las siguientes coordenadas estereotáxicas AP = 0.2 mm; L = 0.0 mm; se realizó la trepanación correspondiente con las siguientes coordenadas dorsoventrales: -6.5 mm y -7.00 mm. A donde se hizo llegar un inyector de acero inoxidable conectado a través de un tubo de polietileno con recubrimiento antiadherente a una microjeringa (Hamilton Co., Reno, NV.), que a su vez se montó en una microbomba de infusión (Fabrique'Auxetats Unis, USA), que fue programada para correr a una velocidad de 0.5  $\mu$ l/min. Una vez infundida la solución se dejó en el mismo lugar el inyector durante 2 min para esperar a que se difundiera la sustancia. Una vez realizada la infusión se procedió a suturar a los animales y devolverlos a sus cajas, y se dejaron pasar 15 días para que la IgG-saporina hiciera sus efectos en el área de infusión.

## **CAO:**

Los animales fueron privados nuevamente de agua 24 hrs antes del comienzo de la toma de la línea base la cual consiste en 10 min de acceso libre para beber agua en las cajas de olor durante 5 días.

La adquisición se llevó a cabo en un solo ensayo con la presentación del EC, que consistió en 0.2 ml de extracto de almendras McCormic (Herdez, S.A. de C.V., Naucalpan, Mex.) en el disco de olor, junto con la presentación de el EI que fue un choque eléctrico de 2 mA durante 2 seg en el momento que la rata se acercaba a beber en ningún caso algún animal recibió más de 3 descargas eléctricas (Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez y Garcia, 1987).

Posterior al entrenamiento los animales fueron colocados nuevamente en las cajas de olor durante 10 min, para tomar la medición. Durante 5 días se continuó tomando el registro del consumo de agua en las cajas de olor, hasta que el consumo de agua regresó a los niveles de consumo previos al día de adquisición.

La prueba de la tarea se llevó a cabo después de que el consumo de agua entre los animales no presentaba diferencias estadísticamente significativas, y

consistió en la presentación del olor junto con el agua y la medición del consumo de agua durante 10 min, en las mismas condiciones en que se llevó a cabo la toma de línea base y la fase de adquisición.

### ***Procedimientos histológicos.***

Posterior a los experimentos los animales fueron anestesiados con una sobredosis de pentobarbital sódico y perfundidas intracardialmente con solución salina isotónica y posteriormente se cambió la solución a paraformaldehído al 4%. Los cerebros fueron extraídos y colocados por cuatro horas en el mismo fijador y transcurrido este tiempo los cerebros fueron cambiados a sacarosa al 30%, cortados por congelación a 40  $\mu\text{m}$ , y teñidos con violeta de cresilo y examinados a través de microscopía de luz para determinar si la cánula fue colocada en el lugar adecuado. En los animales que se observó que la cánula se encontraba en el lugar incorrecto fueron excluidos del análisis estadístico.

A los cerebros de los animales a los que se les infundió la inmunotoxina fueron procesados para tinción de colinesterasa, según la técnica de (Paxinos y

## Capítulo 5

### RESULTADOS

En todos los casos de comparación estadística entre grupos se utilizó una prueba estadística ANOVA simple con comparaciones *post hoc* de Fisher.

Después de 3 días de darles de beber en las cajas se obtuvieron datos para obtener la línea base. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos, teniendo un promedio de 4.83 seg en el tiempo de llegada al bebedero o latencia (vease tabla 2).

	N	Media	Des. Std
Intacto	6	4.95	1.30
IgG-Sap	5	4.20	2.41
Vhe	7	4.25	2.12
Vhe ADQ	7	5.75	1.58
TTX ADQ	9	5.72	2.40
Vhe PRU	9	4.61	1.47
TTX PRU	8	4.87	1.42

Tabla 2. Se muestran la media y desviación estandar (Dev. Std.) de cada grupo. En la latencia de llegada al bebedero durante la toma de línea base. En ninguno de grupos se encuentran diferencias estadísticamente significativas.

En el caso del CAO, en la parte del paradigma referente a la prueba se utilizó el promedio de línea base, debido a que se ha reportado que en el CAS los animales con lesión pueden presentar una pequeña pero significativa disminución en el volumen de consumo general, de esta manera se disminuye la posibilidad de que las diferencias que se pudiesen observar entre los sujetos de distintos grupos fuesen debidas a este fenómeno (Dugas-du-Villard, Her y MacLeod, 1981). La manera de obtener este parámetro, es la siguiente: una vez que se obtienen los valores de consumo de los días de la línea base se hace un promedio aritmético para cada animal, tomando este valor como un 100% el cual posteriormente es comparado con el volumen de consumo del día de la prueba.

## **Experimento 1**

### ***Efectos de la lesión con 192-IgG Saporina en el septum medial sobre el condicionamiento aversivo a los olores.***

El objetivo de esta fase experimental fue el determinar los efectos de la lesión de las células colinérgicas del ASM con 192-IgG-saporina, sobre un paradigma conductual dependiente de la formación hipocampal (CAO).



Para suprimir la información colinérgica que va del ASM al hipocampo se llevó a cabo la infusión de IgG-saporina en la primera de las áreas antes mencionadas, 15 días posteriores a la infusión de la inmunotoxina se comenzaron a habituar a las ratas en las cajas de olor, una vez que no hubo diferencias estadísticas entre los animales de los tres grupos en el consumo de agua, se comenzó a aplicar la fase conductual del CAO.

