

11261
2es
22

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

"DEMOSTRACION DE LA INTERACCION ENTRE DOPAMINA, ACETILCOLINA
Y GABA ESTRIATALES EN UNA TAREA DE PREVENCION PASIVA."

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
EN EL AREA DE FISILOGIA.
Presenta:
SELVA LUCIA RIVAS ARANCIBIA.

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E .

CAPITULO I

INTRODUCCION.

1.- CUERPO ESTRIADO.....	3
2.- NEURONAS DEL NEOSTRIADO.....	3
2.1.- Neuronas colinérgicas.....	4
2.2.- Interneuronas GABAérgicas.....	5
2.3.- Interneuronas angiotensinérgicas.....	5
2.4.- Neuronas que contienen sustancia P.....	6
2.5.- Neuronas encefalinérgicas.....	7
3.- CONEXIONES AFERENTES Y EFERENTES.....	7
4.- INTERACCIONES NEUROQUIMICAS ESTRIATALES.....	9
5.- PARTICIPACION DEL CUERPO ESTRIADO EN PROCESOS DE APRENDIZAJE.....	14
6.- INTERACCION ENTRE LOS SISTEMAS COLINERGO, DOPAMINERGICO Y GABAERGICO.....	17
7.- NEUROLEPTICOS Y APRENDIZAJE.....	22

CAPITULO II

SECCION EXPERIMENTAL.

1.- METODO GENERAL.....	24
2.- EXPERIMENTO 1.	
2.1.- Antecedentes relevantes.....	28
2.2.- Hipótesis.....	30
2.3.- Resultados.....	31
2.4.- Discusión de los resultados.....	36
2.5.- Conclusiones.....	37
3.- EXPERIMENTO 2	
3.1.- Antecedentes relevantes.....	38

3.2.- Hipótesis.....	40
3.3.- Método.....	40
3.4.- Resultados.....	42
3.5.- Análisis de los resultados.....	42
3.6.- Conclusiones.....	44
4.- EXPERIMENTO 3	
4.1.- Método.....	46
4.2.- Resultados.....	47
4.3.- Análisis de los resultados.....	47
4.4.- Conclusiones.....	49
5.- EXPERIMENTO 4	
5.1.- Método.....	50
5.2.- Resultados.....	50
5.3.- Análisis de los resultados.....	52
5.4.- Conclusiones.....	53
6.- DISCUSION GENERAL.....	55
7.- BIBLIOGRAFIA.....	59
APENDICE I : Neuroquímica del estriado.....	70
APENDICE II : Efecto del haloperidol sobre la interacción entre acetilcolina, dopamina y ácido gama-aminobutírico.....	86

I N T R O D U C C I O N . .

Todas las decisiones de nuestra vida están basadas en la expresión de la integración de información adquirida previamente y almacenada en forma de memoria en nuestro sistema nervioso central.

El conocimiento no sería posible sin la memoria, particularmente la memoria de largo plazo (Zornetzer y Chomister, 1973), la cual es una de las capacidades que se desarrolla para acrecentar nuestras posibilidades de sobrevivir (Taylor, 1980) y nos brinda la oportunidad de recurrir al recuerdo de experiencias pasadas para comprender nuestro mundo.

No hay duda de la importancia que la memoria tiene en la vida diaria del hombre y de su evolución, pero la manera en que se codifica en el proceso de formación de un engrama y las estructuras cerebrales que están involucradas en dicho proceso son aun materia de estudio. Nos podemos preguntar donde se almacenan las huellas o engramas en el cerebro y su posible destino mientras estan ahí, puesto que el conocimiento sería inútil si no puede ser expresado (Zornetzer et al 1973).

La experiencia produce el almacenamiento de información; esta se establece a través de los procesos de aprendizaje y memoria, los cuales permiten una adaptación adecuada al medio. Podrían haber dos vías por las cuales el sistema nervioso del mamífero almacena la información, en forma de

conexiones neurales ordenadas con base en la experiencia (Brenough, 1984); en primer lugar: una sobreproducción o sobreextensión de conexiones, que existen por competitividad o preservación y son dependientes de la actividad de un subconjunto neuronal apropiado. En segundo lugar: una alteración en las conexiones existentes en los adultos, como resultado de la experiencia.

En el presente trabajo se trato de determinar si en el proceso de consolidación de la memoria intervienen, en forma complementaria, dos de los principales sistemas neuroquímicos cerebrales, a saber, el colinérgico y el dopaminérgico. Específicamente, se estudio la interacción que estos sistemas pudieran tener dentro de una estructura nerviosa que ha sido relacionada con el fenómeno de la memoria; esta estructura es el núcleo caudado (NC). Debemos aclarar que a lo largo de esta tesis nos referiremos, indistintamente, al NC de los mamíferos superiores o a sus homologos en especies menos desarrolladas: cuerpo estriado, neostriado o núcleo caudado-putamen (CPU).

Durante el desarrollo de los experimentos que hemos desarrollado, se hicieron manipulaciones que alteraron el funcionamiento sináptico del estriado. Ya que dicho funcionamiento está estrechamente relacionado con la citoarquitectura de esta estructura, expondremos una breve revisión acerca de la histología y neuroquímica de la misma. Se recomienda al lector interesado que revise el Apéndice I de esta tesis, en donde se hace una revisión mas detallada

acerca de aspectos relacionados con la síntesis, metabolismo e interacciones de los diferentes neurotransmisores que se encuentran en el neostriado.

CUERPO ESTRIADO.

De acuerdo con su función integrativa el tejido estriatal tiene tres características:

1.- Del 95 al 98 % de las neuronas son de talla mediana (15 a 18um).

2.- Histoquímicamente se reconoce una inervación masiva de fibras que contienen dopamina (DA) en el estriado dorsal y ventral, además de una alta concentración de acetil colinesterasa; lo que en comparación a otras áreas del cerebro anterior, le da características peculiares:

3.- La capacidad de interactuar con otras estructuras cerebrales por medio de diferentes mediadores químicos estableciendo microcircuitos que se modulan unos a otros, con esta base se establecen conexiones que se dividen en aferentes y eferentes.

NEURONAS DEL NEOESTRIADO:

Las neuronas del neostriado pueden clasificarse con base en algunas de sus características, tales como su tamaño, localización, función, etc. En nuestro caso, las clasificaremos de acuerdo con el tipo de neurotransmisor que contienen.

Los neurotransmisores se pueden dividir en tres grupos: aminoácidos, aminas y péptidos (McGeer, Staines y McGeer, 1984).

Los aminoácidos se encuentran en un 70 a 90% de las neuronas, las cantidades se miden en micromoles por gramo de tejido, actúan por mecanismos iónicos, y son el glutamato, el ácido gama amino butírico (GABA) y la glicina.

Las aminas se encuentran en un 5 a 20% de las neuronas, se miden en nanomoles por gramo de tejido, y son la acetilcolina (ACh), la dopamina, la noradrenalina, la serotonina y la histamina.

Los péptidos se encuentran en un 5 a 10% de las neuronas, se miden en picomoles por gramo de tejido, y son la colecistoquinina (CCK), la metaencefalina, la sustancia P, la somatostatina, la angiotensina y la dinorfina.

