

251



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**EFFECTOS DE LESIONES SELECTIVAS
DE CA3 EN EL HIPOCAMPO
EN LA CONSOLIDACIÓN
DE LA MEMORIA ESPACIAL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**P R E S E N T A :
CLAUDIA JIMENA SANDOVAL ARROYO**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI**



2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología

**Efectos de Lesiones Selectivas de CA3 en el hipocampo en la Consolidación
de la Memoria Espacial**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN PSICOLOGIA

P R E S E N T A

CLAUDIA JIMENA SANDOVAL ARROYO

DIRECTOR DE TESIS : DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI

2002

Reconocimientos

Agradezco al Dr. Victor Ramírez-Amaya, por haberme encaminado a la investigación, y quién además de ser mi mentor, es mi amigo.

Agradezco al Dr. Federico Bermúdez Rattoni la confianza que ha depositado en mí para permitirme trabajar en su laboratorio estos años. Así mismo a la Dra. Martha L. Escobar Rodríguez, por haberme guiado para la culminación de este proyecto, a la Dra. Carolina Escobar Briones por el análisis objetivo de mi tesis, al Dr. David Velázquez Martínez y a la Mtra. Gabriela Orozco Calderon por sus sugerencias y comentarios a este trabajo.

Así mismo a Oreste Carbajal por su inmensa cooperación.

Papá y Mamá
Soy lo que soy gracias a ustedes

Alonso
Ya no eres tan pequeño, ya sabes que puedes hacer lo que te propongas

Rodrigo
Tu corazón es mi debilidad

Abuelo
Estas conmigo

Quica
Gracias por apapacharme

Primos
Monica, Paty, Giuliana, Rocio, Montse, Jorge, Marianajosé, Toño, Jorge, Gabriela, Paola, Marimar, Gaby, Rayo, Juan Carlos, Celeste, Nageli, Daniel, Jacquie, Pepé, Joaco, Luis Manuel, Ricardo.

Ana, Aida, Daniela, Diana.

Todos los del labo en especial a Isra que es una gran amiga y complice de trabajo, Miriam gracias por tu sonrisa, Vanesa, eres bien chida!, Luis, gracias por tu paciencia, muchas gracias por todas las risas que he compartido con todos ustedes Marisela, Ranier, Maribel, Leticia, Enrique, Sergio, Gina, Carlos, Oscar, y Sandra.

**Calmantes montes
alicates pintos
pajaros cantantes
caballos retintos
Federico montes
calavera no te atarantes**

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Memoria	2
Clasificación de la memoria	2
Localización de engramas	4
Memoria y cerebro	4
Tazo biológico de la memoria	5
Lóbulo temporal	6
Representaciones neurales del medio ambiente	9
Estructura del hipocampo	10
Clasificación de los campos del Hipocampo	11
Células de lugar	14
Aprendizaje espacial	15
Lesiones en el Hipocampo	16
Cambios funcionales y estructurales del sistema nervioso	24
Procesos plásticos	26
Planteamiento del problema	26
Método	29
Tarea Espacial en el laberinto de agua de Morris	32
Tarea Referencial en el laberinto de agua de Morris	33
Análisis histológico	34
Resultados	36
Análisis Histológico de lesiones inducidas con Kainato	36
Aprendizaje en el laberinto de agua con lesiones de CA3	38
Memoria espacial con lesiones de CA3	39
Aprendizaje de tarea referencial con lesiones de CA3	41
Discusión	43
El hipocampo y la memoria espacial	43
Lesiones en CA3 afectan la memoria pero no el aprendizaje	45
Conclusiones	51
Bibliografía	52

Resumen

Los eventos plásticos del sistema nervioso central, particularmente cambios en la función y en la organización de la sinápsis, se han propuesto como base de la instauración del aprendizaje y la memoria. Uno de los eventos plásticos más destacados que ha sido asociado con el aprendizaje y la memoria es la sinaptogénesis. En el hipocampo de roedores se ha observado sinaptogénesis de las fibras musgosas después de la inducción de epilepsia experimental. Asimismo se ha observado sinaptogénesis en las fibras musgosas del hipocampo en el área CA3 tras el sobrentrenamiento de ratas de una tarea espacial en un laberinto de agua de Morris. Se ha sugerido que estos cambios estructurales están relacionados con la memoria espacial a largo plazo.

Estos antecedentes nos llevaron a preguntarnos cuál es la importancia de CA3 para la adquisición y retención de una tarea espacial. Este trabajo consistió en lesionar CA3 en su parte más septal a diferentes tiempos antes y después de la adquisición de una tarea espacial, para después hacer una prueba de memoria. Como resultado de las lesiones realizadas antes del entrenamiento, los animales mostraron deficiencias modestas en la adquisición de la tarea espacial, pero las pruebas de memoria realizadas 7 y 30 días después de la adquisición mostraron deficiencias significativas. Los animales con lesiones realizadas 1, 8, y 21 días después de la adquisición mostraron también deficiencias en las pruebas de memoria. Las lesiones de CA3 no afectan la ejecución de una tarea referencial, pero afectan la parte espacial de esta tarea. Estos datos sugieren que CA3 del hipocampo es sumamente importante para la consolidación de la memoria espacial a largo plazo.

INTRODUCCIÓN

Memoria

La memoria es un gran complejo de eventos. Para recordar es necesario haber adquirido nueva información, almacenarla y más tarde, recordarla.

El estudio de la memoria data de 1885, año en que Ebbinghaus investigó qué cantidad de nueva información podía almacenar, y que tan rápido podía olvidarla. Sus estudios lo llevaron a memorizar series de sílabas sin sentido, utilizándose a él mismo como sujeto. Estudiaba series de sílabas, para más tarde observar cuántas había sido capaz de recordar. Encontró que la memoria se establece gradualmente, pues el recuerdo de un mayor número de sílabas dependía del número de veces que repasaba la serie (Anderson, 2001).

Clasificación de la memoria

En 1890, William James propuso una clasificación sobre la memoria, según la cual existen dos formas de establecimiento: memoria primaria y memoria secundaria, que más tarde para Atkinson y Shiffrin en 1968 serían memoria a corto y a largo plazo, respectivamente.

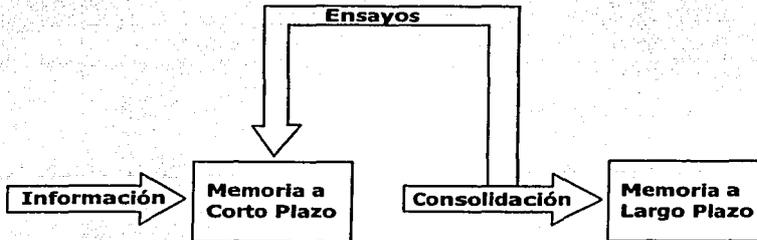


FIG 1 Modelo de memoria Atkinson y Shiffrin 1968

Según este modelo, la memoria a corto plazo fue considerada como un sistema de almacenamiento temporal con poca información; la memoria a largo plazo es el conjunto de información y vivencias que son persistentes a través del tiempo, su duración puede ser semanas, años e incluso pueden permanecer para toda la vida. Si la información permanece poco tiempo es por que esa información no es utilizada. Algunos autores consideran a esta última como memoria de trabajo (Atkinson y Shiffrin, 1968).

La clasificación temporal de la memoria genera confusiones. Es por eso que se ha llegado a la convención de dividir a la memoria en dos categorías, una basada en datos - o de corto plazo- que es un sistema que codifica la información entrante relacionada con el presente, en la cuál se da mayor énfasis a hechos concretos que ocurren dentro del contexto de ambientes específicos. Diversos autores han dado diferentes nombres a éste tipo de memoria, a saber: memoria episódica, memoria de reconocimiento, declarativa y taxonómica (Kesner, 1991). Por otra parte, la memoria basada en expectativas y referencias -o de largo plazo- se apoya en la información previamente almacenada y puede utilizarse como un conocimiento general del mundo.

Nader et al., (2000) proponen que la memoria se ha definido en términos de tiempo, es decir, poco tiempo después del aprendizaje la memoria se encuentra en un estado lábil (corto plazo), después la memoria entra a una forma estable (largo plazo). El proceso por medio del cual la memoria lábil reciente se establece como memoria a largo plazo se le llama consolidación.

Actualmente, se considera que la información que se encuentra en la memoria a corto plazo no se ha consolidado, por lo que es prácticamente imposible recordarla mucho tiempo después de su adquisición.

En 1900 Muller y Pilzecker propusieron que el establecimiento de la memoria no ocurre instantáneamente después de la adquisición, si no que se desarrolla gradualmente después del aprendizaje inicial; a este proceso lo llamaron consolidación (Squire, 1987).

Localización de engramas

La representación física o la localización de la memoria se conoce como engrama, también es conocido como trazo de la memoria.

A través del tiempo han existido dos visiones sobre dónde se encuentra localizado el engrama de la memoria. La primera visión es conexionista, determinista y localizacionista y se le atribuye a varios autores Gall, Ramón y Cajal, Hebb, y más recientemente por Kandel. La segunda visión surge como oposición al extremo localizacionismo de Gall. Entre varios, Lashley supone que la conducta y la actividad mental surgen de la actividad integral de todo el cerebro, sin importar el área de la corteza. La posición anti-localizacionista de Lashley fue expresada en el campo teórico de la Gestalt. Esta visión negaba la importancia de conexiones sinápticas individuales, y en vez de esto, proponía patrones de actividad eléctrica, dónde esta actividad es el principio de la circulación del funcionamiento cerebral (Squire, 1987).

Memoria y cerebro

Dentro de los descubrimientos mas influyentes relacionados con memoria y cerebro, quizá el más significativo fue el que Lashley, llevó a cabo al intentar de identificar una región del cerebro especial y necesaria para el establecimiento de la memoria en la ejecución de un

laberinto. Lashley realizó varias lesiones corticales de diferentes tamaños antes y después del aprendizaje. Encontró una correlación entre las lesiones corticales y la dificultad para adquirir y recordar la tarea (Squire, 1987).

El concepto de dos sistemas de memoria (corto y largo plazo) se derivó casi completamente del trabajo con sujetos normales. Ha surgido una idea similar, pero con pacientes con problemas de memoria. Por ejemplo, la capacidad de adquirir habilidades durante un estado de amnesia, o memoria de procedimiento, es una colección de capacidades aprendidas que pueden revelar la ausencia de recuerdos conscientes. Puede, de igual manera, ser expresada implícitamente a través de una ejecución durante la repetición de una experiencia de aprendizaje. Andar en bicicleta, subir las escaleras, y abrochar las agujetas, serían ejemplo de ello (Squire, 1987).

Traza biológico de la memoria

Es evidente que el trazo de la memoria involucra procesos bioquímicos en el cerebro. La proximidad psicobiológica del aprendizaje y la memoria queda manifiesta, por ejemplo, en el modo en como los acercamientos farmacológicos interfieren con mecanismos celulares relevantes en eventos plásticos relacionados con el aprendizaje y la memoria.

El hallazgo de que inhibidores de síntesis de proteínas no interrumpen la memoria a corto plazo, pero sí la memoria a largo plazo, apoya la idea de que hay, al menos, dos estados de memoria e indica que la síntesis de proteínas es requerida únicamente para la consolidación de la memoria a largo plazo. Los términos de memoria a corto y a largo plazo se refieren a categorías conductuales que no dependen de etapas de cambios sinápticos, pero sí de como sistemas del cerebro se organizan para expresar cambios sinápticos en la conducta.

La administración de inhibidores de síntesis de proteínas previa a un aprendizaje impide el recuerdo de la tarea, no así en el caso de la administración posterior al aprendizaje (Martínez, 1991).

En 1997 Nadel y Moscovitch consideraron que la consolidación de la memoria se refiere a que ciertos procesos neurales trascienden después de un registro inicial de información y estos contribuyen al establecimiento de la memoria. Es decir, la información inicialmente registrada en la neocorteza se encuentra unida a un trazo de memoria mediante diversas estructuras relacionadas con el lóbulo temporal medial y el diencéfalo.