Los animales fueron colocados en las cajas de entrenamiento con el bebedero y el estímulo olfativo. Y en el momento que los animales llegaban al bebedero y su lengua hacía contacto con el bebedero se les daba el choque eléctrico con una intensidad de 2 mA. El criterio que se usó para determinar que el animal había adquirido la tarea y sacar a la rata de la caja de entrenamiento fue: si transcurrían más de 180 seg y la rata no volvía acercarse al bebedero el animal era retirado de la caja de olor. Posteriormente a las cajas y los bebederos fueron lavados con detergente inoloro para retirar cualquier aroma a almendras que hubiese quedado impregnado, después del secado de las cajas los animales fueron introducidos durante en ellas durante 10 min para tomar el registro del consumo diario de agua durante los siguientes 3 días.

La fase de prueba consistió en una reexposición al EC (olor), el cual se presentó sin la presencia del EI (descarga eléctrica). El animal estuvo dentro de la caja teniendo la oportunidad de beber durante 10 min, transcurrido este lapso los animales fueron retirados a sus cajas y se midió el consumo de cada sujeto.

*Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba.*

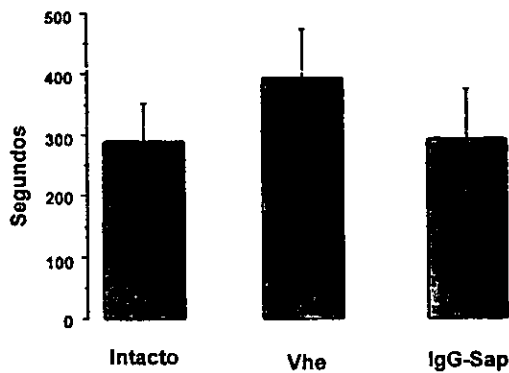


Figura 7. Gráfica que muestra la latencia de llegada al bebedero medida en segundos, donde se no observan diferencias en el grupo entre, si embargo en todos se encuentra un incremento de tiempo de llegada al bebedero si es comparado con la línea base.

En este experimento no se encontraron diferencias significativas entre los grupos después de llevar a cabo la prueba estadística ANOVA ( $F_{2,13} = 0.643$ ,  $p > 0.05$ ). En los animales del grupo Intacto se obtuvo una media de 289.33 (sd = 154.12). En el grupo de lesión fantasma en el ASM, que fue donde se encontró un mayor incremento en la latencia, tuvo un promedio de 396.6 seg (sd = 176.77). Sin embargo, se encontró lo mismo en los animales que recibieron la infusión de IgG-saporina en el ASM, teniendo un promedio en la latencia de llegada al bebedero de 293.20 (ds = 189.56) tal como se muestra en la figura 7.

### *Consumo de agua el día de la prueba*

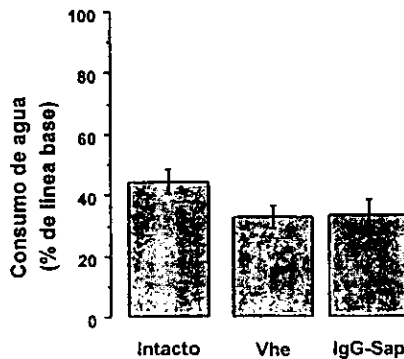


Figura 8. Gráfica que muestra consumo de agua el día de la prueba, donde no se observa diferencias significativas entre los grupos.

En este caso en todos los grupos se observa una reducción significativa del consumo de agua, en comparación con el promedio de la línea base, siendo en menor grado para los animales del grupo intacto (44.41% ds = 10.25). Como se observa en los dos grupos restantes, mantienen una reducción muy similar aún los grupos a los que se les infundió la inmunotoxina (33.41% ds = 11.05), que en comparación con su grupo control de lesión fantasma en septum y amígdala (32.76% ds = 8.52). Así como se puede apreciar en la figura 8, no existen diferencias significativas entre los grupos ( $F_{4,21} = 1.39$ ,  $p > 0.05$ ). Sin embargo, existe en todos los grupos, una significativa reducción en los niveles de consumo el día de la prueba en comparación con el promedio de línea base ( $F_{2,22} = 1.380$ ,  $p < 0.01$ ).

### *Análisis histológico de los Animales Lesionados*

El análisis de los cortes teñidos con colinesterasa fueron realizados en el microscopio de luz para ver si efectivamente había una reducción en la actividad de AchE, que se relaciona con la actividad de ACh. Como se muestra en la figura 9, efectivamente existen diferencias entre los animales a los que se les infundió la inmunotoxina en comparación con los sujetos del resto de los grupos.

De estos animales no se descartaron sujetos, debido a que en todos los animales del grupo IgG-Sap mostraron disminuciones tan dramáticas como la que se aprecia en la figura 9. Es importante hacer notar que la disminución únicamente se observa en la zona del hipocampo, sin que haya algún efecto significativo sobre el tálamo, la zona cortical, así como la amígdala.



Figura 9. se muestran cortes teñidos con colinesterasa, donde se muestra claramente que existen diferencias entre ambos grupos, notándose una menor tinción en los animales IgG-Sap, lo que muestra que la actividad de la AChE es significativamente menor que en los animales controles.