NEURONAS COLINÉRGICAS:

Lesionando todas las aferencias conocidas al estriado, no hay reducción en los niveles estriatales de ACh, acetilcolintransferasa o acetilcolinesterasa (Butcher y Butcher, 1974; Hattori, Singh, y McGeer, 1973; McGeer, McGeer, Fibiger, y Wickson, 1971); esto indica que las entradas no son responsables del mantenimiento de la actividad colinérgica en el neostriado. Cuando se lesionan las aferencias al globus pallidus y la sustancia nigra, tampoco se reducen los niveles colinérgicos del cuerpo

estriado. Inmunoquímicamente, se ha observado una gran población de neuronas de talla mediana que sintetizan la enzima acetilcolintransferasa. Por lo anterior, se puede concluir que la ACh es sintetizada en las interneuronas intrínsecas del caudado, las cuales son responsables de mantener sus niveles constantes.

INTERNEURONAS GABAERGICAS:

Al lesionar todas las aferencias y eferencias conocidas del neostriado, se observa una disminución de la descarboxilasa del ácido glutámico, la enzima que sintetiza GABA (McGeer, McGeer y Hattori, 1979).

Una lesión grande en el caudado-putamen, causa un decremento en la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) en la sustancia nigra; por estudios inmunoquímicos (Ottersen y Storn-Mathisen, 1984) se ha establecido la presencia de GAD en muchas terminales de la sustancia nigra (McGeer et al, 1979; M. Chesselet, 1984).

INTERNEURONAS ANGIOTENSINERGICAS:

Las inyecciones intraestriatales de ácido kaínico en ratas, causan una gran disminución en la enzima convertidora de angiotensina, similar a la pérdida reportada en la enfermedad de Huntington. Esta enzima convierte a la angiotensina I en angiotensina II (Arregui, Bennett, y Bird, 1977, citado por McGeer et al 1979), la que ha sido propuesta

como neurotransmisor. La disminución de sus niveles en el neostriado en la enfermedad de Huntington y en el modelo del ácido kaínico, son consistentes pero no concluyentes acerca de su localización neuronal.

NEURONAS QUE CONTIENEN SUSTANCIA P:

Varios resultados experimentales permiten aceptar la existencia de una vía descendente cuyo mediador químico es la sustancia P (Melis y Gale, 1984); los cuerpos celulares de esta vía que contienen sustancia P están localizados en la parte más rostral del estriado:

- Al lesionar la vía estriatonigral, hay una disminución brusca de los niveles de sustancia P en la sustancia nigra; sucede algo similar con la hemisección hecha más caudalmente y esos niveles se encuentran alterados en la enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, y tratamientos crónicos con drogas antipsicóticas (Lee, McLean, Maggio, Zamir, Roth, Eskay y Bannon, 1986).

- Los niveles de sustancia P son bajos en la corea de Huntington, donde están dañadas las células neostriales pero no las nigrales.

- Niveles similares (reducidos) de sustancia P se encuentran después de inyecciones de ácido kaínico en el caudado, particularmente en la porción anterior.

Es interesante hacer notar que se han encontrado cuerpos celulares con sustancia P en el globus pallidus, cuyos axones

tambien terminan en la sustancia nigra (Kanazawa, et al. : 1977b citado por McGeer et al 1979).

NEURONAS ENCEFALINERGICAS:

Existen altos niveles de encefalinas en los ganglios basales en comparación con otras areas del cerebro, esto implica que las drogas que interaccionan con receptores opiáceos tienen efecto sobre la ejecución motora.

Se encuentran altos niveles de metaencefalina en el núcleo caudado y globus pallidus en el cerebro de la rata. Al lesionar el caudado, hay una disminución de los niveles de encefalinas en el globus pallidus (Hong et al., 1977a citado por McGeer et al., 1979). Congruente con lo anterior, la utilización de técnicas inmunohistoquímicas ha permitido visualizar terminales nerviosas que contienen encefalinas, cuyos cuerpos celulares están localizados en caudado putamen (McGeer et al., 1979).

CONEXIONES AFERENTES Y EFERENTES:

Las conexiones aferentes del estriado son las siguientes (McGeer et al., 1984):

- Recibe aferencias de toda la corteza cerebral (con excepción de la región somática sensorial), con origen comun en la capa V de células piramidales. Los neurotransmisores son: el glutamato y probablemente la somatostatina.

- Del tálamo, desde el núcleo intralaminar y el centromediano. Los neurotransmisores probables son: el glutamato, el aspartato o la ACh.

- De la sustancia nigra. El neurotransmisor es la dopamina.

- Del globus palidus. El neurotransmisor es el ácido gama amino butírico (GABA)

- Del locus coeruleus. El neurotransmisor es la noradrenalina.

- De los cuerpos mamilares. El neurotransmisor es la histamina.

- De la amígdala. Los neurotransmisores son: la colesistoquinina (CCK) y la somatostatina.

- De la formación reticular. El neurotransmisor es la histamina.

- Del núcleo del rafe medial. El neurotransmisor es la serotonina.

Las conexiones eferentes del neostriado están conformadas de la siguiente manera (McGeer et al., 1984):

- Envía a la sustancia nigra una proyección masiva (del 65 al 70% de sus neuronas) que terminá en la zona reticulada. Los neurotransmisores son: GABA, sustancia P, dinorfina, y colecistoquinina.

- Al globus palidus. Los neurotransmisores son: encefalina, GABA y dinorfina

- Al entopeduncular. El neurotransmisor es GABA.

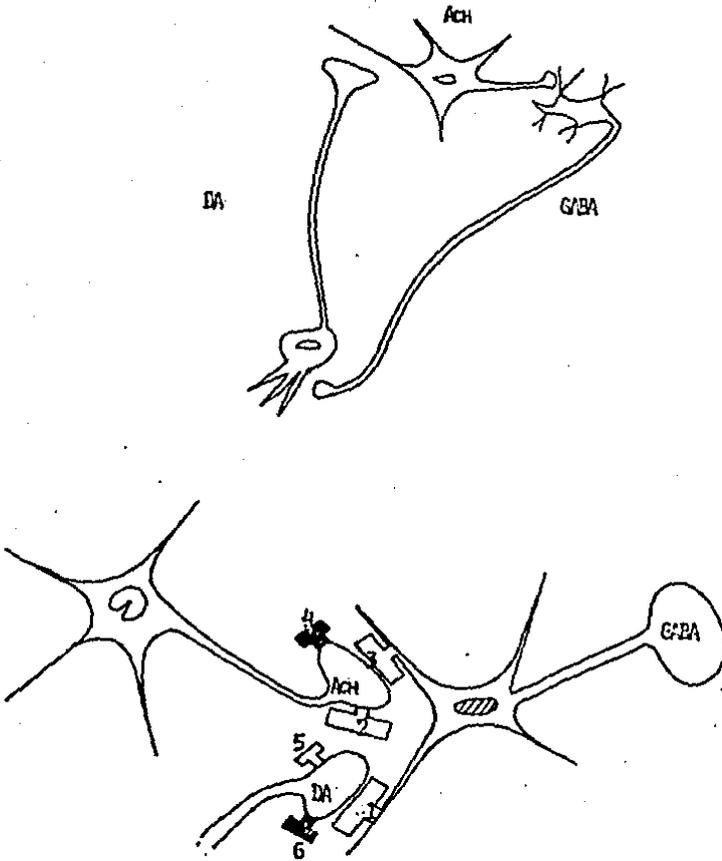
INTERACCIONES NEUROQUÍMICAS ESTRIATALES

En el estriado del 4 a 5% de sus células son neuronas colinérgicas intrínsecas (Vincent et al., 1983a citado por McGeer et al., 1984), hay una gran cantidad de neuronas GABAérgicas (del 85 al 95%) además de que pueden existir otros tipos neuronales, por ejemplo los que contienen sustancia P (Gerfen, 1984), angiotensina II, somatostatina y algunas de estas células también contienen polipéptido pancreático (McGeer et al., 1984)

Algunas de las interconexiones que han sido sugeridas son las siguientes: ascienden neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, que hacen sinapsis con interneuronas colinérgicas del neostriado (Ladinsky, Consolo, Bianchi, Samanin y Ghezzi, 1975); éstas, a su vez, hacen sinapsis con neuronas GABAérgicas cuyos axones descendentes hacen sinapsis con neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra.