Lóbulo temporal

Estudios con humanos han buscado caracterizar la amnesia relacionada con daños del lóbulo temporal, como un tipo de dificultad en la memoria declarativa o explícita. Este tipo de memoria se ejemplifica con el recuerdo de eventos cotidianos (McGaugh, 1995).

El paciente H.M sufrió la extirpación total de los lóbulos temporales por padecer una epilepsia intratable. La consecuencia de esta operación fue que el sujeto se volvió amnésico. Estudios psicológicos mostraron que el sujeto padecía una severa amnesia anterógrada, (incapacidad de crear nuevos recuerdos). Scoville y Milner en 1957 reportaron que después de la operación, el sujeto reportaba la fecha de hacía dos años atrás. Cuando la familia del paciente se mudó; el paciente era incapaz de recordar su nuevo domicilio; incluso su terapeuta tenía que presentarsele a diario, pues H.M. no recordaba quien era. Algunas excepciones fueron encontradas; para las habilidades motrices (memoria de procedimiento) H.M. era capaz de aprender a dibujar a través de un espejo y de identificar dibujos que sólo contenían información parcial.

Milner en 1968 describió las lesiones de H.M. que involucraban daños en la formación hipocampal que incluye al hipocampo, amígdala y regiones corticales, como las cortezas entorrinal, perirrinal y parahipocampal. Dada la naturaleza del daño amnésico de H.M., Corkin et al., (1997) realizaron un estudio de imagenología por resonancia magnética, encontrando que se habían extirpado por completo varias estructuras: corteza temporal, complejo amigdalóide, corteza entorrinal y al menos la mitad de la porción ventricular de la formación hipocampal. Junto con esto se clarificó la extensión del área extirpada, hallándose que en lugar de haber sido extraídos 8cm de tejido, solo fueron 5cm. A partir de esto; es claro que los 3 cm reminiscentes de la porción ventricular de la formación hipocampal no son suficientes para apoyar las funciones normales de la memoria.

El fenómeno de la amnesia retrógrada consiste en que información adquirida previamente a una lesión es perdida, es decir, hay incapacidad para recordar. Nadel y Moscovitch en 1997 asumen que esta consecuencia es un sustento para la consolidación de la memoria, porque muestra que lo que ha sido aprendido no permanece almacenado instantáneamente.

A pesar de que los estudios sobre el hipocampo han sido efectuados desde los años sesenta, aun no se entiende el papel que cumple esta estructura en el proceso de la memoria. Es por eso que han surgido varias preguntas como ¿Qué tipo de memoria hay en el hipocampo?, ¿Cómo se codifican las experiencias en el hipocampo?, ¿Puede la información procesada del hipocampo ser dividida en funciones?

Desde los primeros estudios de amnesia, seguidos a partir de daños en el hipocampo en humanos, es sabido que el hipocampo tiene un papel selectivo en la memoria (Scoville y Milner, 1957).

Los primeros hallazgos de la formación hipocámpal se focalizaron al lugar en el tiempo que tiene en la memoria e indicaban que el hipocampo y sus estructuras corticales asociadas no se requieren para la formación de la memoria a corto plazo ni para el recuerdo de memorias permanentes. Sin embargo el hipocampo es crítico para el establecimiento de la información a largo plazo. Más recientemente y tomando como ejemplo el caso del paciente H.M. ha sido claro que el papel del hipocampo se limita al establecimiento permanente de un tipo particular de memoria, mientras que otros tipos de aprendizaje ocurren en la ausencia de esta estructura. El hipocampo y ciertas estructuras del lóbulo temporal son necesarias para el establecimiento y la recuperación de la memoria, pero su contribución disminuye mientras ocurre la consolidación hasta que solo la neocorteza tiene la capacidad de sostener el trazo permanente de la memoria mediante su recuerdo o recuperación. Entonces, el hipocampo se observa como un sistema de memoria temporal, que se usa hasta que la consolidación ha sido llevada a cabo para que se establezca una memoria permanente en ciertas estructuras de la neocorteza (Nadel y Moscovitch, 1997).

Se ha progresado considerablemente en la distinción de los dominios entre la capacidad mínima y la suficiente de aprendizaje en humanos amnésicos, así como en animales con daño en el hipocampo. Derivado de lo anterior han surgido diferentes tipos de experimentos sobre la naturaleza de la distinción entre memoria dependiente del hipocampo y memoria independiente de esta estructura.

Se sabe que la memoria declarativa se adquiere a través de cada experiencia personal y la habilidad de retener esa información para más tarde recordar esas memorias episódicas, dependen del hipocampo. Una memoria episódica típica involucra el recuerdo de eventos

específicos. La memoria episódica media la capacidad de recordar una secuencia de eventos y lugares. En humanos la memoria declarativa se expresa conscientemente. De este modo se pueden resolver problemas haciendo inferencias (Bernúdez y Prado Alcalá, 2001).

Representaciones neurales del medio ambiente

En 1996 Bear propuso que el sistema nervioso tiene representaciones neurales del medio ambiente, es decir, las memorias de experiencias visuales pueden ser instauradas en la corteza visual, las experiencias auditivas se instaurarán en la corteza auditiva y así sucesivamente. Las memorias de eventos sensoriales son resultado de una modificación continua en las neuronas corticales activadas por cada evento. Esto lo considera después del siguiente ejemplo: se tienen tres neuronas; 1, 2, y 3 y cada una recibe impulsos sinápticos excitatorios que transportan información de tres estímulos distintos *A*, *B*, y *C*. Antes de un aprendizaje, las tres neuronas respondían similarmente a cada estímulo. Después del aprendizaje las sinápsis se han modificado, así que diferentes estímulos producen diferentes respuestas. Cada estímulo evoca una respuesta máxima en una neurona diferente, la distribución neuronal de un estímulo se encuentra distribuida en tres células, es decir el estímulo *A* evoca una respuesta larga en la célula 1, una respuesta moderada en la célula 2 y una respuesta débil en la célula 3. La representación del estímulo *A* es esta única combinación de respuestas a través de las células que se encuentran en esta red.

Este modelo sugiere una instauración distribuida del establecimiento de la memoria. En dónde, por ejemplo, la pérdida de la célula 1 dejaría una actividad proporcional en las

células 2 y 3 que sería única para el estímulo A. Se debe notar que la memoria presenta incrementos y decrementos en la efectividad sináptica. En principio, ambos cambios pueden contribuir igualmente a la formación de la memoria en redes neurales.

Los modelos de la distribución del establecimiento de la memoria sugieren que un correlato celular de memoria es dependiente de cambios en la experiencia en la selectividad de estímulos neuronales (Bear, 1997).

Estructura del hipocampo

El hipocampo en primates se encuentra dentro de los lóbulos temporales, mientras que en roedores hay menos neocorteza, por lo que el hipocampo ocupa prácticamente los hemisferios cerebrales. Recibe dos fuentes de información: entradas subcorticales, que proyectan del septum medial a través del fornix, y entradas neocorticales que convergen en la corteza entorrinal llegando al hipocampo por la vía perforante. Estas entradas traen consigo información sensorial. La corteza entorrinal recibe la mayoría de sus entradas de las corteza perirrinal y parahipocampal. La principal salida del hipocampo es el subiculum.

El hipocampo está formado por dos estratos compuestos morfológicamente por diferentes tipos de células que comprenden el giro dentado (GD), que consiste principalmente de células granulares y los Cuernos de Ammon (CA), que se encuentran formados principalmente de células piramidales. El giro dentado descansa inmediatamente por debajo de las células piramidales de la parte baja del cuerno de Ammon, esta región se le

llama hilus. Las subregiones de los cuernos de Ammon se numeran del 1 al 4 comenzando desde la región más superficial y moviéndose alrededor hacia el hilus. CA1 y CA3 son fáciles de identificar histológica y fisiológicamente, generalmente se considera a CA4 como parte de CA3 (Burges et al., 1999).

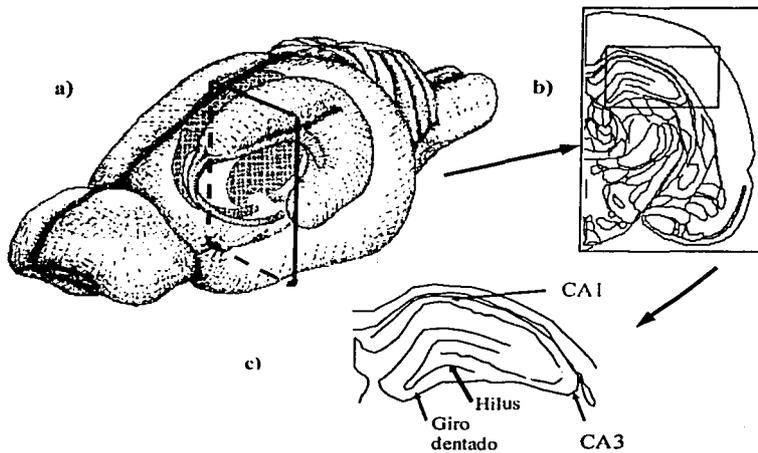


FIG 2 a) Localización de hipocampo en el cerebro, b) corte coronal, c) regiones del hipocampo

Clasificación de los campos del hipocampo

Lorente de No en 1934, dividió los campos de CA1 y CA3 con base en la apariencia de los patrones dendríticos y axonales a partir de sus preparaciones con Golgi. Dividió el campo de CA3 en tres subcampos: CA3c, localizado cerca del giro dentado, CA3b región medial de CA3, y CA3a que hace borde con CA2. Encontró ciertas diferencias en las células de estos subcampos, siendo su principal característica la existencia de las colaterales de Schaffer. En CA3c la mayoría de las células piramidales tiene una colateral, mientras que en CA3b sólo existe la mitad de la población, disminuyendo en CA3a en proporción con las anteriores (Ishisuka et al., 1990).

Los entradas del hipocampo son la corteza entorrinal y el subiculum. La corteza entorrinal está compuesta de subdivisiones mediales y laterales y recibe información sensorial multimodal altamente procesada, que viene de la corteza sensorial y se proyecta al giro dentado a través de la vía perforante. Más adelante, la información pasa del giro dentado a CA3 por las fibras musgosas y de CA3 pasa a CA1 por las colaterales de Shaffer (Burges et al., 1999).

La mayor parte de las entradas corticales hacia las células granulares del giro dentado y las piramidales de CA1 y CA3, utilizan glutamato como principal neurotransmisor. Este aminoácido interactúa con receptores glutamatérgicos NMDA y no-NMDA. Ambos tipos de células reciben influencias modulatorias GABAérgicas y colinérgicas que vienen del septum; así mismo recibe entradas noradrenérgicas del locus coeruleus y las entradas serotonérgicas que provienen de los núcleos del rafe.

CA1 no recibe entradas solamente de la vía perforante, sino también de las colaterales de Shaffer de las células piramidales de CA3 en donde la entrada es principalmente excitatoria y viene de la vía perforante hacia las células granulares (Borges et al., 1999).

Hay importantes diferencias entre CA1 y las células granulares. La población de las células de CA1 parecen ser susceptibles a daños, pues parecen ser sensibles a isquemias por hiperexcitabilidad. Son menos comunes los daños en las células granulares, debido a que muestran más afinidad al calcio, que las protege de la inestabilidad de los niveles intracelulares de calcio.

Las células de CA3 han sido estudiadas extensivamente y se encuentran bien caracterizadas, son poblaciones extensas de células piramidales y reciben aferencias de la vía perforante en la parte distal apical de sus dendritas, también reciben fuertes aferencias de las células granulares; sus axones forman las fibras musgosas que llegan a las dendritas proximales de CA3, las entradas de las fibras musgosas producen Potenciales Sinápticos Excitatorios (EPSPs siglas en inglés) cuando son directamente estimuladas, lo que se observa como alta amplitud sináptica en CA3. Es por eso que se requiere poca sumación para que las células de CA3 disparen (Schwartzkroin et al., 1990).