## Experimento 2

***Efectos de la infusión de TTX en el septum medial 15 minutos antes de la adquisición en la latencia de llegada al bebedero y el consumo de agua el día de la prueba.***

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de la inactivación de las células del ASM con TTX 15 min antes de la adquisición en el CAO.

Fueron habituadas a beber en la caja de olor 20 ratas, 5 días después fueron canuladas. transcurridos 4 días de recuperación posteriores a la operación se les tomó el registro de la línea basal de consumo de agua durante 5 días. Los animales fueron divididos en grupo experimental, los cuales recibieron la infusión de TTX 15 min antes de la adquisición y grupo vehículo, que recibió una infusión del vehículo (pH = 7.4), también 15 min antes del entrenamiento. Posteriormente se llevó a cabo el procedimiento conductual del CAO descrito anteriormente.

*Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba.*

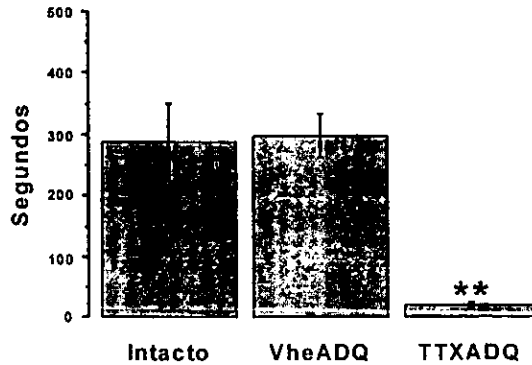


Figura 10. Gráfica que muestra la latencia de llegada al bebedero medida en segundos, donde se encuentran diferencias en el grupo TTXADQ con respecto al grupo control y VheADQ (\*\*;  $p < 0.001$ ).

En la figura 10, se muestran los resultados del tiempo de llegada al bebedero de los animales que formaron parte del grupo de animales intacto, los cuales muestran un incremento en el tiempo de llegada al bebedero, de la misma manera que sucede en el grupo de sujetos del grupo de lesión fantasma, a los que se les administró el mismo volumen y a la misma velocidad de infusión del vehículo que se utilizó para diluir la toxina del grupo experimental. Por otro lado, al grupo de animales a los que se les infundió TTX 15 minutos antes de la adquisición, no tienen un incremento en la latencia de llegada bebedero en comparación con los dos grupos de sujetos descritos anteriormente (Intacto = 289.33, ds= 154.12; VheADQ = 299.57, ds = 94.05; TTXADQ = 20.11, ds=19.07).

En el análisis estadístico del ANOVA se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $F_{2,19} = 21.82, p < 0.001$ ). Mientras que el análisis *post hoc* reveló que la diferencia estaba dada entre el grupo intacto y los animales que recibieron la infusión de TTX en la fase de adquisición ( $p < 0.001$ ), así como entre el grupo de lesión fantasma y los animales del grupo TTXADQ ( $p < 0.001$ ). Sin embargo, no fue el mismo caso cuando se compararon los grupos intacto y lesión fantasma. Lo anterior implica que existió una aversión al olor tanto del grupo intacto como de los animales con

lesión fantasma, no siendo así en el caso de los animales a los que se les infundió el TTX en el ASM 15 min antes de llevar a cabo el condicionamiento.

### *Consumo de agua el día de la prueba*

En la figura 11, se muestran los resultados del consumo de agua el día de la segunda exposición al estímulo condicionado. Donde se observan que los animales que pertenecen al grupo intacto como a los de lesión fantasma tienen una marcada reducción en el consumo de agua del 44.4%, ( $ds = 10.25$ ) y 47.53% ( $ds = 27.86$ ) respectivamente con respecto al promedio de línea base. Sin embargo, los animales a los que se les infundió el TTX en el ASM 15 min antes de la fase de adquisición, que mantienen un consumo del 92.69% ( $ds = 12.69$ ) muy similar con el promedio de línea base, existiendo una clara diferencia con respecto a los grupos controles.

El análisis estadístico (ANOVA) muestra que efectivamente como en el análisis anterior las diferencias que existen son altamente significativas entre los grupos ( $F_{2,19} = 15.44, p < 0.001$ ). Por otro lado la prueba estadística *post hoc* nos muestra que como en el caso previo también las diferencias existentes



están dadas entre el grupo Intacto (44.41% ds=10.26) y los grupos TTXADQ ( $p<0.001$ ) que tuvieron un consumo del 92.69% (ds=12.70), con respecto al promedio de línea base y los grupos de lesión fantasma (VheADQ) y los animales que recibieron la infusión de la toxina en el ASM 15 min antes de la adquisición. No existiendo diferencias ( $p>0.05$ ) entre los grupos Intacto y lesión fantasma (47.54% ds=27.09). Lo cual nos muestra que los animales que formaron parte del grupo TTXADQ que se les infundió en el ASM antes de la fase de adquisición, no tuvieron una aversión al olor de almendra, que es reflejado en los grupos controles en una depresión en el consumo de agua. Sin embargo los sujetos del grupo experimental no mostraron decremento significativo en el consumo de agua el día de la prueba.