En el otro modelo que se ha propuesto, la geometría de las interconexiones colinérgica-dopaminérgica-GABAérgicas es diferente: hay una entrada paralela de fibras dopaminérgicas sobre la neurona GABAérgica de proyección y una interacción funcional de terminales dopaminérgicas con la terminal colinérgica, involucrando a autoreceptores a DA y ACh respectivamente, heteroreceptores, y receptores postsinápticos (modelo modificado de Lehman y Langer, 1983, citado por Galarraga, 1986).

Las neuronas de glutamato corticoestriatales hacen sinapsis con una variedad de tipos de neuronas estriatales,



MODELOS PROPUESTOS PARA LAS INTERACCIONES NEUROQUÍMICAS. -

6 Y 4: AUTORECEPTORES A DOPAMINA Y ACETILCOLINA RESPECTIVAMENTE.

5 Y 2: HETERORECEPTORES;

1 Y 3: RECEPTORES POSTSINÁPTICOS.

1: D₁ Y D₂

2: D₂

3: NICOTÍNICOS Y MUSCARÍNICOS.

4: MUSCARÍNICOS.

5: DESCONOCIDOS.

6: D₂.

(LEHMAN Y LANGER, 1983)

que contienen ACh, GABA, sustancia P, o encefalinas (Graybiel et al., 1979; McGeer et al., 1979; McGeer et al., 1984; Gerfen, 1984).

La interacción de estas neuronas, puede extenderse más allá de los conceptos clásicos de movimientos axodendríticos de transmisores, en los cuales no sólo participan receptores postsinápticos, sino también están involucrados distintos tipos de autorreceptores ubicados en las dendritas (Chesselet, 1984; Dahlstrom y Fuxe, 1964; Chesselet, 1984). Hay evidencias de que la dopamina es sintetizada, almacenada y liberada desde las dendritas dopaminérgicas nigrales, que actúa sobre los receptores de terminales nerviosas gabaérgicas; que la ACh es sintetizada y liberada por la activación de autoreceptores nicotínicos, y que actúa sobre las terminales nerviosas dopaminérgicas.

Se ha planteado la hipótesis de que la neurotransmisión reversa o dendroaxónica tiene lugar en el sistema extrapiramidal junto con la transmisión regular axodendrítica (McGeer et al., 1979. Chesselet, 1984; Bjorklund y Linvall, 1975). El sistema dopaminérgico estriatal, ha sido utilizado como modelo para el estudio de esta hipótesis (McGeer et al., 1979. Dahlstrom et al., 1964. Bjorklund et al., 1975).

Una de las interacciones de vías de mayor importancia desde el punto de vista fisiológico, es la que existe entre neuronas dopaminérgicas y colinérgicas (Ladinsky et al., 1975; Chesselet, 1984). En general, las drogas que afectan a un tipo de neurona produce efectos opuestos en el otro tipo. Por ejemplo los agonistas dopaminérgicos y los muscarínicos,

aumentan la concentración y disminuyen la liberación de ACh estriatal; mientras que los antagonistas dopaminérgicos disminuyen la concentración de ACh al aumentar su liberación en estriado (McGeer et al., 1979; Chesselet, 1984).

Una de las metodologías utilizadas para establecer las conexiones entre estos dos sistemas fué el uso combinado de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Ladinsky et al., 1974; McGeer et al., 1971; Barrett, Cooper, Bresse, Lester et al., 1973; Schultz y Ungerstedt, 1978), que administrada intratecalmente causa degeneración en las terminales nerviosas dopaminérgicas, con la técnica de tinción inmunohistoquímica para localizar las interconexiones neuronales colinérgicas. También con microscopía electrónica se ha demostrado una relación directa de estructuras dopaminérgicas y colinérgicas en los ganglios basales (McGeer et al., 1979).

El ácido kaínico causa lesiones agudas necrotizantes en estructuras dendríticas, además de una despolarización persistente por sobreexcitación de receptores de glutamato que causa muerte neuronal (excitotoxicidad) (Diney, 1978 citado por McGeer et al., 1979); se requieren vías de glutamato para ver el efecto máximo.

Las inyecciones de ácido kaínico en el estriado, causan degeneración de todos sus elementos neuronales cuando las entradas de glutamato están intactas, además de una importante disminución de GABA, ACh, sustancia P y en el contenido de encefalinas. El requerimiento de glutamato para ver el efecto del ácido kaínico, demuestra que

las terminales nerviosas de glutamato tienen contacto con todos los tipos neuronales identificados en el estriado.

La posibilidad de que exista transmisión reversa con moléculas que pueden ser liberadas desde las dendritas y que afectan la terminal axonal, se ha demostrado por métodos histoquímicos e inmunoquímicos para la mayoría de los neurotransmisores descritos (Dahlstrom et al., 1964; Bjorklund et al., 1975; Hattori, Singh, McGeer y McGeer, 1976). Uno de los ejemplos estudiados es el sistema dopaminérgico nigroestriatal.

La liberación de dopamina es dependiente de calcio e inhibida por magnesio, su liberación es exocitótica unida a vesículas, se recaptura en las dendritas a través de un proceso de captación activa, es liberada bajo estimulación y recapturada por dendritas en hendiduras comparables a las terminales nerviosas (Hattori et al., 1976).

Se ha demostrado, con estudios morfológicos, la interacción entre dendritas colinérgicas y terminales nerviosas dopaminérgicas en el estriado. Hay síntesis y liberación de ACh en dendritas espinosas que hacen contacto con terminales nerviosas dopaminérgicas; existen pocos sitios receptores en las terminales nerviosas para la liberación dendrítica del transmisor en comparación con la liberación axonal que es 20 a 30 veces mayor, lo que implica la diferencias de vías en la dirección del movimiento del transmisor. (McGeer et al., 1979).

PARTICIPACION DEL CUERPO ESTRIADO EN PROCESOS DE APRENDIZAJE

En el capítulo correspondiente a la Hipótesis de Trabajo, se expondrá formalmente el objetivo de la presente serie experimental. Podemos adelantar que se pretende investigar la participación de los sistemas colinérgico y dopaminérgico estriatales en la consolidación de la memoria de una tarea de prevención pasiva.

Existen antecedentes acerca de los efectos de la aplicación, en el cuerpo estriado, de tratamientos que producen interferencias con el funcionamiento sináptico de la ACh y la DA. A continuación expondremos los antecedentes relevantes que justifican la realización de las investigaciones que se describen en el capítulo correspondiente a la sección experimental de esta tesis.

Durante las últimas dos décadas se han hecho estudios importantes que indican que el estriado está involucrado en procesos de memoria y aprendizaje, ya que alteraciones en esta estructura provocan deficiencias en dichos procesos; esto se ha confirmado con una gran variedad de técnicas de lesión (electrolítica, mecánica o neuroquímica). Como resultado de la alteración permanente del funcionamiento del estriado, se observa un marcado déficit en las respuestas de prevención pasiva (Prado-Alcalá, Grinberg, Larditti, García, Prieto y Brust Carmona, 1975; Prado-Alcalá, Maldonado y Vázquez-Nin, 1979); al comparar el efecto de lesiones

dorsales y ventrales se encontraron deficiencias en el aprendizaje y diferenciación en las funciones de esas regiones estriatales (Neill y Grossman, 1970).