Las propiedades intrínsecas de CA1 y CA3 son diferentes, puesto que las células de CA3 tienen particular propensión a generar descargas cuando la célula se encuentra despolarizada. En cambio las células de CA1 producen trenes regulares de disparo cuando pulsos despolarizantes son inyectados intracelularmente. La región de CA3 se extiende hasta el hilus por lo que es difícil identificar su borde. La distinción entre las neuronas del hilus llamadas CA4 y las neuronas de CA3 se ha debatido por muchos años. Amaral en 1978 definió claramente los límites del hilus, encontrando variedad de células.

Se usa el término células musgosas para referirse a un campo específico de neuronas del hilus. Estas tienen cuerpos celulares multipolares y un árbol dendrítico extremadamente largo que se extiende hasta el giro dentado.

Al igual que las células de CA3, los axones colaterales de las fibras musgosas se ramifican ipsilateralmente con regiones dendríticas de sus células blanco. También, al igual que las células de CA3, las fibras musgosas mandan procesos axonales contralateralmente en la porción anatómica donde las proyecciones de CA3 hacen contacto con CA3 mismo con CA1 y también hacia el giro dentado (Amaral, 1978).

Existen evidencias que involucran la participación del hipocampo en la representación de contextos espaciales. Algunos estudios de lesiones muestran dificultad en la ejecución de tareas espaciales como el laberinto de agua de Morris (Jarrard 1995).

Células de lugar

Las neuronas en el hipocampo de roedores responden a la localización del animal en su ambiente, lo cual quiere decir que cada neurona responde cuando la rata se encuentra en un lugar particular. A esa respuesta se le conoce como campo de lugar y a las células de estos campos se les ha llamado células de lugar. O'Keefe y Dostrovsky en 1971 sugirieron que las células de lugar codifican la información en representaciones tipo mapas. Los campos de lugar se forman a minutos de que la rata explora por primera vez un nuevo ambiente y los mismos campos persisten por meses para lugares familiares. En nuevos ambientes los campos de lugar se forman y estabilizan rápidamente.

Inicialmente, las células se activan desordenadamente, y después de 5 a 30 minutos los campos de lugar se encuentran estables y se mantienen consistentes por el tiempo que sean

utilizados. O'Keefe y colaboradores en 1987 sugirieron que en ambientes que no sufran modificaciones las neuronas del hipocampo pueden mantener el mismo campo de lugar.

Anatómicamente, las células de lugar son células piramidales del hipocampo y se encuentran en las regiones de CA3 y CA1 desde su región septal hasta la temporal. (Thompson et al., 1990). Funcionalmente las células de lugar se caracterizan por su activación específica que va de acuerdo a la ubicación espacial del animal en su ambiente. Una célula de lugar es activada intensamente solamente cuando la cabeza de la rata se encuentra en un lugar específico del ambiente. Condición bajo la cual se forma un campo de activación, y cuando la cabeza se sale de este campo la tasa de activación es cero, formando una representación aloécéntrica (con respecto a la orientación y localización del animal en su ambiente). Se han encontrado neuronas con propiedades similares en otras regiones del hipocampo, pero el término células de lugar ha sido reservado para las principales células de CA3 y CA1 (Muller, 1996).

Pueden haber dos diferentes mapas para representar un solo ambiente y cada uno es utilizado por la experiencia más reciente de la rata. Por ejemplo, un mapa es utilizado si la rata se encuentra en un ambiente familiar en la luz y otro para el mismo ambiente pero en la oscuridad (Muller, 1996). O'Keefe y Nadel en 1978 sugirieron que las células de lugar son elementos de una representación cartesiana del medio, es decir, que el hipocampo contiene dos dimensiones en donde la activación de cada célula de lugar representa la presencia del animal en un escenario particular. Es posible que una célula de lugar se active para señalarle al animal, que en ese lugar en particular ya se había encontrado.

Las propiedades de las células de lugar de CA3 y CA1 son muy similares. La información de la posición del animal llega a CA1 directamente de la corteza entorrinal, de ahí la

información es llevada a las células de lugar de CA3. O'Keefe y Speakman (1987) reportan que claves espaciales distales predominan en la actividad de estas células.

La caracterización de las células de lugar confirma sin duda la implicación del hipocampo en la representación espacial.

Aprendizaje espacial

Dada la naturaleza y la complejidad de las funciones integrativas que median el aprendizaje espacial, se esperaría que un desplazamiento espacial satisfactorio depende de la interacción de múltiples sistemas corticales y subcorticales. Estos sistemas pueden ser afectados por cambios de entradas sensoriales y sistemáticamente ser distorsionados en cambios atencionales (Shapiro M, 2001).

Los campos de lugar reflejan dinámicamente la integración del organismo-ambiente. Los campos de lugar de diversas estructuras del cerebro son sensibles a cambios en el ambiente viso-espacial, por ejemplo en un laberinto radial. También hay claras diferencias de los campos espaciales a través de las estructuras en términos de la especificidad de la codificación de localización, es decir qué tan rápido responden a cambios en el ambiente.

El hipocampo representa el contexto espacial, lo que permite a los animales aprender sobre cambios importantes en el ambiente espacial externo, así como, aprender el significado de los cambios o poner atención a los cambios de claves constantes en el ambiente (Shapiro M, 2001).

Lesiones en el hipocampo

Las lesiones en el sistema hipocampal producen profundos déficits en algunas formas de nuevo aprendizaje y amnesia retrógrada graduada temporalmente cuyo contenido es material experimentado en un periodo de cierto tiempo previo a la lesión (Mc Clelland y Goddard, 1996).

Estos autores han propuesto que las experiencias difícilmente ocurren igual a la primera ocasión, aunque algunas experiencias involucran las mismas estructuras. A sí respuestas apropiadas responden a nuevos impulsos. La amnesia retrógrada graduada temporalmente representa la adquisición gradual de memorias a través de un sistema neocortical. Los pacientes reportan mayor dificultad de acceso al pasado reciente que al pasado remoto. Esto sugiere que la formación hipocampal no es un depósito permanente para la memoria. El sistema de memoria hipocampal establece nuevas memorias y las recupera mientras éstas se encuentran en establecimiento, así que pueden ser recuperadas por el sistema neocortical con otras memorias y experiencias. Todas las memorias están sujetas a un decaimiento gradual tanto del sistema hipocampal como del sistema neocortical. Estos dos sistemas codifican y mantienen la relevancia de las huellas de memorias a lo largo de la vida pudiendo persistir y permanecer establecidas en ambos sistemas.

Mizumori et al., en (1989) suponen que la contribución específica de la región de CA3 del hipocampo es almacenar las asociaciones de representaciones del ambiente las cuales involucraban la región CA3 con la formación de la memoria espacial.

La dificultad para recordar de H.M. (Scoville y Milner 1957) ha servido para desarrollar modelos animales para comprender como el cerebro procesa la memoria. Como resultado de diversas técnicas de lesión como aspiraciones, lesiones electrolíticas, lesiones

termoagulatorias se han obtenido daños no selectivos a estructuras específicas, extendiéndose a estructuras extrahipocampales (Mizumori et al., 1989).

Jarrard en 1995 extirpó solamente células específicas con la dosificación de ácido iboténico en 26 diferentes sitios del hipocampo, provocando daños en células piramidales en diferentes niveles del plano dorsoventral y con mínimos daños para las células granulares. Las pocas células piramidales sobrevivientes de dicha lesión se encontraron en mayor proporción en el hipocampo ventral. Más adelante, se realizaron pruebas de aprendizaje y memoria espacial y no espacial con un laberinto radial. Para el primer caso, los animales tuvieron severos problemas durante la adquisición y la prueba pues no fueron capaces de recordar la tarea, mientras que la segunda tarea fue adquirida sin dificultad al igual que su prueba. Para poder comprender el papel del hipocampo en el aprendizaje y la memoria es importante subrayar que ambas tareas fueron adquiridas previamente a la extirpación del hipocampo.

Esos experimentos muestran que el hipocampo no es necesario para habilidades dentro de ambientes no espaciales.

Mizumori et al., en 1989 demostraron que de la inactivación del septum medial resultaba en una reducción substancial de la promedio de disparo espontáneo de las células piramidales de CA3c, pero nada ocurría a las células de CA1. Estos datos resaltan la posibilidad de que el disparo de las células piramidales de CA1 sea determinado por un balance entre las respuestas excitatorias e inhibitorias entre las colaterales de Shaffer y neuronas inhibitorias.

Goldschmidt y Stewart, en 1982 descubrieron que la inyección de colchicina en el hipocampo causa daños preferentemente en células del giro dentado. Esta aproximación se ha utilizado para investigar su contribución dentro de las funciones del hipocampo de

aprendizaje y memoria. Las primeras lesiones mostraban cambios comportamentales, causadas por daños extrahipocampales o la combinación de lesiones hipocampales y extrahipocampales .

Mc Naughton et al., en 1989 mostraron que la destrucción de más del 75% de las células granulares del giro dentado con colchicina interfieren en la ejecución de diferentes tareas espaciales. En estas lesiones las células de lugar de CA3 y CA1 no se vieron afectadas, lo que indica que las proyecciones de las fibras musgosas hacia las células granulares de CA3 cumplen una función en los procesos plásticos asociados con el aprendizaje y no en los aspectos sensoriales relacionados a la percepción del lugar. Es decir, la información espacial que dependa de la actividad normal de células de lugar, no es transmitida a través de las células granulares. En la ausencia de células granulares la información espacial es conducida por otras vías. Es posible que la información espacial se transmita a través de la corteza entorrinal hacia la parte apical de las neuronas de CA3, que resultan ser las mismas que forman la vía perforante hacia el giro dentado. También es posible que la información espacial llegue a CA1 a través de la capa más profunda de la corteza entorrinal. Además también es posible que la información espacial llegue a CA3 por la capa II, por que no hay conexión en reversa de CA1 a CA3 y CA3 no tiene otras entradas de origen cortical.

Xavier et al., en 1999 produjeron 9 diferentes micro inyecciones en cada hemisferio para lesionar las células granulares del giro dentado y después exponer a las ratas a un tarea espacial; que consistía en encontrar una plataforma en un tanque de agua, (laberinto de Morris) realizándose posteriormente una prueba de memoria. Sus resultados histológicos muestran una destrucción masiva de las células granulares en las partes inferior y superior

tanto en el hipocampo ventral como en el dorsal. Es decir, la lesión fue provocada en el 90% del giro dentado. Aunque también mostraron daños en algunas células piramidales de CA1, ya que todas las células se encuentran conectadas (Moser et al 1995). Corteza entorrinal → giro dentado → CA3 → CA1 (circuito trisináptico), corteza entorrinal → CA3 CA1 circuito (bisináptico), y corteza entorrinal → CA1 circuito (monosináptico). La interrupción en cualquiera de estos circuitos provoca daños en las neuronas propias de cada circuito y en la proyección de sus vías. La colchicina provoca daños en el circuito trisináptico, y aún los efectos en los otros dos circuitos no han sido descritos claramente. Conductualmente las ratas tras la operación sufrieron déficit para encontrar la plataforma, pero fueron capaces de adquirir información relevante sobre la tarea es decir estrategias de orientación (Xavier et al., 1999). (ver figura 4)

El tamaño de la red de trabajo envuelto en aprendizajes dependientes del hipocampo puede ser determinado por lesiones parciales de esta estructura. Previamente se ha mostrado que pequeñas partes del hipocampo (aproximadamente el 25%) es suficiente para lograr un aprendizaje de memoria referencial en un laberinto acuático, siempre y cuando esa porción se encuentre en el hipocampo dorsal (Xavier et al., 1999).