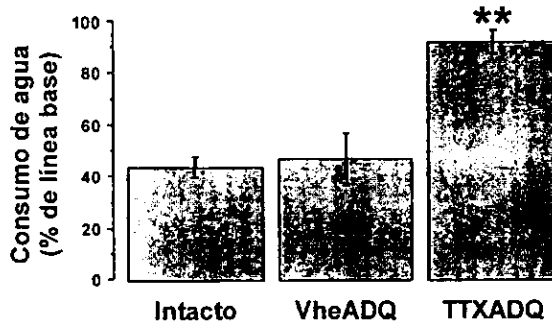


Figura 11. Se presentan los resultados del consumo durante la segunda presentación del estímulo condicionado, y que tuvieron su respectivo tratamiento 15 min antes de la fase de adquisición, mostrando el grupo TTXADQ diferencias (\*\*;  $p<0.001$ ) con respecto a los grupos intacto y lesión fantasma.

### Experimento 3

#### ***Efectos de la infusión de TTX en el septum medial 15 minutos antes de la prueba en la latencia de llegada al bebedero y el consumo de agua el día de la prueba.***

El objetivo del experimento 3 fue determinar el efecto de la inactivación por medio de la infusión de TTX en el ASM 15 min antes de la fase de prueba de el CAO, para determinar si en el experimento 2 solamente se afecta la fase de adquisición.

Se siguió el mismo protocolo del experimento 2, pero con la diferencia de que en este caso la infusión fue hecha 15 min antes de la fase de prueba, mientras que en el experimento anterior se llevó a cabo 15 min antes de la adquisición.

#### *Latencia de llegada al bebedero el día de la prueba*

Como se puede observar en la figura 12, no se encontraron diferencias significativas después de haber llevado a cabo el análisis estadístico ANOVA ( $F_{2,22}=0.390$ ,  $p>0.05$ ). Sin embargo, es posible detectar una ligera tendencia a incrementar el tiempo de los animales pertenecientes al grupo al que se dió el tratamiento farmacológico antes de la fase de prueba (396.70 ds=239.33); esto

en comparación con los animales que formaron parte del grupo del grupo intacto (289.33 ds=154.12) y lesión fantasma (351.22 ds=271.73). La mayor diferencia, como se aprecia, está dada entre el grupo intacto y el grupo experimental no obstante esta diferencia no alcanzó la significancia estadística ( $p>0.05$ ). De la misma manera no hay diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos del grupo lesión fantasma y los pertenecientes al grupo intacto ( $p>0.05$ ).

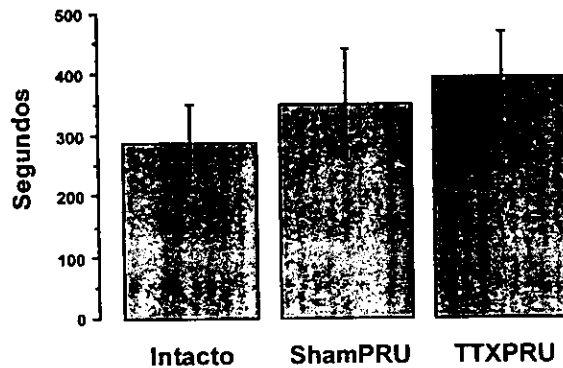


Figura 12. Se muestran los resultados de lo animales correspondientes al experimento 3. S muestra la latencia de llegada al bebedero, donde n se observan entre los grupos.

### Consumo de agua el día de la prueba

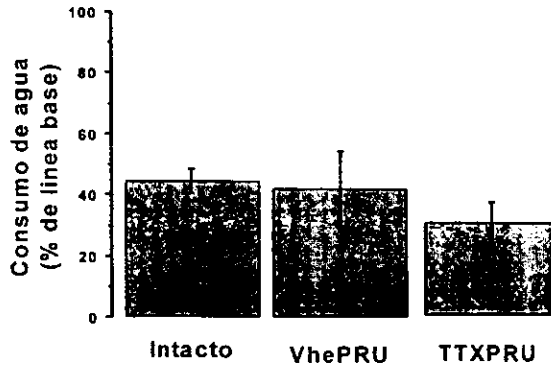


Figura 13. Resultados del consumo durante la segunda presentación del estímulo olfativo y que tuvieron su respectivo tratamiento 15min antes de la fase de adquisición. No mostrando diferencias entre ninguno de los grupos.

De la misma manera que en el análisis anterior sobre la latencia, tampoco se encuentran diferencias entre los grupos ( $F_{2,22}=1.521$ ,  $p>0.05$ ). Sin embargo, también se aprecia una ligera tendencia a incrementar la aversión al EC que los animales que formaron parte del grupo de tratamiento farmacológico 15 min antes de la fase de prueba (30.02%  $ds=22.72$ ); este incremento se ve reflejado en la disminución del consumo el día de la prueba con respecto a su promedio de línea base, sin llegar a ser esta diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo intacto (44.41%  $ds=10.26$ ), ni con los

animales del grupo al que se le produjo la lesión fantasma (41.51% ds=38.03), ver figura 13.

### *Análisis histológico de los animales canulados*

En este caso se llevó a cabo un análisis histológico para determinar si todas las infusiones de TTX fueron llevadas con éxito, por lo cual se descartaron del análisis los animales a los que se encontró que la infusión no fue en el lugar indicado, dejando solamente a los animales que mostraron imágenes como la que se observa en la figura 14. Después de este análisis se descartaron del experimento 2 y 3 un total 6 animales, 2 del grupo VehADQ, 1 del grupo TTXADQ, 2 del grupo TTXPRU y 1 del grupo VehPRU, es importante remarcar que estos animales fueron omitidos del análisis estadístico.