Como veremos a continuación, también con técnicas que producen una interferencia reversible con la actividad neuronal (como la estimulación eléctrica y la aplicación tópica de cloruro de potasio o de drogas agonistas y antagonistas de mediadores químicos) se han encontrado deterioros en la ejecución de respuestas condicionadas.

La estimulación eléctrica del caudado produce un decremento significativo en la retención de una tarea de prevención pasiva (Wyers y Deadwyler, 1973). Cuando se produce una depresión propagante (con cloruro de potasio) o una lesión electrolítica, un factor común a todos los resultados, es un déficit en la retención del aprendizaje (Prado-Alcalá, Grinberg, Larditti, García, Prieto y Brust Carmona, 1974; Prado-Alcalá, Grinberg-Zylberbaum, Alvares-Leefmans, y Brust-Carmona, 1972; Prado-Alcala y Cobos-Zapiain, 1979; Prado-Alcalá, Kaufmann y Moscona, 1979). En otras palabras, cuando se altera la actividad funcional del núcleo caudado se afectan las conductas aprendidas, independientemente del tipo de reforzador o de actividad motora que esten involucrados (Prado-Alcala, 1985).

Se ha establecido que el bloqueo colinérgico del núcleo caudado induce un deterioro en el aprendizaje que involucra la utilización de reforzadores positivos y negativos (Prado-Alcalá, 1985). Cuando se inyectan diferentes

cantidades de agentes anticolinérgicos en el caudado-putamen un corto tiempo después del entrenamiento, su efecto sobre la retención es dosis dependiente (Giordano y Prado Alcalá, 1986; Prado-Alcalá, Fernandez-Samblancat y Solodkin-Herrera, 1985). Sin embargo, si los animales se someten a un sobrentrenamiento, estas drogas son inefectivas para causar deterioros en el aprendizaje de una respuesta instrumental.

Se ha postulado que este interesante fenómeno se debe a que conforme avanza el entrenamiento la actividad colinérgica del caudado tiene menor participación en los procesos necesarios para la ejecución instrumental (lo que implica que se necesitan menos elementos colinérgicos para mantener la respuesta), mientras que un sistema neuroquímico diferente dentro del caudado empieza a participar mediando la ejecución; y que el código neural necesario para la ejecución de la respuesta de aprendizaje es transferido a otra estructura (o a varias estructuras) en el sistema nervioso central (Prado Alcalá et al., 1979; Prado Alcalá et al., 1979; Giordano et al., 1986).

Se ha estudiado el efecto de la aplicación de drogas anticolinérgicas a diferentes intervalos de tiempo después del entrenamiento (2:00, 3:35, 7:30, 15:00 y 30:00 minutos), sobre la retención de una tarea de prevención pasiva. Solo los dos primeros grupos presentaron deficiencias en el aprendizaje al medir la retención 24 horas después; de esta manera se establece que el proceso de consolidación es dependiente del tiempo y que además, la actividad colinérgica estriatal está involucrada en dicho proceso (Prado-Alcalá,

Signoret-Edward y Figueroa, 1984).

La aplicación del precursor de la ACh, la colina, dentro del caudado provoca una facilitación en la ejecución de una respuesta de prevención siempre y cuando sean utilizadas a bajas dosis, ya que dosis elevadas pueden provocar desensibilización de receptores a la ACh, y ya no se presenta el efecto facilitador (Prado-Alcalá, 1985).

Existen fuertes evidencias adicionales de que la actividad colinérgica del núcleo caudado está involucrada en procesos asociativos:

1. La maquinaria química necesaria para la síntesis de ACh está presente en el CPU, y está se realiza en las interneuronas intrínsecas del estriado (Barret y Magleby, 1976).

2. Hay cambios en el metabolismo de la ACh que son producidos por procesos de aprendizaje, como aumento de la síntesis de ACh estriatal una hora después del entrenamiento de prevención pasiva (Barker, Glick, Green y Khandelwal, 1982).

INTERACCION ENTRE LOS SISTEMAS COLINERGICO, DOPAMINERGICO Y GABAERGICO.

Diferentes experimentos indican, sin lugar a dudas, que la interacción entre los sistemas dopaminérgicos y colinérgicos están involucrados en procesos de aprendizaje.

Los experimentos descritos anteriormente, demuestran que la aplicación de bloqueadores colinérgicos en el CPU induce

un déficit en los procesos asociativos que involucran reforzamientos positivos y negativos; sin embargo, el mecanismo por el cual la memoria es alterada permanece obscuro. Los agentes anticolinérgicos pueden ejercer sus efectos perturbadores sobre la retención, a través de dos mecanismos diferentes:

1. El establecimiento de memoria a corto plazo.
2. La transferencia de memoria de corto a largo plazo.

El bloqueo de la actividad colinérgica inducido después del entrenamiento interfiere con la consolidación y las etapas tempranas del mantenimiento a largo plazo, pero no con el proceso de memoria de largo plazo (Prado-Alcalá, Signoret-Edward y Figueroa, 1981).

Las neuronas dopaminérgicas cuyos cuerpos celulares se encuentran en la sustancia nigra hacen sinapsis con las neuronas colinérgicas del neocórtex, modulando la actividad de éstas.

Cualquier droga que antagonice o mimetice los efectos de la DA, va a modificar los niveles de ACh estriatal, produciendo una facilitación o inhibición del aprendizaje (Langnickel, Bluth, Oelssner, 1983).

La 6-hidroxidopamina (6-OHDA), se usa para examinar respuestas conductuales y funciones fisiológicas mediadas por los sistemas centrales catecolaminérgicos, ya que causa una disminución prolongada de las catecolaminas cerebrales. Esto se debe a que cuando se administra intracerebralmente, provoca lesiones neurotóxicas con grados variables de destrucción en todas las neuronas de las vías dopaminérgicas

o noradrenérgicas (Fibiger, Phillips y Zis, 1974).

En los experimentos que se han realizado aplicando este compuesto en la sustancia nigra se ha encontrado una degeneración de la vía dopaminérgica nigroestriatal, con los subsiguientes cambios en los niveles de DA; también provoca disminución de la noradrenalina y serotonina cerebrales dependiendo de la dosis, y sus efectos son permanentes. Además cambia la actividad de las neuronas que tienen receptores a las catecolaminas, probablemente debido a que opera un mecanismo de supersensibilidad.

Se ha observado que los tratamientos con esta droga, producen una deficiencia en la conducta de prevención activa (Cooper, Bresse, Rester et al., 1973), probablemente debida a una reducción sostenida en la DA cerebral; de lo anterior se puede concluir que las vías cerebrales catecolaminérgicas son importantes para mantener una respuesta de prevención activa; la norepinefrina juega un papel efectivo en la ejecución de una repuesta condicionada, pero la DA cerebral tiene que estar presente para la adquisición y mantenimiento de una respuesta de prevención activa. Aparentemente no causa deterioros en la prevención pasiva. Seria de esperarse que no solo las drogas que tienen acción directa sobre el sistema colinérgico modifican el aprendizaje, sino también cualquier interferencia con los sistemas neuroquímicos que modulan la actividad colinérgica.