En 1998, Moser y Moser sometieron a ratas un entrenamiento espacial en el laberinto de agua de Morris. Tres días después se realizaron las lesiones en tres grupos de animales, con cánulas implantadas directamente en el hipocampo. La lesiones fueron: totales (ácido iboténico), parciales (muscimol agonista e GABA A), y vehículo (solución salina). En el primer grupo se encontraban animales con lesiones en todo el hipocampo, la lesión iba desde el polo ventral hasta la región del núcleo geniculado lateral. Después de haber

aprendido a encontrar una plataforma en el tanque de agua; las ratas no nadaban cerca de donde antes había estado la plataforma. Sólo las ratas que habían sufrido cirugía vehículo (sin fármaco) nadaban más tiempo en lugares cercanos en donde la plataforma se había encontrado. Después de esto se sometió a los tres grupos a un nuevo aprendizaje dentro en el laberinto de agua, de donde se obtuvo que las ratas lesionadas parcialmente y las vehículo, realizaban la tarea, mientras que aquellas lesionadas completamente no mostraron preferencia espacial durante los ensayos, es decir no aprendían pues no nadaban cerca de donde se encontraba la plataforma.

El hallazgo mas relevante realizado por Moser y Moser en 1998 fue que la evocación o recuerdo de la tarea espacial no es afectada por lesiones de la mitad ventral del hipocampo, por que las lesiones ventrales no tienen efecto en la codificación o incorporación de nuevas tareas. Esto dicta que el hipocampo ventral puede jugar una parte central de la evocación o recuerdo y no para la adquisición. Al menos un 70% del hipocampo se requiere para recuperar una tarea espacial que se adquiere con un cerebro intacto. El recuerdo de la tarea era satisfactorio solo si las reminiscencias pertenecían al dominio de la parte dorsal del hipocampo. Dado que la extensión de la lesión es muy amplia, es probable que la dificultad de haber nadado cerca del lugar de la plataforma, se deba también a las amplias lesiones ventrales pues llegaban hasta la parte dorsal. Sugiriendo que pequeñas partes del hipocampo dorsal es suficiente para adquirir información para que guíe satisfactoriamente al animal a la meta.

Una agrupación local de las células de lugar en el hipocampo dorsal cubre usualmente la mayoría de las partes de un ambiente espacial, y la localización del animal en éste ambiente puede ser predicha por el patrón de disparo de éstas células (Wilson y McNaughton, 1993). De cualquier modo en este experimento se encontró que el recuerdo era

impedido por pequeñas lesiones en el hipocampo, lo que sugiere que pequeños conglomerados de neuronas no son suficientes para recordar la representación de un lugar útil para llegar a la meta.

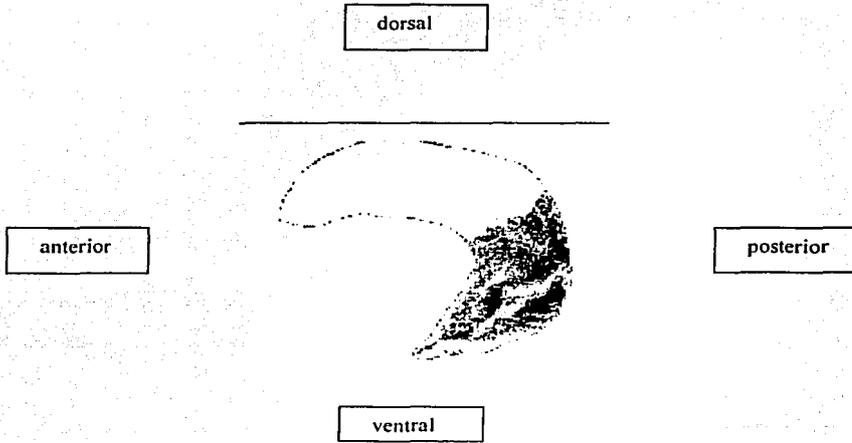


FIG3 Representación tridimensional del hipocampo; en negro porción ventral lesionada. Moser y Moser 1998

La integración de señales de diferentes niveles del hipocampo pueden depender de la extensión longitudinal de las conexiones de la estructura (Amaral y Witter, 1989). Además la dirección del promedio de las vías excitatorias del hipocampo que se da en el plano transversal de las conexiones excitatorias e inhibitorias son colaterales. Por otra parte tanto las células de las fibras musgosas y las de piramidales de CA3 tienen extensas fibras asociativas que se proyectan en dirección longitudinal (Amaral y Witter, 1989). Estas

colaterales recurrentes proveen un sustrato en el cual las múltiples entradas distribuidas en el eje dorsoventral pueden ser asociadas durante el aprendizaje espacial (Hasselmo, 1995).

La retención de la memoria espacial requiere la integridad de fracciones amplias del tejido del hipocampo, junto con las bifurcaciones de las proyecciones de la corteza entorrinal hacia el giro dentado y el hipocampo, lo que sugiere que la memoria espacial se establece a través de un patrón altamente distribuido (Steffenach et al., 2002).

Muchos de los impulsos excitatorios del hipocampo se organizan en planos transversales, las fibras musgosas en la parte hilar de CA3 y las células piramidales de CA3 tienen axones colaterales y cubren porciones significativas de sus campos. Cada célula piramidal de CA3 tiene contacto con $\pm 4\%$ de las células piramidales de éste mismo campo. Es posible que la conectividad interna recurrente sea suficiente para permitir una autoasociación, o una asociación entre elementos individuales de patrones de estímulos eferentes. Las conexiones CA3-CA3, y las CA3-CA1, permiten que la información se establezca rápida y eficazmente (Steffenach et al., 2002).

Steffenach, et al (2002) probaron el papel de las conexiones longitudinales de CA3 en una tarea espacial de laberinto de agua de Morris, después de haber cortado las fibras recurrentes de CA3 tanto transversal y longitudinalmente bilateralmente en CA3 dorsal. De igual modo realizó lesiones excitotóxicas con ácido iboténico. Los animales con cortes transversales tuvieron una ejecución inferior a las de los otros grupos. Empleando Fluoro Jade -B, que colorea la degeneración de las células; se encontró degeneración en la parte posterior de las lesiones en CA1 y CA3, observándose principalmente en el stratum

oriens y en el stratum radiatum dado que son inervados por las células piramidales de CA3. La tinción dejó de observarse abruptamente en el borde CA1-subiculum, lo que sugiere que las células que inervan el subiculum no fueron dañadas. Los animales lesionados con iboténico causaron descargas de glutamato en las células granulares, provocando la destrucción de células piramidales de CA3 y del hilus en el hipocampo dorsal.

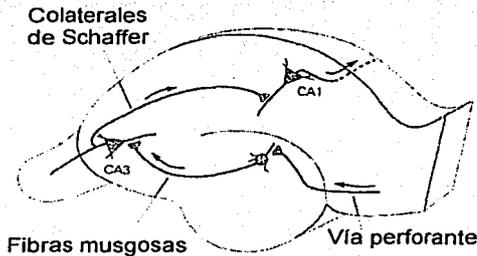


FIG 4 Circuito Trisináptico

Cambios Funcionales y Estructurales del Sistema Nervioso

Estudios de neuronas en el hipocampo y en la neocorteza han revelado cambios funcionales cuando los sujetos aprenden a reconocer o discriminar un estímulo.

La memoria depende de la experiencia; las redes neuronales y en particular las sinápsis no pueden ser determinadas genéticamente. Estas evidencias han permitido la discutir sobre la

posible modificación entre las sinápsis que son la base fisiológica del establecimiento del aprendizaje y la memoria. Cada red neuronal requiere de vastas localizaciones de sinapsis, las interrogantes comienzan desde aquí, es decir ¿ cómo es que las redes ajustan su potencia para que den como resultado el establecimiento de la memoria?

Muchos efectos reflejan que los procesos perceptuales son el intercambio interactivo y dinámico a través de muchas estructuras del sistema neural (Mizumori et al., 1999).

Procesos plásticos

Los procesos plásticos, cambios estructurales y de eficiencia en el sistema nervioso, han sido caracterizados como la base de la instauración del aprendizaje y la memoria. (Bailey y Kandel, 1993).

La epilepsia experimental (kindling) es un modelo que puede ser definido como un desarrollo progresivo de lesiones electroencefalográficas producido por estimulación repetida (Godard et al., 1969). Tras haber realizado kindling Sutula et al., en 1998 encontraron que se generó una reorganización en las sinápsis en la vía de las fibras musgosas. Un ejemplo de estimulación no epileptogénica es el inducir trenes de estimulación de alta frecuencia provocando una potenciación a largo plazo (PLP). La PLP es un aumento en la eficiencia sináptica de aferentes excitatorias, que se puede definir como un incremento estable de la amplitud de respuestas postsinápticas generada en una vía neural después de la activación de esa vía debida a una estimulación tetánica.

Se ha identificado que periodos de intensa actividad en la corteza y en vías hipocampales producen incremento de potenciales postsinápticos que pueden perdurar por largos periodos, horas, e incluso meses (Bliss y Lomo, 1972).

El aumento en la eficiencia sináptica en el hipocampo es un modelo importante para estudiar mecanismos celulares de plasticidad neuronal, reorganización de circuitos y sobre todo procesos de aprendizaje y memoria.

Después de haber inducido PLP en el hipocampo se han encontrado un aumento en espinas sinápticas y también nuevas sinápsis en las fibras musgosas. La sinaptogénesis es el incremento de conexiones sinápticas, derivando en una mayor eficiencia en la comunicación entre las neuronas. La sinaptogénesis de las fibras musgosas se observaron después de una actividad fisiológica no patológica, lo que sugiere que estas nuevas sinápsis pueden ocurrir en condiciones de activación constante de las células granulares (Escobar et al 1997). El aumento funcional en sinápsis de la vía perforante y de CA1 trae como consecuencia nuevas espinas en dendritas postsinápticas e incluso nuevas sinápsis neuronales (Engert y Bonhoeffer, 1999). Esto evidencia que el brote de nuevas espinas es dependiente de actividad neural (Adams et al., 1997).

Existe vasta evidencia que sugiere que cambios sinápticos pueden ocurrir en el hipocampo después a un aprendizaje espacial. Moser en 1998 observó ramificaciones de dendritas después de haber expuesto a roedores a un ambiente enriquecido, lo que llevó a la fácil adquisición de la tarea espacial en el laberinto de agua de Morris.

El papel mnemónico del hipocampo es particularmente claro en tareas en donde los sujetos necesitan recordar su localización. Por ejemplo saber llegar a un sitio en particular, utilizando claves espaciales como referencia.

Ramírez-Amaya et al., en 1999 observaron que animales que han sido sobre entrenados (5 días de entrenamiento) en el laberinto de agua de Morris ejecutan considerablemente mejor una tarea espacial que aquellos que sólo han sido entrenados un día; es decir conforme hay más días de entrenamiento, la latencia de llegada a la plataforma va decreciendo. Esto sugiere que se produce una buena consolidación de la memoria de la tarea espacial, pues al ser probadas una semana y un mes después, los animales recuerdan la localización de la plataforma.

Como consecuencia del sobreentrenamiento se encontró sinaptogénesis en el hipocampo en la región CA3 en el stratum oriens, observada con microscopía electrónica en donde se encuentran mayor cantidad de botones sinápticos de las fibras musgosas. Aunque no se descarta la posibilidad de que se hayan formado nuevas sinápsis en el stratum lucidum. Esta es una evidencia que apoya la consolidación de la memoria espacial a largo plazo, la cual podría estar estrechamente relacionada con la eficiencia sináptica, en el hipocampo.

Estos cambios pueden ser utilizados como un modelo para investigar mecanismos que involucrados en la codificación de la memoria espacial a largo plazo .