Figura 14. Corte coronal que muestra el trazo e el lugar adecuado del ASM, provocado por e inyector el día la infusión de TTX o el vehículo.

## **Capítulo 6**

### **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

El objetivo del presente trabajo fue evaluar y determinar la participación de la vía septo-hipocampal sobre tareas asociativas que son reguladas por la formación hipocampal, en específico aquellas en las que se ha propuesto que la ACh tiene un papel relevante en dichas tareas cognitivas. En los resultados obtenidos de la lesión selectiva de las células colinérgicas, indican que no hubo un cambio significativo tanto en la latencia de llegada al bebedero como en el consumo de agua. Lo que sugiere fuertemente que la lesión de las células que proveen la mayor parte de la ACh en el hipocampo no afecta de manera significativa la tarea del CAO, incrementando así el número de trabajos en los que se observa que las lesiones con la IgG-saporina, y como consecuencia una reducción de los niveles colinérgicos no afecta de manera significativa en algunos procesos cognitivos, a diferencia de como se había propuesto anteriormente. De la misma manera se hizo evidente que la inactivación de las células del ASM afectan la asociación del olor con el estímulo aversivo cuando se infunde la TTX en el ASM antes de la fase de adquisición, sin tener efecto cuando la aplicación de esta toxina es antes de la fase de prueba.

Por otro lado, los experimentos que se han reportado en donde se realizaron lesiones de la zona del cerebro basal anterior, en particular las que se llevan a cabo en el septum, han mostrado de diferentes maneras que se produce una disminución significativa de la actividad colinérgica de la zona del hipocampo (Meyer, Wenk, Ott y Wetzel, 1982).

Sin embargo, recordemos que la aceptación que tiene la hipótesis colinérgica sobre los procesos que se refieren a las tareas cognitivas es de gran relevancia, pues la reducción de este neurotransmisor en particular ha sido asociada a una deficiencia en los procesos cognitivos superiores. Existen evidencias que han dado lugar a la hipótesis colinérgica de las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con los procesos cognitivos, en específico aprendizaje y la memoria, en donde el papel que desempeña el cerebro basal anterior en estos procesos es de gran importancia, esto se ha confirmado en estudios clínicos en donde se observa una gran disminución de la actividad colinérgica en el área cortical en pacientes a los que presentaban síntomas de la enfermedad de Alzheimer (Bartus, Dean, Beer y Lippa, 1982; Mesulam, Geula y Morán, 1987). En este sentido se ha incrementado esta aceptación debido a que en trabajos de laboratorio se ha confirmado que la administración de diversas formas de agonistas colinérgicos pueden tener la capacidad de disminuir los

efectos de las lesiones con excitotoxinas de estructuras colinérgicas en el cerebro basal anterior (Bermúdez-Rattoni, Coburn, Fernández, Chávez y García, 1987). También las correlaciones clínicas en donde se encuentra que los pacientes a los que presentan síntomas clínicos de la enfermedad de Alzheimer si se les administran agonistas colinérgicos, se observa una recuperación temporal, reflejada en una disminución de los síntomas de la enfermedad (Mesulam, Geula y Morán, 1987). Sin embargo, es preciso señalar que esta mejoría es solamente temporal, además que se ha identificado que la enfermedad de Alzheimer no es causada únicamente por factores colinérgicos (Bartus, Dean, Beer y Lippa, 1982; Mesulam, Geula y Morán, 1987)

Es importante recordar que este no es el primer estudio donde se reporta que la infusión de la IgG-saporina no tiene efectos significativos sobre algunas conductas, cuando esta toxina es infundida en los centros colinérgicos del CAB. Sin embargo, no se había utilizado anteriormente un paradigma conductual de las características del CAO descritas previamente. No obstante esta disminución casi total de la actividad colinérgica del hipocampo y su carencia de efectos sobre esta tarea y otras que son dependientes de la formación hipocampal, se ha visto que cuando se ponen ratas en ambientes novedosos se incrementa la actividad colinérgica extracelular del hipocampo



durante el tiempo de habituación, el cual es considerado como una forma de aprendizaje (Thiel, Houston y Schwarting, 1998). Lo cual en principio es contradictorio con los resultados que se muestran en este estudio. Ahora bien por otro lado, también son consistentes con el CAS, el cual se relaciona con la corteza insular (CI). Estos trabajos por un lado muestran que la ACh incrementa su actividad en la CI cuando los animales adquieren este entrenamiento (Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1998; Miranda y Bermúdez-Rattoni, 1999). Contrastando con trabajos que muestran que la reducción casi absoluta o no registrable, no tiene efectos sobre esta tarea de aprendizaje, esta controversia que existe entre estos trabajos es posible que se deba a una redundancia en el sistema colinérgico, como bien se explica en el mismo trabajo de lesiones con inmunotoxinas en el NBM (Gutiérrez, Gutiérrez, Ramírez-Trejo, et al. 1999; Gutiérrez, Gutiérrez, Silva-Gandarias, Estrada, Miranda y Bermúdez-Rattoni. 1999), es decir que pudieran existir dos estructuras que envíen información (al hipocampo en este caso) de tal modo que cuando uno de los sistemas sufre una deficiencia el otro se encarga de proveer de ACh, sin embargo, falta realizar estudios para poder confirmar esta hipótesis, para determinar si existe una actividad similar entre el sistema basalo-cortical y el sistema septo-hipocampal, y si trabajan de manera diferencial dependiendo de las estructuras que involucre dicha tarea. Pues

como se menciono anteriormente, ambos sistemas cuentan con células colinérgicas que tienen una comunicación principalmente aferentes, y ambas tiene poblaciones celulares similares. Sin embargo, no se han realizado estudios en los que se pueda comprobar esta posible actividad del ASM y su probable analogía con el sistema basalocortical.