Esto se refiere a otros dos sistemas que estan involucrados e interaccionando: el dopaminérgico que desde la

sustancia nigra proyecta fibras que hacen sinapsis con interneuronas colinérgicas del estriado, y el GABAérgico, el cual a través de sus sinapsis con interneuronas colinérgicas, modula la actividad de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra (Stoof, Den Beesen y Mulder, 1979; Fuxe, Anderson, Ogren, Perez de la Mora et al., 1978).

Existen dos tipos de neuronas GABAérgicas en el CPU: las que proyectan de una estructura a otra (e. g., del estriado a la nigra o al globus pallidus), y las interneuronas locales; estas últimas establecen circuitos peculiares: si se activan unas, se inhiben otras y se dan cambios en la transmisión GABAérgica y en la activación neuronal (Saito, Matsumoto, Watabe y Ishikawa, 1984).

El GABA es una sustancia que parece modular la consolidación de la memoria, ya que las neuronas de GABA cambian su actividad a través de desinhibición después de un condicionamiento de prevención o de un aprendizaje operante y juegan un papel importante en la formación de memoria de largo plazo; también se sabe que la liberación de GABA disminuye después del entrenamiento (Saito et al., 1984).

Modelos propuestos para explicar la interacción entre DA, ACh y GABA.

En uno de los modelos, las terminales de las células dopaminérgicas de la sustancia nigra hacen sinapsis con interneuronas de ACh del caudado (regulando la actividad de éstas), las que a su vez se conectan con neuronas GABAérgicas de proyección que modulan la liberación de DA nigral. Como

se menciona en párrafos anteriores, existe un mecanismo de acción del GABA en la modulación de la liberación de DA y ACh estriatal que aun no está bien aclarado. Esto podría funcionar como un circuito de retroalimentación positiva, o sea que una mayor liberación de ACh estimula a la neurona GABAérgica, y por lo tanto la neurona dopaminérgica es inhibida, por lo que se libera mayor cantidad de ACh.

En el otro neurocircuito que se ha propuesto las interneuronas colinérgicas y las terminales dopaminérgicas están haciendo sinapsis entre sí, y a la vez con las neuronas GABAérgicas, las que probablemente interactúan unas con otras modulando la liberación de los neurotransmisores (DA, ACh y GABA) por un circuito de retroalimentación positiva (Lehman y Langer, 1983, citado por Galarraga Palacios, 1986).

Cualquiera de los dos neurocircuitos que sea válido, la vía final común de regulación de neurotransmisores nigroestriatales es la neurona GABAérgica, ya que controla la liberación de DA y ésta a su vez la de ACh.

Al actuar el haloperidol sobre los receptores dopaminérgicos, que se encuentran en las interneuronas colinérgicas, impide la acción moduladora de la DA, y provoca en un inicio una gran liberación de ACh, la cual no se alcanza a resintetizar rápidamente en estriado, y durante un lapso de 2 a 8 horas los niveles de ACh se encuentran disminuidos en un 50%. Es precisamente este efecto el que se tomo en consideración para la realización de la parte experimental de esta tesis.

NEUROLEPTICOS Y APRENDIZAJE.

Al estudiar la tasa de una conducta operante aplicando haloperidol intraperitonealmente, W. Faustman, S. Fowler y C. Walker, (1980) sugieren que sus efectos son proporcionalmente más grandes que otras drogas, como la clozapina, sobre la duración de la respuesta y sus efectos disminuyen en función del tiempo que pasa después de la inyección siendo máximo a las 2.5 hrs y mínimo entre 7.5 y 10 horas.

Cuando se administra haloperidol, intraperitonealmente, en forma repetitiva los cambios en la supresión de una conducta de prevención son dependientes de la dosis y del intervalo entre las administraciones repetidas de la droga (T. Hayashi, S. Tadokoro, H. Haashimoto and M. Nakashima, 1981). Se encontró, además, que la interacción entre la contingencia del reforzamiento y el efecto de la droga es una variable importante en los cambios de comportamiento; esto se podría explicar con base en un aumento en el recambio de dopamina o en la sensibilidad del receptor en las neuronas dopaminérgicas en el cerebro. Este mecanismo también podría explicar los cambios producidos por la administración crónica de drogas antipsicóticas.

La administración intraperitoneal de haloperidol interfiere con la ejecución de una respuesta instrumental reforzada positivamente, así como con la de una respuesta de

prevención activa (Cepeda y Verduzco 1979). Probablemente estas deficiencias en la ejecución de las respuestas condicionadas se deba al hecho de que el haloperidol produce una disminución de Ach en núcleo caudado (Consolo et al., 1975).

Esta interpretación se basa en los resultados que se obtuvieron en experimentos realizados con gatos entrenados a presionar una palanca para poder ser reforzados con comida (Prado-Alcalá y Cobos-Zapian, 1977). Cuando se aplicó haloperidol directamente en el núcleo caudado, se observó una mejoría significativa en la ejecución de una conducta instrumental. Este resultado se interpretó en el sentido de que el bloqueo de la acción inhibitoria de la dopamina sobre las neuronas colinérgicas estriatales que ocasionó un incremento en la liberación de Ach en el momento de ejecutar la respuesta.

Se han propuesto otros modos de acción de los neurolepticos, tales como una reducción de los efectos gratificantes de los reforzadores que causaría disminución en la ejecución, mientras que con dosis altas del neuroleptico también se puede interferir con funciones motoras (Prado-Alcalá, 1983).

CAPITULO 2

SECCION EXPERIMENTAL

Este trabajo consta de cuatro experimentos, que fueron diseñados, secuencialmente, para responder a cuatro preguntas específicas. Los cuatro experimentos tienen en común la metodología básica (técnica de condicionamiento e inyecciones intraperitoneales) utilizada para responder a esas preguntas; los tres últimos comparten los procedimientos de implantación de cánulas y de microinyección intracerebrales. Por estos motivos decidimos alterar el orden tradicional para la presentación del trabajo, iniciandola con la descripción del método; las demás secciones han conservado el orden ortodoxo. De esta manera, no habra necesidad de repetir los procedimientos generales al exponer cada experimento (esta práctica tiene una tendencia a popularizarse y es aceptada por revistas científicas de prestigio)

METODO GENERAL.

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar que pesaron entre 250 y 450 grs, las cuales fueron alojadas, individualmente, en cajas de acrílico, habiendo tenido libre acceso a agua y comida.

Aparatos:

El entrenamiento se llevó a cabo en una caja de condicionamiento que consta de dos compartimientos de iguales dimensiones (30 cm de largo, 15 cm de ancho y 27 cm de altura), separados por una puerta deslizante tipo guillotina. Tanto las tapaderas de los compartimientos como la puerta se construyeron con acrílico anaranjado transparente que permite observar la conducta de los sujetos. La tapadera de uno de los compartimientos (compartimiento de "seguridad", CS) tiene un foco de 10 watts en el centro, y el piso está formado por barras de tubo de aluminio de 0.5 cm de diámetro separadas por una distancia de 1 cm una de otra. En el compartimiento opuesto o de "castigo" (CC), el piso y las paredes laterales están formadas por láminas de acero inoxidable, de tal manera que cada pared se continúa con la mitad del piso; ambas mitades de piso están separadas por una distancia de 1.5 cm.

El piso del compartimiento de castigo está conectado a un estimulador de corriente constante modelo EC 2, conectado a su vez a un formador de pulsos (10 pulsos/segundo). Las mediciones de las latencias y el control de la duración del estímulo nocioceptivo se realizó en forma automática con un equipo electromecánico programado para estos fines, formado por módulos BRS/LVE.