En el 2001 Ramírez et al., después de haber sometido a un sobre entrenamiento en la tarea del laberinto acuático, encontraron una correlación directa entre la sinaptogénesis y la formación de la memoria espacial a largo plazo. Apoyándose con un estudio de densitometría en el área de CA3 se encontró que la sinaptogénesis ocurre principalmente en la parte más septal del hipocampo dorsal. Adicionalmente a otros grupos se les administró MK 801 un bloqueador de receptores a NMDA, y se encontró que este fármaco afectó la formación de la memoria solamente cuando se administraba antes y no después de la adquisición de la tarea, lo que se reflejó durante las pruebas de una semana y

un mes después del entrenamiento. En este grupo a diferencia de los controles no se encontró incremento de proyecciones de las fibras musgosas, aunque también fueron sobre entrenados. Esto sustenta que el sobrentrenamiento es responsable de la inducción de la sinaptogénesis, en regiones específicas. Para el grupo en el cual la administración fue después del entrenamiento no se encontró deficiencias en las pruebas de memoria, lo que sugiere que estos animales consolidaron normalmente.

La sinaptogénesis de las fibras musgosas hipocampales resulta un modelo interesante para estudiar los mecanismos y funciones de los cambios estructurales en el sistema nervioso asociados con el aprendizaje y la memoria. Tenemos entonces que entender si este cambio estructural es realmente un sustrato fisiológico de la formación de la memoria, de esta manera podremos dilucidar el papel fundamental de la sinaptogénesis de las fibras musgosas hipocampales de CA3.

Planteamiento del problema

Para poder realizar lesiones específicas en cualquier región de sistema nervioso, es necesario conocer bien las características fisiológicas de la región que se quiere destruir selectivamente.

Gran parte de la neurotransmisión que existe en el hipocampo es glutamatérgica. El glutamato es el neurotransmisor que produce más excitabilidad en el cerebro, sus efectos están mediados por la interacción de sus receptores localizados tanto en la presinapsis como en la postsinapsis, e incluso en glia. Los receptores a glutamato pueden inducir liberación de neurotransmisores o modular la respuesta de la sinapsis al siguiente estímulo. Los

receptores a glutamato pueden ser clasificados como metabotrópicos, que contienen una proteína G como segundo mensajero, y los ionotrópicos que permiten el flujo directo de cationes. Los receptores ionotrópicos a glutamato forman una familia compleja con receptores NMDA y no NMDA.

En contraste con los receptores no NMDA, los NMDA son eficazmente activados por NMDA, los cuales se encuentran bloqueados por concentraciones de Mg^{2+} y requieren la presencia de glicina para estar completamente activos. Dentro de los receptores no NMDA se encuentran los AMPA o Kainato, estos tienen una permeabilidad menor a Ca^{2+} que los receptores NMDA.

La región de CA3 contiene receptores a kainato en el stratum lucidum que corresponde a las fibras musgosas, de esta modo se crean sinapsis entre las fibras musgosas y las células piramidales de CA3 (Malva, J.O., et al 1998).

En éste caso en particular, se busca conocer qué papel juega CA3 en la adquisición y recuerdo de la ubicación espacial de una plataforma en el laberinto de agua.

Se establecerá qué tan indispensable es la región de CA3 del hipocampo para la adquisición y recuerdo a largo plazo en la tarea del laberinto de agua, por medio de lesiones selectivas en esa región con kainato.

MÉTODO

Sujetos: 40 ratas macho de la cepa Wistar con peso entre 310 y-360 gr. Fueron separados en cajas de acrílico individualmente y sometidos a un ciclo invertido de luz / oscuridad, encendido a las 8 am y apagado a las 8 pm 12/12 horas con una temperatura de $23^{\circ} C \pm 1^{\circ} C$. Con acceso al agua y alimento *ad libitum*.

Cirugía: Los animales fueron anestesiados profundamente con pentobarbital sódico (50mg/kg). Se llevó a cabo una cirugía estereotáxica estándar. Con una bomba de microinyección (ColeParmer) se administró bilateralmente kainato (0.125mg/ml disuelto en PBS 0.1M), 1.5 μ l a una tasa de 0.50 μ l/min. Por medio de una microjeringa Hamilton de 10 μ l conectada a un inyector que fue insertado en el cerebro de las ratas con las siguientes coordenadas $AP -3.5 \pm 1.2 DV -3.8$. Se mantuvo el inyector dentro del cerebro por un periodo de 2 minutos después de la infusión del kainato, para permitir la difusión del fármaco. Una vez que la administración terminó, la incisión fue suturada y los animales recibieron un tratamiento de penicilina durante 7 días para evitar infecciones.

No se observó comportamiento epiléptico ni convulsivo después de la lesión, pero en algunos casos los animales estaban extremadamente sensibles y respondían anormalmente cuando fueron manipuladas, y esos animales fueron descartados para los análisis subsiguientes (5% del total de los animales).

Los animales fueron divididos de acuerdo al tiempo en que fueron lesionados. (ver figuras 5 y 6)

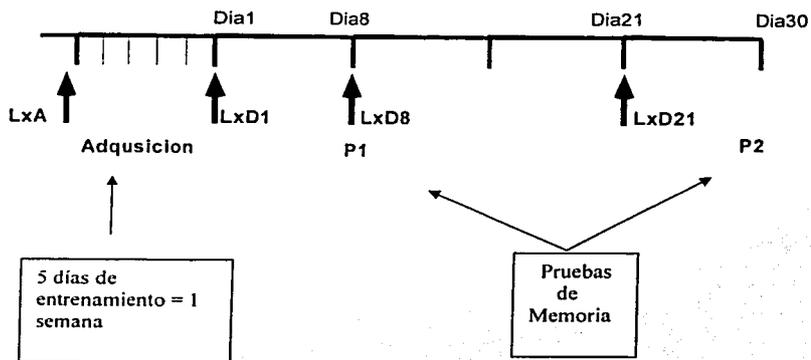


FIG 5 Protocolo experimental

Grupos	Tratamiento	Tarea	No ratas
LxA	Lesión antes de la Adquisición	Espacial	6
LxD1	Lesión 1 día después de la Adquisición		6
LxD8	Lesión 8 días después de la Adquisición		10
LxD21	Lesión 21 días después de la Adquisición		11
Ctrl	Control 5 días entrenado sin cirugía		5
VxA	Vehículo 1 día antes de la Adquisición		5
VxD1	Vehículo 1 día después de la Adquisición		5
VxD8	Vehículo 8 días después de la Adquisición		6
VxD21	Vehículo 21 días después de la Adquisición		11
R-LxA	Lesión antes de la adquisición		Referencial
R-Ctr	Control entrenado 5 días sin cirugía	13	

FIG 6 Grupos experimentales, y tipo de tarea.

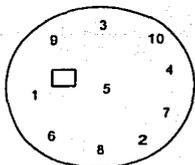
Tarea espacial de Laberinto de Agua de Morris

El laberinto es un tanque de 1.50 m de diámetro y 1m de alto, localizado en una habitación que tiene diferentes claves espaciales. El tanque es llenado con agua potable 1cm por debajo de una plataforma cuadrada de acrílico de 10cm por lado.

El entrenamiento se realizó durante 5 días con 10 ensayos cada uno, que comienzan de 10 diferentes lugares respectivamente como en Nerard 1996. Se dejó nadar 60s al animal, hasta llegar a la plataforma, en donde permaneció 30s, y después permanecía otros 30s en una caja de descanso. Si el animal no llegaba a la plataforma en el tiempo límite (60s), se le mostraba con la mano hacia donde debía dirigirse. La latencia de la llegada del animal a la plataforma fue registrada por un sistema de contraste, *Cromotrack de San Diego Instruments*. La latencia de llegada a la plataforma se utilizó como un indicador de la ejecución conductual

Los animales fueron probados 7 y 30 días después de la última sesión de adquisición. Las pruebas consistieron en dejar al animal en la posición uno, pero sin plataforma, por un tiempo de dos minutos. Se tomó en cuenta el número de veces que cruzaban sobre el lugar donde estaba ubicada la plataforma (cruces) y el tiempo que tardaban en llegar a ese lugar (latencia).

Puntos de inicio



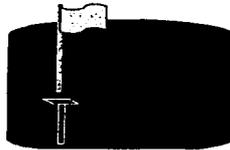
Laberinto de agua de Morris



Tarea referencial en laberinto de Agua de Morris

Esta tarea consiste en introducir al animal en diez diferentes puntos de comienzo para localizar la plataforma que se encontraba marcada con una bandera, la cual estaba cubierta con cera para evitar que la rata se subiera. El periodo de nado fue igualmente registrado con el mismo sistema utilizado para la tarea espacial.

Se realizaron dos diferentes pruebas al 7° y 8° días después del entrenamiento la primera llamada prueba con clave, consistió en introducir al animal al tanque con la plataforma sumergida suficientemente para no poder ser encontrada y la plataforma fue colocada en el mismo lugar que para el entrenamiento. Y la segunda prueba consistió en introducir a los animales al tanque quitando la plataforma y la bandera, llamándosele prueba espacial.



Plataforma con clave

Análisis histológico

Después de los procedimientos conductuales, los animales fueron profundamente anestesiados con pentobarbital sódico y sus cerebros fueron procesados para la técnica histológica Nissl. Fueron rebanados en cortes de 40 micras y montados en portaobjetos.

Los animales con lesiones unilaterales (5%) o con lesiones completas del hipocampo (estas lesiones incluyeron todo el hipocampo, giro dentado, CA1 y CA3) (10%) fueron descartados.

Todos los cerebros con lesiones bilaterales de CA3 fueron clasificados de acuerdo a niveles septo-temporales, y se obtuvieron 6 niveles. Después 3 cerebros lesionados bilateralmente y 3 cerebros vehículo fueron escogidos aleatoriamente para contabilizar las células.

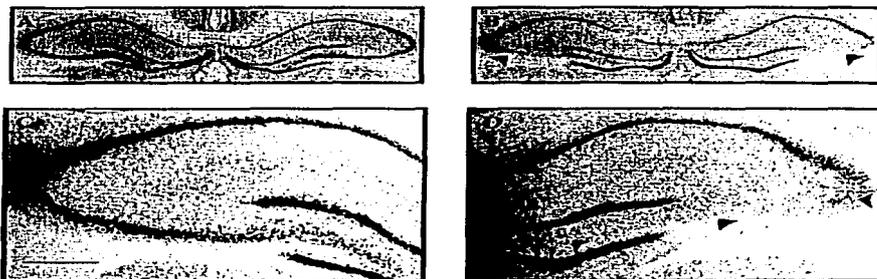


FIG7.- Fotomicrografía de tejidos coronales del Hipocampo tomadas con 1X (arriba) y 4X (abajo). Vehículo (A,C) y animales lesionados (B,D). La flecha indica la lesión en CA3 distal, medial y proximal. Las barras negras en las imágenes de la izquierda son 1mm (arriba) y .05mm (abajo) de longitud.

El análisis consistió en contar el número de células sobrevivientes, tanto granulares como piramidales (de acuerdo a su tamaño, forma, y coloración y cuando no cumplieran con éstos criterios no eran tomadas en cuenta) en el stratum piramidale o granular de 7 diferentes regiones a través del eje transversal del hipocampo.

Se utilizó la clasificación descrita por Ishizuka, Weber y Amaral (1990) CA1 distal, CA1 medial, CA1 proximal, CA3 distal, CA3 medial, CA3 proximal y el giro dentado.

Después de haber contado las células del área del stratum piramidale, la densidad de las células fue obtenido usando un programa de análisis de imágenes de computadora (Scion Image corp.). El análisis de la densidad de las células también se realizó en la Corteza entorrinal en un nivel septotemporal de aproximadamente -6.5 de bregma en la región medial de esta porción, para este análisis se tomaron en cuenta al azar 3 secciones seriales, 3 cerebros lesionados bilateralmente y 3 cerebros vehículo.

Análisis Estadístico

Se realizaron ANOVA de una vía y ANOVA de medidas repetidas con Fisher.

Todas las ratas vehículo se comportaron de manera similar y fueron compactadas para simplificar la presentación de los datos.