En apoyo a los resultados encontrados en los dos primeros experimentos, se había documentado ya desde hace bastante tiempo que las lesiones llevadas a cabo por transecciones de la fimbria fórnix producen graves efectos sobre distintas tareas conductuales (Alonso, HS y Amaral, 1996). Sin embargo, en estos estudios las lesiones son ejecutadas de manera muy inespecífica, debido a que los fármacos utilizados para realizar las lesiones, principalmente excitotoxinas destruyen células de manera inespecífica. No obstante esto, nos hace evidente la importancia que tiene esta vía para la adquisición de nueva información.

Posteriormente se llevaron a cabo lesiones del ASM en donde los daños eran cada vez más específicos haciéndolos con excitotoxinas, o lesiones electrolíticas, en los cuales se dañaba de manera más selectiva al área del ASM, produciendo impedimentos en la adquisición de nueva información, y

no en la evocación de información adquirida antes de realizar las lesiones. Estos datos son consistentes con los que se observan en los dos últimos experimentos que se realizaron en el presente trabajo. Lo cual confirma lo importante que significa que la conexión septo-hipocampal se encuentre intacta para su buen funcionamiento, y que los procesos de adquisición de información se lleven a cabo. Sin embargo también pone en relevancia la teoría que indica que la formación hipocampal es necesaria para la captura de información, más no de manera significativa para la evocación de esta información, por lo que estaríamos apuntando a pensar que el hipocampo no es una zona en donde se almacene información, sin embargo podría aparentemente ser una estación de paso para después de que se le de un determinado grado de relevancia o cierta carga de novedad al estímulo ese sea almacenado en otra zona del SNC, que aparentemente podía ser la corteza cerebral (Squire, 1987; Squire, Ojemann, Miezin, Petersen, Videen y Raichle, 1992).

Existen otros estudios que apoyan la importancia de esta vía para los procesos cognitivos. Son aquellos que se han llevado a cabo en modelos experimentales, inyectando la TTX en dosis similares en el ASM y sometiendo a los animales a tareas de aprendizaje y memoria también

dependientes del hipocampo, como lo es el laberinto de agua de Morris, teniendo efectos exclusivamente en la adquisición de nueva información, pero no en la evocación (Rashidy-Pour, Motaghd-Larijani y Bures. 1995; Rashidy-Pour, Motamedi y Motahed-Larijani, 1996), datos que son consistentes con los que se presentan en el presente trabajo.

Sin embargo es importante recordar que en esta zona no sólo se encuentran células colinérgicas, sino también existe un grupo considerable de células cuyo principal neurotransmisor es el GABA. Además, como se mencionó, en esta misma zona existen interneuronas, las cuales pudiesen tener algún efecto sobre la conducta. En este sentido es importante señalar entonces lo relevante del primer experimento, pues debido a la especificidad de la inmunotoxina se puede inferir que los efectos que se encuentran en el experimento 2 pueden deberse a la participación de otras células no colinérgicas que proyectan del ASM al hipocampo. Por otro lado el que no se encuentren efectos en aprendizaje en los animales lesionados con la inmunotoxina, podría deberse a la participación de células colinérgicas que no hayan sido lesionadas con la inmunotoxina, lo cual es poco probable debido a que la actividad de la AChE es significativamente menor en estos animales. Una segunda explicación es que exista alguna otra estructura que provea de ACh a la formación hipocampal,

aunque con niveles muy bajos, pero los necesarios para que se lleve a cabo el proceso asociativo. Además pudiera ser que las terminales sinápticas aun hayan tenido vesículas con ACh en el momento de la adquisición, la suficiente para aprender la tarea.

En este estudio vimos que de alguna manera puede existir una analogía entre los dos sistemas colinérgicos. Es decir lo que el NBM es a la corteza lo es el septum para el hipocampo. Esto debido a la similitud entre las estructuras y su proyección colinérgica, tanto como en el papel funcional en los procesos de aprendizaje y memoria. Sin embargo, existen todavía muchos estudios por realizar para poder determinar el papel de la ACh en los procesos de aprendizaje y memoria, y principalmente para determinar si existen otras estructuras que pudieran tener influencia en la tarea o en la actividad colinérgica.