Procedimiento:

Sesión de adquisición o de entrenamiento. Se sacaba al animal de su caja individual y se colocaba en el compartimiento de seguridad durante 10 segundos, al cabo de

los cuales se levantaba la puerta deslizable y se medía el tiempo que tardaba en pasar al otro compartimiento; cuando el sujeto pasaba sus cuatro patas se cerraba la puerta y se le administraba un choque en las patas; cinco segundos después se volvía a abrir la puerta y se medía la latencia de escape al CS, en el cual se dejaba por 30 segundos más; una vez transcurridos éstos se volvía a la rata a su caja de alojamiento. La intensidad del estímulo nociceptivo se especificara en cada uno de los experimentos.

Sesión de retención o de prueba. Veinticuatro horas mas tarde, se realizaba la prueba de retención, durante la cual se colocaba al animal en el CS; 10 segundos después se abría la puerta y se medía el tiempo que tardaba en entrar al CC. La sesión terminaba cuando el sujeto pasaba a dicho compartimiento o cuando transcurrían 600 segundos sin que el animal pasara. Durante esta sesión ya no se aplicó el choque eléctrico.

Cirugía:

Algunos de los animales estudiados en los Experimentos 2, 3 y 4 fueron sometidos a la implantación unilateral o bilateral de cánulas en la región anterodorsal del estriado. Las cánulas, de doble pared, se construyeron con tubos de acero inoxidable de 12 mm de longitud. La pared externa de la cánula se fabricaba con tubo de aguja hipodérmica # 21 y la pared interna, que servía de tapa, con tubo de aguja dental del # 27.

La cirugía se realizó en ratas anestesiadas con

pentobarbital sódico (40 mg/kg), que se fijaron a un aparato estereotáxico, y se procedió a efectuar una incisión, de aproximadamente 2 cm, de la piel que cubre el cráneo. Después se levantó el tejido perióstico para realizar, según el caso, uno o dos orificios por los cuales se introdujeron las cánulas. Además, se realizó una perforación en el hueso frontal y otra en la región posterior del hueso parietal, con el objeto de colocar 2 tornillos. Estos sirvieron para anclar las cánulas utilizando para ello cemento acrílico. La implantación se llevó a cabo siguiendo las coordenadas del atlas estereotáxico para rata de König y Klippel: A = nivel bregma; L = 3.0mm; H = 3.5mm a partir de la duramadre. Los animales se dejaron recuperar 4 días antes de ser sometidos al entrenamiento.

Microinyección:

Para este fin se utilizó una bomba de perfusión lenta marca SAGE, modelo 355, acoplada a 2 microjeringas Hamilton de 50 microlitros, conectadas a través de tubos de polietileno calibre PE-20 a inyectores de la misma longitud y diámetro que la cánula interna que servía de tapon.

Histología:

Después de terminada la fase experimental, todos los animales sometidos a implantación fueron estudiados histológicamente, y sólo se consideraron los resultados de aquellos en los que la punta de cada cánula se encontraron en la parte anterodorsal del estriado. El procedimiento fue el

siguiente: bajo el efecto de anestesia con pentobarbital sódico (40mg/kg) se hacía una inscisión en el tórax, dejando al descubierto el corazón en el que se introducía una aguja en el ventrículo izquierdo, y se hacía una inscisión en la aurícula derecha; a través de la cánula se inyectaba solución salina isotónica para lavar el tejido y después se inyectaba una solución de formol al 10% hasta obtener rigidez muscular. Posteriormente se decapitaba al animal, se extraía el cerebro y se dejaba en formol por una semana, al cabo de la cual se realizaban cortes coronales de 50 micras de espesor utilizando un microtomo de congelación. Finalmente, los cortes eran fijados y teñidos de acuerdo con la técnica de Nissl.

EXPERIMENTO 1

ANTECEDENTES RELEVANTES.

Esta ampliamente demostrado que el haloperidol causa una disminución en los niveles de acetilcolina en el núcleo caudado, que es dependiente de la dosis y del tiempo transcurrido a partir de su aplicación (Consolo, Ladinsky y Bianchi, 1975). Estos autores reportaron que no existen diferencias entre las dosis de 1 y 2 mg/kg de peso, ya que las dos disminuyen los niveles de acetilcolina aproximadamente en un 50% durante un lapso de tiempo de 2 a 8 hrs después de su aplicación.

En experimentos realizados en nuestro laboratorio, que

ya se han mencionado, cuando se aplicó haloperidol intraperitonealmente en un condicionamiento de prevención activa se observó un deterioro en la ejecución de la respuesta. Por otro lado, se ha visto que al aplicar directamente en el neocórtex antagonistas de la acetilcolina (atropina o escopolamina) también se produce un deterioro en la ejecución de todos los tipos de condicionamientos estudiados.

Por lo tanto podemos postular que cuando se interfiere con la acción estriatal de la acetilcolina, por la aplicación de haloperidol, también se va a interferir con el aprendizaje de una tarea de prevención pasiva.

Como se dijo, el haloperidol actúa bloqueando los receptores dopaminérgicos estriatales, impidiendo la acción moduladora de la dopamina y causando una gran liberación de acetilcolina en un primer momento, pero al no alcanzar esta a resintetizarse, sus niveles permanecieron bajos; si en esta última condición se entrena a los animales, se espera que se interfiera con la retención de la respuesta de prevención pasiva.

Con el objeto de determinar la dosis efectiva para producir un deterioro en la retención de un condicionamiento de prevención pasiva, se aplicaron 1 o 2 mg/kg de peso de haloperidol intraperitonealmente (I.P.). Para buscar el efecto que se produce de acuerdo al tiempo de acción de la droga, se estudiaron dos intervalos entre su aplicación y el inicio del entrenamiento (2 y 8 hrs). Para determinar si existen diferencias con respecto a la magnitud del

reforzamiento utilizado durante el aprendizaje, grupos independientes de animales recibieron un choque nociceptivo de 0.2 o de 0.4 mA.

HIPOTESIS

LA APLICACION INTRAPERITONEAL DE HALOPERIDOL, ANTES DE UN ENTRENAMIENTO DE PREVENCION PASIVA, PRODUCIRA UN DETERIORO SIGNIFICATIVO EN LA RETENCION DE DICHO ENTRENAMIENTO.

Para someter a la prueba experimental esta hipótesis se utilizaron 112 ratas. Cada animal fue asignado, al azar, a uno de 15 grupos compuestos de 8 a 10 sujetos cada uno. Cada grupo recibió uno de los siguientes tratamientos:

- 1- Integros sin choque (n = 10)
- 2- Integros con choque de 0.4 mA (n = 10)
- 3- NaCl IP - 8 hrs con choque de 0.4 mA (n = 10)
- 4- NaCl IP - 2 hrs con choque de 0.4 mA (n = 8)
- 5- Haloperidol IP - 8 hrs 1 mg/kg 0.4 mA (n = 10)
- 6- Haloperidol IP - 8 hrs 2 mg/kg 0.4 mA (n = 8)
- 7- Haloperidol IP - 2 hrs 1 mg/kg 0.4 mA (n = 8)
- 8- Haloperidol IP - 2 hrs 2 mg/kg 0.4 mA (n = 8)
- 9- Integros con choque 0.2 mA (n = 8)
- 10- NaCl IP - 8 hrs 0.2 mA (n = 7)
- 11- NaCl IP - 2 hrs 0.2 mA (n = 8)
- 12- Haloperidol - 8 hrs 1 mg/kg 0.2 mA (n = 10)
- 13- Haloperidol - 8 hrs 2 mg/kg 0.2 mA (n = 9)
- 14- Haloperidol - 2 hrs 1 mg/kg 0.2 mA (n = 16)

15- Haloperidol - 2 hrs 2 mg/kg 0.2 mA (n = 8)

NaCl = cloruro de sodio; IP = intraperitoneal; - 8 hrs = inyectados 8 horas antes del entrenamiento; - 2 hrs = inyectados 2 horas antes de recibir el entrenamiento; n = numero de sujetos de cada grupo.