Resultados

Análisis Histológico de las lesiones inducidas por Kainato

El análisis histológico revela que las lesiones afectaron completamente a la región de CA3, (ver figura 7 y 8) principalmente en el polo dorsal del hipocampo con un menor pero significativo decremento de células en CA1 distal en la parte temporal de esta región. Las ratas lesionadas muestran un decremento significativo de células en comparación con las vehículo, en CA1 distal en los niveles 4 ($F_{1,10}=7.59$ $p<0.05$) 5 ($F_{1,10}=6.65$ $p<0.05$) y 6 ($F_{1,10}=10.338$ $p<0.01$). Además, CA1 medial y proximal muestran un decremento moderado de células en algunos niveles, el efecto no se observa de manera consistente y no se encuentran efectos estadísticamente significativos.

Por otro lado se observa un robusto decremento celular en CA3 distal en los niveles más septales, pero se encontraron diferencias estadísticas en todos los niveles septotemporales. Se encontraron diferencias entre las lesionadas y las vehículo en el nivel 1 ($F_{1,10}=41.463$ $p<0.01$); nivel 2 ($F_{1,10}=76.313$ $p<0.01$), nivel 3 ($F_{1,10}=167.98$ $p<0.01$), nivel 4 ($F_{1,10}=33.991$ $p<0.01$), nivel 5 ($F_{1,10}=24.583$ $p<0.01$), y nivel 6 ($F_{1,10}=14.08$ $p<0.01$).

De cualquier modo es notable que en los niveles más temporales la densidad de las células es menor, se encontraron diferencias entre los niveles 1,2, y 3 vs. 5 y 6 ($p,0.05$) de las ratas lesionadas. En CA3 medial la lesión también es evidente a través del eje septotemporal, la comparación entre las lesionadas y las vehículo muestran diferencias estadísticamente significativas en el nivel 1 ($F_{1,10}=599.451$ $p<0.01$), nivel 2 ($F_{1,10}=141.38$ $p<0.01$), nivel 3 ($F_{1,10}=124.57$ $p<0.01$), nivel 4 ($F_{1,10}=75.570$ $p<0.01$), nivel 5 ($F_{1,10}=31.610$ $p<0.01$) y nivel 6 ($F_{1,10}=5.768$ $p<0.05$), el gradiente de las células lesionadas es menor

hacia las coordenadas mas temporales, se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los niveles 1,2 y 3 vs. 5 y 6 ($p < 0.05$) de animales lesionados. El efecto mas fuerte de lesión se encontró en CA3 proximal, que también es llamado Ca3 c CA3 hilar. La lesión se expande a través de todo el eje septotemporal, se encontraron diferencias entre las lesionadas y las vehículo en todos los niveles. El nivel 1 ($F_{1,10} = 103.142$ $p < 0.01$), nivel 2 ($F_{1,10} = 63.349$ $p < 0.01$) nivel 3 ($F_{1,10} = 76.608$ $p < 0.01$), nivel 4 ($F_{1,10} = 90.873$ $p < 0.01$), nivel 5 ($F_{1,10} = 450.324$ $p < 0.01$) y nivel 6 ($F_{1,10} = 32.88$ $p < 0.01$) con una mínima sobrevivencia celular en el nivel temporal, sugiriendo que la lesión se pudo haber extendido hacia regiones mas temporales de esta región, se encontraron diferencias en los niveles 1, 2 vs. 6. En el giro dentado la densidad de las células no cambio con la administración de kainato.

La densidad de las células en la corteza entorrinal también fue medida dado que se ha argumentado que lesiones en el hipocampo inducen lesiones en regiones extrahipocampales (Jarrard, 1983). De cualquier modo no se encontraron diferencias en la densidad de las células en la corteza entorrinal entre los animales lesionados y los vehículo.

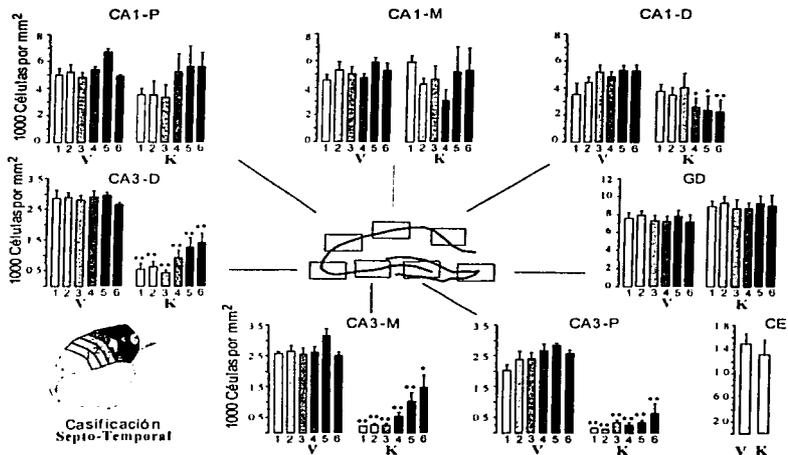


Fig8.- La gráfica representa la densidad de las células en diferentes regiones del eje transversal (distal-proximal), a través de los niveles septotemporales (escala gris, va de lo más septal 1 a la región más temporal 6) del hipocampo dorsal de animales vehículo (izquierda) y animales lesionados con kainato (derecha)

Aprendizaje en el Laberinto de Agua con lesiones de CA3

La ejecución de los animales intactos durante el primer día de entrenamiento muestra una clara mejoría en la tarea espacial, observándose en la latencia de llegada a la plataforma. Esta mejoría también es evidente hasta el tercer día, lo que sugiere que el aprendizaje ocurre en los tres primeros días, y después de esto los animales pasan al sobreentrenamiento. (ver figura 9)

Durante la adquisición los animales lesionados, su ejecución fue tan buena como la de los animales vehículo. Aunque los animales lesionados mostraron latencias mayores durante los primeros tres días de entrenamiento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas después de haber realizado una ANOVA de medidas repetidas, pero se encontraron diferencias a través de los ensayos durante los cuatro primeros días (día 1 $F_{9,18}=13.59$ $p<0.01$; día 2 $-F_{9,18}=6.047$ $p<0.01$; día 3 $F_{9,18}=4.01$ $p<0.01$; día 4 $F_{9,18}=5.016$ $p<0.01$) sin interacción.

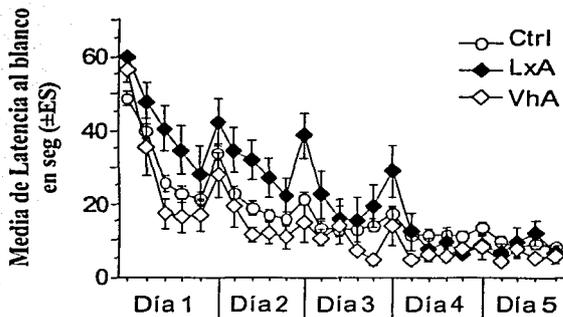


Fig 9 Ejecución de animales controles, vehículo, y lesionados con kainato durante 5 días de Adquisición de la tarea espacial. Cada punto es el promedio de dos ensayos de entrenamiento (1y 2, 3 y 4 etc.)

Memoria Espacial con lesiones de CA3

A pesar de que los animales recibieron lesiones antes de la adquisición, aprendieron igual que los controles después de 5 días de entrenamiento. La prueba de memoria revela que el recuerdo es afectado, esto también se observó con animales que tuvieron lesiones después del entrenamiento. Se realizó una ANOVA de una vía del número de cruces en el lugar de la plataforma, y mostró diferencias entre los grupos ($F_{5,59}=3.78$ $p<0.01$) y el análisis post hoc mostró diferencias entre LxA y LxD1 en comparación con los controles ($p<0.01$).

Respecto- la latencia al área blanco y se encontraron resultados similares ($F_{5,59}=5.11$ $p<0.01$) y las pruebas post hoc muestran diferencias entre LxA y LxD1 en comparación con los controles ($p<0.01$). Es notable observar que hasta éste punto las lesiones LxD8 y LxD21 no se habían realizado.

Para la prueba realizada 30 días después del entrenamiento, los grupos LxD8 y LxD21 ya habían sido lesionados. Estos resultados muestran que todos los animales lesionados en CA3 presentan deficiencias en la memoria espacial, a pesar de que las lesiones se realizaron después de la adquisición. La prueba de ANOVA mostró un efecto de la lesión en el número de cruces en área de la plataforma ($F_{5,57}=4.809$ $p<0.01$) y el análisis post hoc muestra que los grupos LxA, LxD1, LxD8, y LxD21 ejecutaron peor la prueba que los animales controles ($p<0.01$). Así como en el día 7, la latencia de llegada a la plataforma mostró efectos similares. Se realizó una ANOVA ($F_{5,57}=8.59$ $p<0.01$) y los análisis post hoc mostró diferencias significativas entre LxA, LxD1, LxD8, LxD21 en comparación con el grupo control.(ver figura 10)

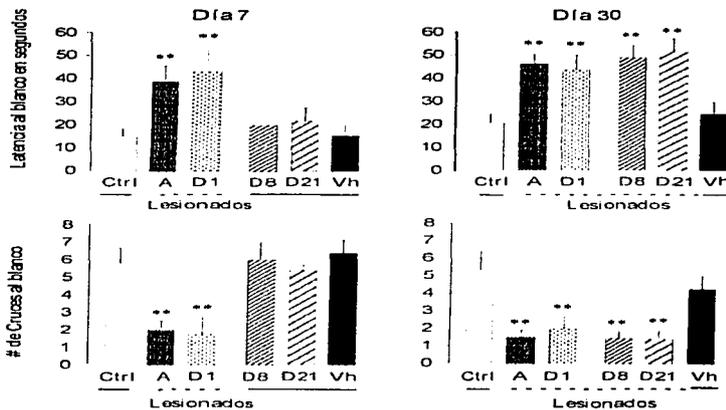


Fig 10.- Ejecución de los animales en las pruebas de memoria espacial realizadas 7 y 30 días después del último día de entrenamiento. CON: Controles; A: Lesión antes de la Adquisición; D: Lesión realizada 1 día después de la Adquisición; D8 : 8 días después de la Adquisición; D 21 Lesión después de 21 días de la Adquisición ; Vh: Animales vehículo agrupados de cada condición. *p<0.05, **p<0.001.

Aprendizaje de la tarea referencial con lesiones de CA3

Durante la adquisición la latencia de llegada a la plataforma fue decrecientando a través de los días. La ejecución de los animales con lesión mostraron claramente que los animales eran capaces de localizar la plataforma visible, al igual que los animales controles (ver figura 11) . Se realizó una ANOVA de medidas repetidas y mostró diferencias a través de los ensayos durante el día 1 ($F_{9,9}=12.20$ $p<0.01$), día 2($F_{9,9} = 2.26$ $p<0.05$), día 3

($F_{9,9}=2.56$ $p<0.01$) día 4 ($F_{9,9} = 2.14$ $p<0.05$) y día 5 ($F_{9,9} =3.31$ $p<0.05$) con diferencias entre los grupos en el tercer día ($F_{1,17} =6.87$ $p<0.01$) y en el día 4 ($F_{1,17} =13.44$ $p<0.05$) sin interacción significativa. Pensamos que las diferencias en la adquisición durante los días 3 y 4 puede estar relacionado con un componente espacial de la tarea referencial durante las pruebas.