## REFERENCIAS

- Alonso, J.R., HS, U. y Amaral, D.G. (1996). Cholinergic innervation of the primate hippocampal formation: II. Effects of fimbria/fornix transection. *J Comp Neurol*, 375, 527-551.
- Alvarez, E.O. y Banzán, A.M. (1986). Histamine in dorsal and ventral hippocampus. II. Effects of H1 and H2 histamine antagonists on exploratory behavior in male rats. *Physiol Behav*, 37, 39-45.
- Amaral, D.G. y Witter, M.P. (1985). Hippocampal formation. In G. Paxinos (Ed.), *The rat nervous system*. (pp. 443-497). Australia: Academic Press.
- Ambrogio, L., Baldi, E., Bucherelli, C. y Tassoni, G. (1994). Post-training nucleus basalis magnocellularis functional tetrodotoxin blockade effects on passive avoidance consolidation in the rat. *Behav Brain Res*, 61, 191-196.
- Bartus, R.T., Dean, R.L., Beer, B. y Lippa, A.S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217, 408-414.
- Baxter, M.G. y Gallagher, M. (1996). Intact spatial learning in both young and aged rats following selective removal of hippocampal cholinergic input. *Behav Neurosci*, 110, 460-467.
- Bermúdez-Rattoni, F. Coburn, K.L., Fernández, J., Chávez, A.F., y García, J. (1987). Potentiation of odor by taste and odor aversions in rats are regulated by cholinergic activity of dorsal hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav*, 26, 553-559.
- Book, A.A., Wiley, R.G. y Schweitzer, J.B. (1992). Specificity of 192 IgG-saporin for NGF receptor-positive cholinergic basal forebrain neurons in the rat. *Brain Res*, 590, 350-355.
- Bronzetti, E., Caporali, M.G., Felici, L., Niglio, T., Scotti, d.C. y Amenta, F. (1993). Muscarinic cholinergic subtypes in the rat frontoparietal cortex after ipsilateral lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Pharmacology*, 46, 301-307.
- Butcher, L.L., Oh, J.D., Woolf, N.J., Edwards, R.H. y Roghani, A. (1992). Organization of central cholinergic neurons revealed by combined in situ hybridization histochemistry and choline-O-acetyltransferase immunocytochemistry. *Neurochem Int*, 21, 429-445.
- Carlsen, J., De Olmos, J. y Heimer, L. (1982). Tracing of two-neuron pathways in the olfactory system by the aid of transneuronal degeneration: projections to the

- amygdaloid body and hippocampal formation. *J Comp Neurol*, 208, 196-208.
- Christensen, H., Maltby, N., Jorm, A.F., Creasey, H. y Broe, G.A. (1992). Cholinergic 'blockade' as a model of the cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Brain*, 115 (Pt 6), 1681-1699.
- Corkin, S. (1965). Tactually guied maze-learnig in man:Effects of unilateral cortical excisions and bilateral medial temporal lessions. *Neuropsychologia*, 3, 339-351.
- Corkin, S. (1968). Adquisition of motor skill after bilateral temporal lobectomy: Clinical course and experimental findings in H.M. *Neuropsychologia*, 6, 255-265.
- Dougherty, K.D., Salat, D. y Walsh, T.J. (1996). Intraseptal injection of the cholinergic immunotoxin 192-IgG saporin fails to disrupt latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. *Brain Res*, 736, 260-269.
- Dudai, Y. (1989). *The neurobiology of memory*. New York, USA: Oxford University Press.
- Dugas-du-Villard, X., Her, C. y MacLeod, P. (1981). Qualitative descriminationa of sweet stimuli: behavioral study in rats. *Chamical Senses*, 6, 146-148.
- Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annu Rev Psychol*, 48, 649-684.
- Everitt, B.J., Sirkiä, T.E., Roberts, A.C., Jones, G.H. y Robbins, T.W. (1988). Distribution and some projections of cholinergic neurons in the brain of the common marmoset, *Callithrix jacchus*. *J Comp Neurol*, 271, 533-558.
- Garcia, J. y Kimeldorf, D.J.K.R.A. (1955). Coditined aversion to saccharine resulting from expousure to gama radiation. *Science*, 122, 157-158.
- Gutiérrez, H. (1999). Sistema basal de proyección cortical: Modificación de funciones asociativas. Instituto de Fisiología Celular, México, UNAM.
- Gutiérrez, H., Gutiérrez, R., Ramírez-Trejo, L., Silva-Gandarias, R., Ormsby, C.E., Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Redundant basal forebrain modulation in taste aversion memory formation. *J Neurosci*, 19, 7661-7669.
- Gutiérrez, H., Gutiérrez, R., Silva-Gandarias, R., Estrada, J., Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Differential effects of 192IgG-saporin and NMDA-induced lesions into the basal forebrain on cholinergic activity and taste aversion memory formation. *Brain Res*, 834, 136-141.
- Kandel, E.R., Schwatzr, J.H. y Jessell, T.M. (1996). *Principles of neuroscience*. New York, USA: Elsevier sience publishing Co., Inc.
- Kim, J.S. y Levin, E.D. (1996). Nicotinic, muscarinic and dopaminergic actions in the