Los animales se sometían al entrenamiento y se probaba su retención 24 hrs después por los procedimientos descritos en el método general.

Los datos obtenidos se analizaron con la prueba de Análisis de Varianza con dos Criterios de Clasificación con Interacciones, debido a que se estudio el efecto de la dosis (haloperidol 1 y 2 mg/kg), de intensidad de choque (0.2 y 0.4 mA) y de tiempo de aplicación de la droga (2 y 8 hrs) y las relaciones entre estos parámetros con la respuesta obtenida.

RESULTADOS:

Se calcularon los promedios de la prueba de retención de todos los grupos y se graficaron de acuerdo a los parámetros estudiados: intensidad de choque, intervalo de aplicación de la droga y dosis.

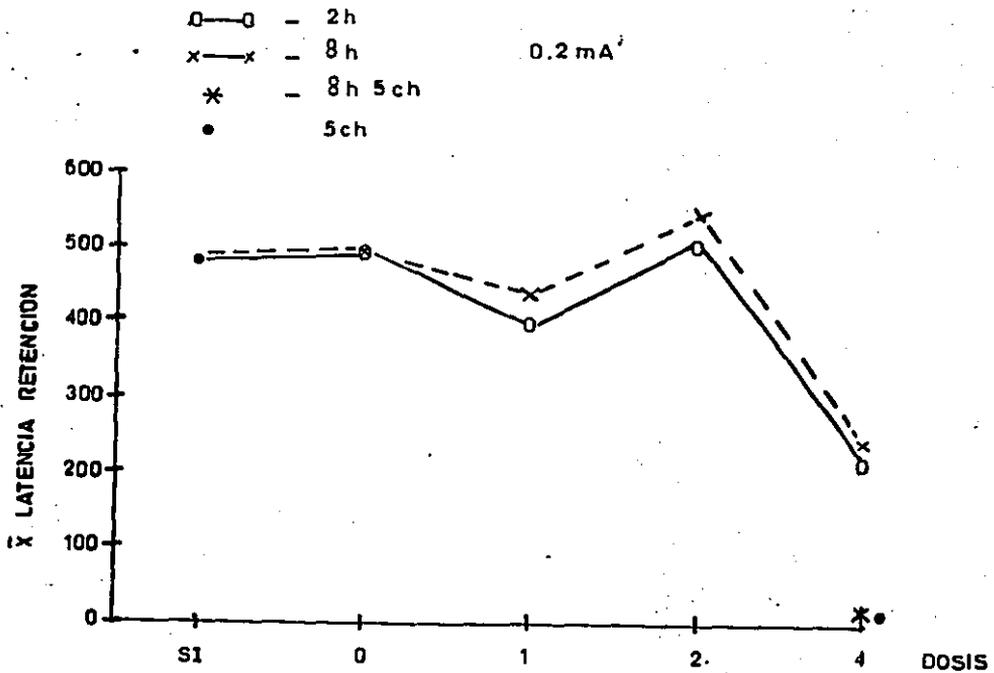
Cuando se analizan los datos obtenidos con una intensidad de choque de 0.2 mA, no se encontraron diferencias en cuanto a tiempo de aplicación de la droga ya que se obtuvo una $F = 1.9196$ con 1 grado de libertad y una $P = 0.16995$; tampoco se encontraron diferencias en cuanto a dosis ya que la $F = 0.3453$ con 2 grados de libertad dió un valor de $P = 0.71489$. La interacción del tiempo de aplicación de la

droga con las dosis aplicadas de esta resultó en un valor de $F = 1.4798$ con 2 grados de libertad y una $P = 0.23811$, lo que indica que no existieron diferencias estadísticas.

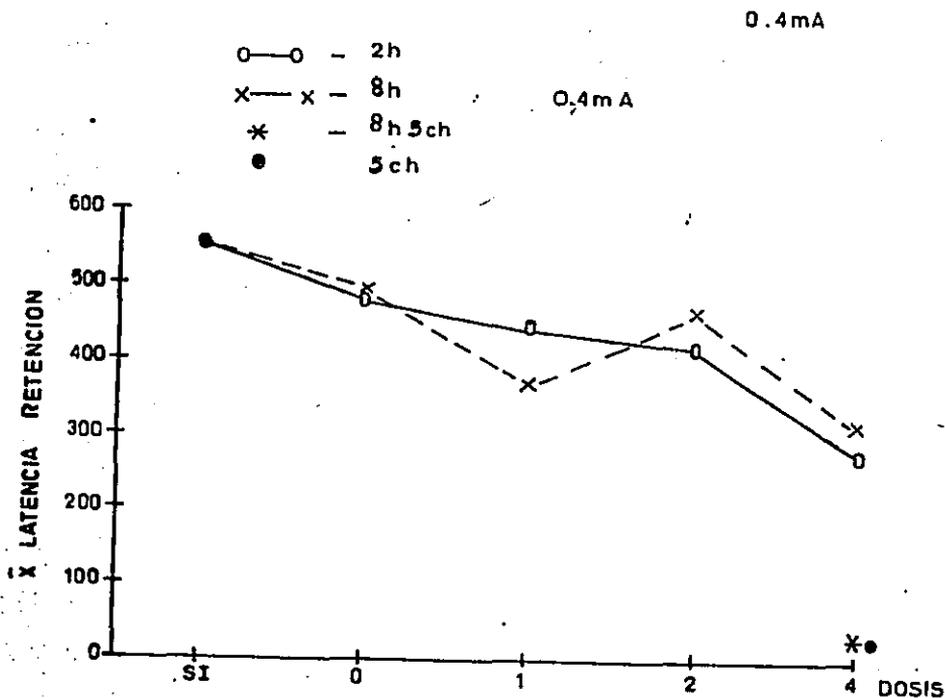
Al utilizar la intensidad de choque de 0.4 mA, se encontró que para el tiempo de aplicación de la droga ($F = 0.2558$ con 1 grado de libertad, $P = 0.62151$), para las dosis de haloperidol ($F = 0.4556$ con 2 grados de libertad, $P = 0.62428$), y para la interacción de estos dos parámetros ($F = 0.3127$ con 2 grados de libertad, $P = 0.73753$) tampoco se encontraron diferencias significativas.