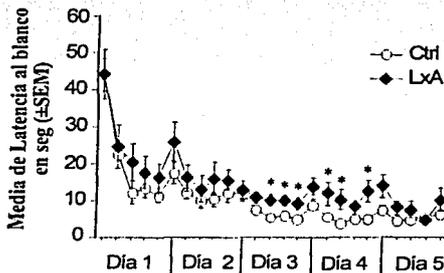


Fig11.- Adquisición de tarea referencial. Cada punto es promedio de dos ensayos. Ctrl: control; LxA animales lesionados antes de la Adquisición

Una semana y un mes después del entrenamiento, se realizaron dos pruebas. En la primera la plataforma estaba sumergida 10 cm, pero una bandera se localizaba justamente arriba de la plataforma y se le llamó referencial. Al día siguiente, se realizó una prueba espacial en la cuál tanto la plataforma como la bandera se quitaron. En la prueba referencial que se llevó a cabo 7 días después de la adquisición no se encontraron diferencias entre los animales lesionados y los control. De cualquier modo al día siguiente durante la prueba espacial, los animales control cruzaron significativamente mas veces por el área de la plataforma que los animales con lesión ($F_{1,17} = 8.409$ $p<0.01$) esto sugiere que un componte espacial se

presentó en la ejecución de los animales control corroborando que las lesiones dificultan la ejecución de la memoria espacial. En la prueba de 30 días después de la adquisición la ejecución de ambos grupos no mostró recuerdo del lugar de la plataforma, y no se encontraron diferencias. (ver figura 12)

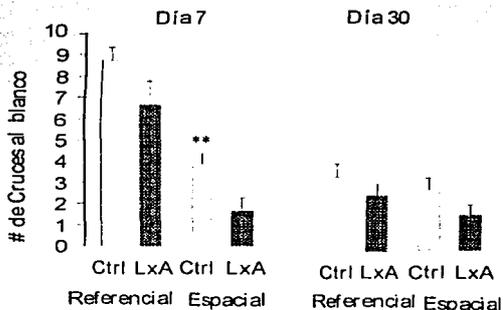


Fig.12.- Los animales entrenados en tarea referencial, fueron probados el 7° y 8° días y a los 30° y 31° días después de la Adquisición en una prueba referencial (con bandera sin plataforma, 7 y 30 días) y en una prueba espacial (sin bandera y sin plataforma 8 y 31 días después de la Adquisición. Ctrl: controles; A: Lesión antes de la Adquisición * $p < 0.05$

Discusión

El hipocampo y la memoria espacial

En este experimento encontramos que la retención de la memoria espacial depende críticamente de la integridad del área CA3 de hipocampo. Los resultados son consistentes con las investigaciones que demuestran dificultad en el aprendizaje espacial, después de lesiones excitotóxicas de CA3, pero se le añade a esta región la importancia de poder recordar este tipo de memoria.

Eichenbaum en el 2001 sugiere que el hipocampo tiene un papel fundamental en la consolidación. El hipocampo se activa tanto en el recuerdo de eventos recientes como de eventos más lejanos, suponiendo que el involucramiento del hipocampo es a largo plazo. La hipótesis de la consolidación hace predicciones solamente a cuándo el hipocampo es requerido y no para cuándo es activado. Es posible que el hipocampo se active normalmente durante cualquier tipo de recuerdo, pero para el caso de los eventos lejanos la neocorteza se puede activar sin requerir del hipocampo.

La adquisición de la tarea espacial en animales lesionados, estuvo mínimamente afectada. Sin embargo la ejecución en las pruebas 7 días y 30 días después de la adquisición estuvieron severamente afectadas. Las lesiones afectaron las pruebas aunque las lesiones fueron realizadas tres semanas después de la adquisición, esto sugiere un importante papel de CA3 en la memoria espacial a largo plazo. Esto quiere decir que la consolidación de la ubicación de la plataforma fue deficiente.

La consolidación de la memoria tiene una función adaptativa, en dónde ciertos procesos endógenos son activados por la experiencia para modular la fuerza de la memoria (McGaugh, 2000).

Se han realizado diversos tipos de lesiones inespecíficas en el lóbulo temporal (Jarrard, 1983) que han involucrado al hipocampo, pero en este experimento se realizaron lesiones específicas con dosis bajas de kainato en células de CA3, principalmente en la región septal del hipocampo dorsal, aunque hacia la parte más temporal la lesión disminuyó gradualmente. En el eje transversal la región más afectada fue la región de CA3 proximal (proximal con respecto al giro dentado) también llamada CA3 hilar, siguiéndole las regiones mediales y distales de CA3. Las células de CA1 mostraron un menor pero significativo efecto en una región temporal. Se sabe que las proyecciones proximales de

CA3 tienen conexiones con la región distal de CA1 (Ishuka et al 1990). Dado que la región proximal de CA3 es la más afectada por el kainato, es posible que esto sea la razón de la poca lesión en CA1. El giro dentado y el resto del hipocampo, se encontraron en condiciones anatómicas normales.

La evaluación de las células en la corteza entorrinal no reveló efectos de lesión. Los animales utilizados en la tarea espacial, no mostraron anomalías conductuales (hiperactividad) después de las lesiones con kainato. Esto sugiere que la dosis de kainato no provocó efectos colaterales.

Lesiones en CA3 afectan la memoria pero no el aprendizaje

Lesiones parciales del hipocampo pueden producir deficiencias en la memoria espacial, sin afectar la adquisición de la tarea espacial (Moser y Moser, 1998). Más recientemente se ha observado que la destrucción selectiva de CA3 también puede afectar el recuerdo sin afectar la adquisición (Roosendaal et al, 2001). En este experimento se encontraron resultados similares. Las lesiones selectivas de CA3 producen un ligero y transitorio efecto durante la adquisición de la tarea espacial.

Si bien se encuentran diferencias entre los grupos en el primer día de entrenamiento, los animales con lesiones en CA3 mostraron una clara curva de aprendizaje, y en los siguientes días del entrenamiento se comportaron similar a los animales control. Sin embargo, en las pruebas de memoria los animales lesionados en CA3 antes de la adquisición, mostraron deficiencias en la memoria espacial. Dado que las pruebas se realizaron 7 y 30 días después del entrenamiento, se puede argumentar que las lesiones afectaron la memoria espacial a

largo plazo. De acuerdo con esto se ha observado que lesiones completas del hipocampo dorsal no afectan ni la adquisición ni la memoria espacial a corto plazo, pero produce una clara dificultad en el recuerdo de la memoria espacial cuando las pruebas fueron hechas 6 días después del entrenamiento (Ramos, 2001). Steffenach (2002) encontró que la destrucción de las proyecciones de CA3 afectan tanto el aprendizaje espacial como la memoria espacial destruyendo células de CA3 con ácido iboténico, pero estas lesiones afectaron una pequeña región de CA3 dorsal, dejando sin afectar el polo septal. Esto puede sugerir que la parte septal del CA3 tiene un papel sumamente importante en la memoria espacial.

Los resultados de este experimento involucran a CA3 en la memoria espacial a largo plazo, en donde lesiones producidas después de la adquisición, producen clara dificultad en la prueba de memoria realizada 7 y 30 días después.

Además cuando las lesiones se realizaron después de la primera prueba de memoria, la dificultad se encontró en la segunda prueba realizada a los 30 días, a pesar de que los animales mostraban memoria espacial intacta en la prueba de 7 días. Como se ha descrito, las lesiones de CA3 impiden el recuerdo de la localización de la plataforma, pero depende el momento en que se llevó a cabo la lesión. Es importante puntualizar que el efecto de las lesiones podría afectar tanto el recuerdo como destruir la información previamente establecida en el hipocampo. Aunque los datos de este experimento no pueden responder a estas preguntas, y de acuerdo a los mecanismos propuestos para la función del hipocampo es más probable que lo que esté siendo afectado sea el recuerdo, por que se ha propuesto que el almacenamiento de la información ocurre en la corteza cerebral (Samsonovitch y Mc Naughton, 1997, Redish y Touretzky 1997; Mizumori et al, 1999; Dobioli et al, 2000) .

La pregunta que surge es si el hipocampo se encuentra involucrado temporalmente en memoria episódica o tiene una función a largo plazo.

Aun existe el debate de qué tanto se encuentra involucrado el hipocampo en la memoria espacial (Rosenbaum et al 2001). Se ha propuesto que el hipocampo es un sitio transitorio establecer información (Squire y Alvarez, 1995; Bontempi et al, 1999) sugiriendo que la consolidación de la memoria puede tomar desde días o hasta años para establecerse. Esta idea apoya la evidencia que muestra que las lesiones en el hipocampo producen déficits en memoria de tareas que se adquirieron tempranamente, pero no mucho tiempo antes de que la lesión ocurriera (Squire et al, 2001). A este efecto se le conoce como amnesia retrograda graduada temporalmente. Para algunos teóricos este tipo de amnesia es una evidencia del papel del hipocampo como un sitio transitorio de memoria, lo que permite que la memoria se consolide en la corteza después de largos periodos de tiempo.

En estos experimentos, no encontramos ningún efecto de amnesia retrógrada graduada temporalmente, al menos un mes después de la adquisición, lo que puede ser explicado de diferentes formas. Primero es posible que el traslado de la información del hipocampo a la corteza no pueda ser la propia interpretación de amnesia retrógrada graduada temporalmente.

Nadel y Bohot en el 2001 argumentan que este tipo de amnesia pueda representar el desarrollo de nuevas estrategias para resolver tareas, las que consistirían en adquirir información bajo o después de la reactivación, puedan sumar nuevos elementos al establecimiento de la memoria permitiendo el desarrollo de nuevas estrategias conductuales independientes del hipocampo. Rosenbaum et al., (2001) puntualizaron la importancia de distinguir entre memoria semántica y episódica en humanos, o libres de contexto y

memoria dependiente del contexto en animales, al buscar efectos graduados temporalmente en lesiones. Se encuentra a la amnesia graduada temporalmente en pruebas de memoria semántica libres de contexto, donde las medidas de memoria episódica o memoria dependiente de contexto, producen pérdida extensa de memoria con un gradiente amplio. Para el caso de este experimento; el entrenamiento en el laberinto acuático de Morris, es posible que se haya producido una memoria dependiente de contexto, evitando el desarrollo de nuevas estrategias que requerirían la integridad del hipocampo para recuperar esa información espacial.

La tarea referencial, no solo mostró que los animales lesionados se encontraban en buenas condiciones conductuales para ejecutar esa tarea, sin claves espaciales, además nos dice que aún pequeños componentes espaciales fueron adquiridos en esta tarea y también fueron afectados por lesiones de CA3. Esta podría ser la razón de por que se encontró un pequeño pero significativo efecto de lesión en la adquisición de la tarea referencial.

Observamos que los animales necesitan al menos 3 días de entrenamiento para consolidar la tarea espacial y después presentan una buena ejecución de la prueba a los 7 y 30 días después del entrenamiento (Ramírez-Amaya et al., 2001). Hemos considerado que los animales que tienen 4 o 5 días de entrenamiento son animales sobre entrenados, (Ramírez-Amaya et al., 1999), así que es posible pensar que el sobreentrenamiento produce una memoria a largo plazo perdurable. De acuerdo con esto, entrenar bajo estas condiciones es posible que produzca una memoria independiente de la integridad del hipocampo, de acuerdo con la teoría de transitividad, más que la memoria adquirida con pocos entrenamientos que requerirá del hipocampo para la consolidación de la memoria.

Encontramos déficits en el recuerdo de la memoria espacial cuando las lesiones fueron realizadas después de la adquisición de una tarea espacial por sobreentrenamiento. El efecto de las lesiones después del entrenamiento en la memoria espacial sugiere que CA3 es necesario no solamente para consolidar la memoria espacial, sino también para recordar representaciones espaciales adquiridas previamente. Esto es consistente con la idea de que el papel de CA3 es recuperar la información espacial de la corteza para compararla con representaciones previamente adquiridas con la representación adquirida en ese momento. Esto confirma que la plasticidad de CA3 es relevante para la recuperación de memoria espacial a largo plazo (Mizumori et al., 1999; Doboli et al., 2000).

El contexto espacial esperado se refiere a la información que refleja conocimiento de ambientes previos con la relación espacial de claves salientes en un ambiente familiar y el aprendizaje de estrategias apropiadas para resolver tareas y la información concerniente a las consecuencias de áreas espaciales de un ambiente.

Las células de lugar cambian casi inmediatamente en respuesta a alteraciones en el ambiente espacial y pueden identificar el contexto actual. Las células de lugar pueden mantener el mismo campo de lugar por algún tiempo pero eventualmente cambiarán después de algunos minutos de exposición al ambiente nuevo, por ejemplo oscuro.