- ventral hippocampus and the nucleus accumbens: effects on spatial working memory in rats. *Brain Res*, 725, 231-240.
- Mandel, R.J., Gage, F.H. y Thal, L.J. (1989). Spatial learning in rats: correlation with cortical choline acetyltransferase and improvement with NGF following NBM damage. *Exp Neurol*, 104, 208-217.
- Marslen-Wilson, W.D. y Teuber, H.L. (1975). Memory for remote events in anterograde amnesia: recognition of public figures from newsphotographs. *Neuropsychologia*, 13, 353-364.
- Marston, H.M., West, H.L., Wilkinson, L.S., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1994). Effects of excitotoxic lesions of the septum and vertical limb nucleus of the diagonal band of Broca on conditional visual discrimination: relationship between performance and choline acetyltransferase activity in the cingulate cortex. *J Neurosci*, 14, 2009-2019.
- McMahan, R.W., Sobel, T.J. y Baxter, M.G. (1997). Selective immunolesions of hippocampal cholinergic input fail to impair spatial working memory. *Hippocampus*, 7, 130-136.
- McNamara, R.K. y Skeleton, R.W. (1993). Effects of intracranial infusions of chlordiazepoxide on spatial learning in the Morris water maze. I. Neuroanatomical specificity. *Behav Brain Res*, 59, 175-191.
- Mesulam, M.M., Geula, C. y Morán, M.A. (1987). Anatomy of cholinesterase inhibition in Alzheimer's disease: effect of physostigmine and tetrahydroaminoacridine on plaques and tangles. *Ann Neurol*, 22, 683-691.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I. y Wainer, B.H. (1983). Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*, 214, 170-197.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. y Levey, A.I. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, 10, 1185-1201.
- Meyer, U., Wenk, H., Ott, T. y Wetzel, W. (1982). [Behavioral investigations following cholinergic deafferentiation of the hippocampus by septal lesions in rats (author's transl)]. *J Hirnforsch*, 23, 1-12.
- Micheau, J., Destrade, C. y Jaffard, R. (1985). Physostigmine reverses memory deficits produced by pretraining electrical stimulation of the dorsal hippocampus in mice. *Behav Brain Res*, 15, 75-81.
- Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1998). Acetylcholine



- determination of microdialysates of fetal neocortex grafts that induce recovery of learning. *Brain Res Brain Res Protoc*, 2, 215-222.
- Miranda, M.I. y Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 6478-6482.
- Mizumori, S.J., Perez, G.M., Alvarado, M.C., Barnes, C.A. y McNaughton, B.L. (1990). Reversible inactivation of the medial septum differentially affects two forms of learning in rats. *Brain Res*, 528, 12-20.
- Morris, R., Kandel, E.R. y Squire, L.R. (1988). The neuroscience of learning and memory: cells, neural circuits and behavior. *Trends in neuroscience*, 11, 125-127.
- Naumann, T., Linke, R. y Frotscher, M. (1992). Fine structure of rat septohippocampal neurons: I. Identification of septohippocampal projection neurons by retrograde tracing combined with electron microscopic immunocytochemistry and intracellular staining. *J Comp Neurol*, 325, 207-218.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1982). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Sydney: Academic Press.
- Prado-Alcalá, R.A., Bermúdez-Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D.N. y Bacha, G. (1978). Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci*, 23, 889-896.
- Rashidy-Pour, A., Motaghd-Larijani, Z. y Bures, J. (1995). Reversible inactivation of the medial septal area impairs consolidation but not retrieval of passive avoidance learning in rats. *Behav Brain Res*, 72, 185-188.
- Rashidy-Pour, A., Motamedi, F. y Motahed-Larijani, Z. (1996). Effects of reversible inactivations of the medial septal area on reference and working memory versions of the Morris water maze. *Brain Res*, 709, 131-140.
- Rescorla, R.A. (1988). Pavlovian conditioning: It's not the way you think it is. *American Psychologist*, 43, 151-160.
- Rescorla, R.A. y Holland, P.C. (1982). Behavioral studies of associative learning in animals. *Annu Rev Psychol*, 64, 237-242.
- Ridley, R.M., Harder, J.A. y Baker, H.F. (1996). Neurochemical modulation of the hippocampus in learning, remembering and forgetting in primates. *Neurodegeneration*, 5, 467-471.
- Robinson, J.K. y Mao, J.B. (1997). Differential effects on delayed non-matching-to-position in rats of microinjections of muscarinic

- receptor antagonist scopolamine or NMDA receptor antagonist MK-801 into the dorsal or ventral extent of the hippocampus. *Brain Res*, 765, 51-60.
- Rye, D.B., Saper, C.B., Lee, H.J. y Wainer, B.H. (1987). Pedunculo-pontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol*, 259, 483-528.
- Spear, N.E., Miller, J.S. y Jagielo, J.A. (1990). Animal memory and learning. *Annu Rev Psychol*, 41, 169-211.
- Squire, L.R. (1987). *Memory and brain*. New York, USA:
- Squire, L.R., Ojemann, J.G., Miezín, F.M., Petersen, S.E., Videen, T.O. y Raichle, M.E. (1992). Activation of the hippocampus in normal humans: a functional anatomical study of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89, 1837-1841.
- Thiel, C.M., Huston, J.P. y Schwarting, R.K. (1998). Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience*, 85, 1253-1262.
- Thompson, R. (1980). Some subcortical regions critical for retention of an odor discrimination in albino rats. *Physiol Behav*, 24, 915-921.
- Wainer, B.H. y Mesulam, M.M. (1990). Ascending cholinergic pathways in rat brain. In E.M. Steriade y D. Biesold (Eds.), *Brain cholinergic systems*. (pp. 65-119). Oxford: Oxford University Press.
- Wenk, G.L., Stoehr, J.D., Quintana, G., Mobley, S. y Wiley, R.G. (1994). Behavioral, biochemical, histological, and electrophysiological effects of 192 IgG-saporin injections into the basal forebrain of rats. *J Neurosci*, 14, 5986-5995.
- Wiley, R.G., Oeltmann, T.N. y Lappi, D.A. (1991). Immunolesioning: selective destruction of neurons using immunotoxin to rat NGF receptor. *Brain Res*, 562, 149-153.

ESTR. TEST. EN DEBE  
ESTR. TEST. EN DEBE  
ESTR. TEST. EN DEBE