El rango de estabilidad de la representación de lugar en el hipocampo a través de cambios en ambientes familiares visuales puede ser un prerequisite de procesos flexibles de información contextual espacial. El aprendizaje previo y representaciones de ambientes espaciales esperados, pueden formar un contexto definido estable con información sensorial actual que se está procesando. Es decir el hipocampo puede considerar flexiblemente múltiples configuraciones sensoriales con respecto a una referencia espacial que está

basada en información concerniente a un contexto espacial esperado generalizando a través de situaciones espaciales. (Doboli, 2000)

Cuando se encuentran animales realizando una tarea familiar las señales del hipocampo servirán para fortalecer las sinápsis de la actual red cortical de trabajo que define el contexto espacial esperado. Esto según Squire serviría para consolidar el establecimiento de la memoria espacial a largo plazo.

Dudai en el 2000 propuso que la activación de la memoria a largo plazo no persiste a través de todo el tiempo, mas bien lo que persiste es la capacidad de reactivar o reconstruir la representación original, o similar por un proceso de recuerdo.

Conclusiones

- Lesiones parciales en el hipocampo pueden producir deficiencias en la memoria espacial sin afectar la adquisición de la tarea espacial.
- El recuerdo de una tarea espacial depende de la integridad de CA3 del hipocampo.
- El hipocampo puede fungir como un sitio transitorio de establecimiento de información.
- Las lesiones realizadas después del entrenamiento sugieren que CA3 no solo es necesario para consolidar la tarea sino para recordar representaciones espaciales adquiridas previamente
- Las lesiones no causaron efectos de amnesia retrógrada graduada temporalmente.
- Animales lesionados son capaces de adquirir una tarea referencial, con menor dificultad que una tarea espacial.

Bibliografía

Adams B., Lee M., Fahnestock M. y Racine R.J. (1997) Long-term Potentiation trains induced mossy fiber sprouting Brain Research 775: 193-197.

Amaral D.G.(1978) A Golgi study of cell types in hilar region of the hippocampus in the rat. J. comp. Neurol.182: 851-914.

Amaral D.G. y Witter M.P. (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data Neuroscience 31:(3) 571-91.

Anderson, J. (2001) Perspectivas del aprendizaje y la memoria en Aprendizaje y Memoria. Un Enfoque Integral. capítulo 1. 2ª Edición, Mc Graw Hill, México, pp 1-41

Atkinson, R.C. y Shiffrin R.M. (1968). "Human Memory: A proposed system and its control processes", en Kw Spence y J.T Spence (eds.), The psychology of learning and motivation, vol. 2, Academic Press, Nueva York.

Bailey, C.H. y Kandel, E.R. (1993) Structural changes accompanying memory storage. Annu Rev Physiol 55:397-426.

Bear, M.F. (1996) A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex Proc Nat Acad Sci 93:(24) 13453-13459 .

Bear, M.F. (1997) How do memories leave their mark? Nature 6 385 :(6616) 481-2.

Bermúdez Rattoni, F. y Prado Alcalá, R. (2001) Clasificación de la memoria en memoria dónde reside y cómo se forma. Capítulo 1 pp11-23. Editorial Trillas

Bliss, T.V.P. y Lomo, T. (1972) Long-Lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path J. Physiol. 232: 331-356.

Bontempi, B., Laurent, D., Destrade, C. y Jaffard, R. (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage Nature 400: (6745) 671-675.

Burges, N., Jeffery, K.J. y O'Keefe, J. (1999) The Hippocampal and Parietal Foundations of spatial cognition. pp 345-356 Oxford University Press. England

Corkin, S., Amaral, D.G., Gilberio, R., Johnson, K. y Bradley, T. (1997) . H.M.'s Medial Temporal Lobe Lesion: Findings from Magnetic Resonance Imaging., Journal of Neurosci 17: (10)3964-3979.

Doboli, S., Minai, A.A. y Best, P.J. (2000) Latent attractors: a model for context-dependent place representations in the hippocampus. *Neural Comput* 12: (5) 1009-1043.

Dudai, Y. (2000) Molecular Bases of long term memories: a question of persistence. *Current Opinion in Neurobiol* 12 : 211-216.

Eichenbaum, H. (2001) The Long and winding road to memory consolidation nature neuroscience 4 :(11) 1057-8.

Engert, F. y Bonhoeffer, T. (1999) Dendritic spines changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity *Nature* 399:66-70.

Escobar, M.L., Barea Rodríguez, Ej., Derrick, B.E., Reyes, J.A. y Martínez, J.L. Jr. (1997) Opioid receptor modulation of mossy fiber sinaptogénesis independence from LTP. *Brain Res* 751:330-335.

Godard, G., McIntyre, D. y Leech, C., (1969) A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol.* 245 :745-761.

Goldschmidt, R.B. y Stewart, O. (1982) Neurotoxic effects of colchicine: differential susceptibility of CNS neuronal populations *Neuroscience* 7:695-714.

Hasselmo, M.E. (1995) Neuromodulation and cortical function: modeling the physiological basis of behavior. *Behav Brain Res* 67:(1) 1-27.

Ishisuka, N., Weber, J. y Amaral, D. (1990) Organization of Intrahippocampal Projections Originating From CA3 Pyramidal Cells in the Rat. *The Journal of Comparative Neurology* 295:580-623.

Mc Clelland, J.L. y Goddard, H.H. (1996) Considerations arising from a complementary learning systems perspective on hippocampus and neocortex *Hippocampus* 6:654-665.

James L. Mc Gaugh (2000) Memory-a Century of Consolidation *Science* 14 287:5451-248-51.

Jarrard, L.E. (1983) Selective hippocampal lesions and behavior: effects of kainic acid lesions on performance of place and cue tasks. *Behav Neurosci* 97:(6) 873-89.

Jarrard, L.E. (1995) What does hippocampus really do? *Behavioral Brain Research* 71: 1-10.

Nader, K., Schafe G.E. y Ledoux J. (2000) The labile nature of consolidation theory *Nature Reviews Neuroscience* 1:216-219.

Malva, J.O., Calvalho A.P. y Carvalho, C.M. (1998) Kainate receptors in hippocapal CA3 subregion: evidence for a role in regulating neurotransmitter release. *Neurochem* 32 : 1-6.

Martínez, J.L. Jr. y Kesner, R. (1991) Learning and Memory A biological view Capítulo 1 The search for the engrams pp3-58. Academic Press, Inc U.S.A

Shapiro, S. (2001) Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps Archives of Neurology; Chicago; 58 :(6) 874-882.

Mc Gaugh, J.L. (1995) Persistent Questions About Hippocampal Function in Memory en Plasticity in the Nervous System en Learning and Memory Capítulo 12 pp 323-340 Lawrence Erlbaum Associates, Publishers Mahwah.

McNaughton, B.L. y Barnes, C.A. (1989) Hippocampal granule cells are necessary for normal spatial learning but not for spatially-selective pyramidal cell discharge. Exp Brain Res 76 : 485-496.

Milner, B., Corkin, S. y Teuber, H.L. (1968) "Further analisis of the hippocampal amnesic síndrome Neuropsychologia 6:267-282.

Mizumori, S.J.Y., Ragozzino, K.E., Cooper, B.G. y Leutgeb, S. (1999) Hippocampal Representational Organization and Spatial Context. Hippocampus 9:444-451.

Mizumori, S.J.J., McNaughton, B.L., Barnes, C.A. y Fox, B. (1989) Preserved Spatial Coding in Hippocampal CA1 Pyramidal Cells During Reversible Supresión of CA3c Output: Evidence for Pattern Completion in Hippocampus. J Neurosci. 9(11): 3915-3928.

Moser, M., Trommald, M. y Andersen, P. (1994) An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggest the formation of new synapses Proc Natl Acad Sci USA 91: 12673-12675.

Moser, M., y Moser E. (1998) Distributed Encoding and retrieval of spatial Memory in the hippocampus J Neurosci 18 (18): 7535-7542 .

Nadel, L., y Bohbot, V. (2001) Consolidation of memory Hippocampus 11: 1 56-60

Nadel, L., y Moscovitch, M. (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. Curr Opin Neurobiol 7:(2) 217-27.

Nerard, L., Ramírez-Amaya V., Ormoby C.E. y Bermúdez Rattoni F. (1996) Differential Effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. Neurobiol Lear Mem 6644-50.

O'Keefe, y J., Dostrovsky, J. (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. Brain Res 34:1 171-5.

O'Keefe, J., y Nadel, L., (1978) The hippocampus as a cognitive map pp 465-475 Oxford: Oxford University Press.

O'Keefe, J., y Speakman, A. 1987 Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task Experimental Brain Research 68: 1-27.

Ramírez-Amaya, V., Escobar, M.L., Chao, V. y Bermúdez Rattóni F. (1999) Synaptogenesis of Mossy fibers induced by spatial water maze overtraining. *Hippocampus* 9:631-636.

Ramírez-Amaya, V., Balderas, I., Sandoval, J., Escobar, M.L. y Bermúdez Rattóni F. (2001) Spatial long term memory is related to mossy fiber sinaptogénesis. *Journal of Neurosci* 21:(18)7340-7348.

Ramos, J.M. (2001) Rats with hippocampal lesions can learn place response, but how long can they retain it? *Behav Neurosci* 43:115 1048-58.

Redish, A.D. Touretzky, D.S. (1997) Cognitive maps beyond the hippocampus. *Hippocampus* 7: (1) 15-35.

Muller, R. (1996) A Quarter of century of Place Cells. *Neuron* 17:813-822 .

Roosendaal, B., Phillips, R.G., Power, A.E., Brooke, S.M., Sapolsky, R.M. y McGaugh, J.L. (2001) Memory retrieval impairment induced by hippocampal CA3 lesions is blocked by adrenocortical suppression. *Nat Neurosci* 4:(12) 1169-71.

Rosenbaum, R.S., Winocour, G. y Moscovitch, M. (2001) New views on old memories: re-evaluating the role of the hippocampal complex *Behav Brain Res* 127: (1-2) 183-197.

Samsonovich, A., y Mc Naughton, B.L. (1997) Path integration and cognitive mapping in a continuous attractor neural network model. *J Neurosci* 17: (15) 5900-20.

Scoville, W., y Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat* 20-11.

Schwartzkroin, P., Scharfman, H. y Sloviter, R. (1990) Similarities in circuitry between Ammon's horn and dentate gyrus : local interactions and parallel processing . *Prog Brain Res* 83: 269-86.

Larry, S.R. (1987) *Amnesia and the functional Organization of Memory en Memory and Brain* capitulo 13 Oxford University Press New York .

Squire, L.R., Clark, R.E. y Knowlton, B.J. (2001) Retrograde amnesia. *Hippocampus* 11: 1 50-55

Squire, L.R., y Alvarez, P. (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5 :2 169-177.

Steffenach, H., Sloviter, R., Moser, E. y Moser M. (2002) Impairment retention of spatial memory after transection of longitudinally oriented axons of hippocampal CA3 pyramidal cells. *PNAS* 5 :(99) 5 3194-3198.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Zola-Morgan S.M. (1990) The primate Hippocampal Formation: Evidence for a Time-Limited role in Memory Storage in Memory Storage 250 :288-290.

Sutula, T., He, X., Cabazos, J. y Scott, G.(1998) Synaptic reorganization in the hippocampus induced by abnormal functional activity. Science 239 :1147-1150.

Thompson, Lt. y Best, P.J. (1990) Long Term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. Brain Res.509:299-308.

Wilson, M.A. y McNaughton, B.L. (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space.Science 261:(5124)1055-80

Xavier, G.F., Oliviera-Filho, F.J.B., Santos, A.M.G. (1999) Dentate Gyrus selective Colchicine lesion and disruption of performance in spatial tasks: Difficulties in "Place strategy" because of lack of flexibility in the use of environmental cues? Hippocampus 9:668-681.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**