Al analizar la intensidad contra dosis y tiempo los datos obtenidos son los siguientes: debido a la intensidad ($F = 2.0993$, con 1 grado de libertad, $P = 0.14734$), debido a dosis y tiempos ($F = 0.9427$, con 5 grados de libertad, $P = 0.54087$), el resultado de la interacción de estos factores ($F = 0.353$, con 5 grados de libertad, $P = 0.87906$), por lo que se puede afirmar que no existen diferencias estadísticas significativas entre estas dos intensidades de choque (0.2 y 0.4 mA) con respecto a las dosis utilizadas (1 y 2 mg/kg) y su tiempo de aplicación (2 y 8 hrs)

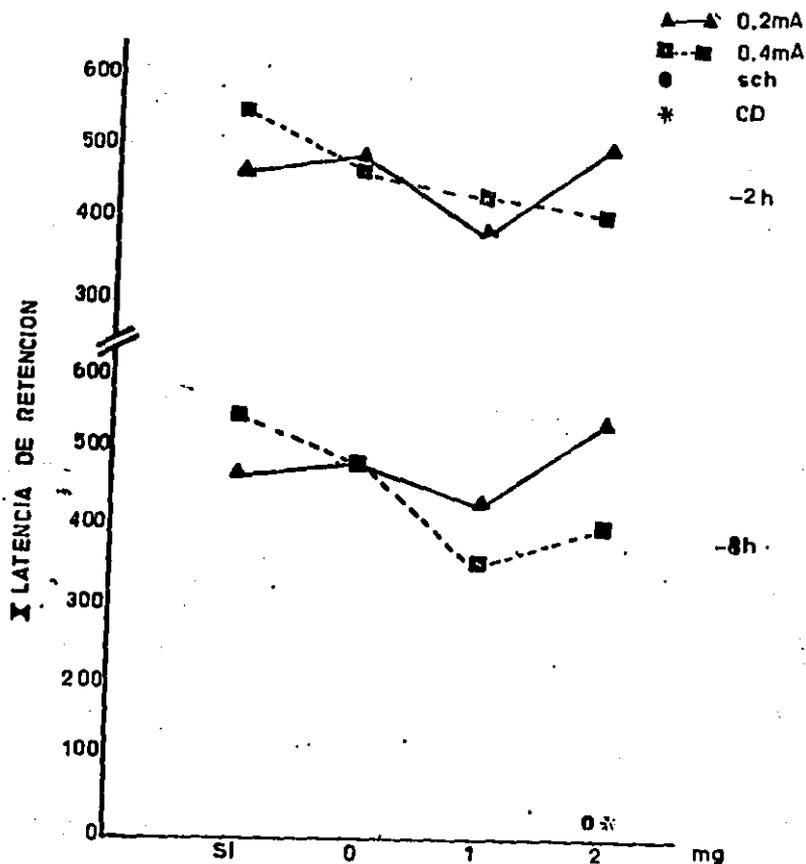
Por último al analizar el tiempo de aplicación del fármaco (2 y 8 hrs) se encontraron los siguientes resultados: el valor de $F = 1.5545$, con 1 grado de libertad y un valor de $P = 0.21347$; para los factores dosis e intensidad la $F = 0.7664$ con 5 grados de libertad y una $P = 0.57844$; y debido a interacción de estos dos factores la $F = 0.6384$ con 5 grados de libertad y una $P = 0.67362$. De lo anterior se desprende



Gráfica # 1 que muestra los diferentes tiempos de aplicación (2 y 8 hrs antes del entrenamiento) de haloperidol con respecto a dosis de este mismo fármaco (1 y 2 mg/kg IP), utilizando una intensidad de choque de 0.2 mAmp. ○ ○ = Aplicación de haloperidol 2 hrs antes del entrenamiento. X X = Aplicación de haloperidol 8 hrs antes del entrenamiento. * = Ratas íntegras sin choque con haloperidol 8 hrs antes. ○ = Ratas no entrenadas. SI = Íntegras con choque. Las dosis de haloperidol fueron aplicadas IP en 0.5 ml de solución salina isotónica. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.



Gráfica # 2 : Muestra el tiempo de aplicación de haloperidol (2 y 8 hrs antes del entrenamiento) con respecto a dosis de este mismo fármaco (1 y 2mg/kg), utilizando una intensidad de choque de 0.4 mAmp. O O = Aplicación del haloperidol 2 hrs antes del entrenamiento. X X = Aplicación del haloperidol 8 hrs antes del entrenamiento. * = Ratas sin choque con haloperidol 8 hrs antes. O = Ratas no entrenadas SI = Integras con choque. Las dosis de haloperidol fueron aplicadas IP en 0.5 ml de solución salina isotónica. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.



Gráfica # 3: Resume los resultados de las dos gráficas anteriores y muestra diferentes dosis de haloperidol respecto a las intensidades de choque utilizada; la línea cortada representa los grupos de ratas que fueron entrenados con 0.4 mAmp, la línea continua los grupos que se entrenaron con 0.2 mAmp. En la gráfica superior el fármaco se inyectó IP 2 hrs antes del entrenamiento y en la gráfica inferior el haloperidol se inyectó IP 8 hrs antes. SI = Grupos entrenados que no recibieron tratamiento. * = Ratas no entrenadas que se les inyectó haloperidol 8 hrs antes. 0 = Ratas no entrenadas. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.

que no hay diferencias estadísticas significativas en cuanto al tiempo de aplicación del fármaco (2 y 8 hrs) con respecto a dosis (1 y 2 mg/kg) e intensidad de choque (0.2 y 0.4 mA).

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Dado que la liberación de ACh por las interneuronas colinérgicas es inhibida por la dopamina en el cuerpo estriado y que el haloperidol actúa bloqueando los receptores dopaminérgicos que se encuentran en la neurona colinérgica, este impide el efecto que tiene la dopamina sobre la ACh. Como resultado de esta acción, se libera una gran cantidad de ACh que no se alcanza a resintetizar con la misma rapidez con la que se libera; por lo tanto, los niveles de ACh después de 120 minutos se encuentran reducidos en un 50% y según los reportes ya mencionados la dosis efectiva de haloperidol es de 1 mg/kg.

Como también se ha discutido anteriormente, la ACh juega un papel muy importante en el aprendizaje de una conducta instrumental. El hecho de que la respuesta estudiada en el presente trabajo no se haya deteriorado y que no se hayan encontrado diferencias entre las dosis aplicadas, nos hace suponer que el 50% restante de ACh que no fue afectada por la droga, es suficiente para la adquisición de una tarea de prevención pasiva, debido a la simplicidad de esta en comparación con otras tareas como la prevención activa, en la cual sí se deteriora el aprendizaje, por que ha de involucrar mecanismos más complejos.

CONCLUSIONES

De todos estos datos podemos concluir:

- Que las dosis utilizadas de haloperidol (1 y 2 mg/kg) son inefectivas para interferir con los procesos de consolidación de la memoria de la tarea de prevención pasiva.

- Que con las dosis empleadas no hay efecto en el tiempo de aplicación de la droga (2 y 8 hrs) antes del entrenamiento ya que no se presentó deterioro en la tarea de prevención en ninguno de los dos intervalos de tiempo.

- Que en este diseño experimental no existieron diferencias de aprendizaje o de deterioro de la respuesta de prevención cuando se emplearon 0.2 y 0.4 mA de choque nociceptivo.

- Que para que se manifieste la retención (memoria de largo plazo) de la tarea de prevención pasiva, es suficiente con que los niveles de acetilcolina estriatales se mantengan alrededor del 50% de los niveles normales.

EXPERIMENTO 2

ANTECEDENTES RELEVANTES

Existen dos modelos propuestos para explicar la interacción dopamina-acetilcolina en el estriado:

En el primero, las neuronas dopaminérgicas nigrales hacen sinapsis con interneuronas colinérgicas estriatales; éstas, a su vez, con neuronas GABAérgicas del mismo núcleo, las cuales están en contacto con las neuronas dopaminérgicas nigrales, estableciendo un circuito de retroalimentación positivo en el cual unas modulan la actividad de las otras.

En el segundo, dentro del estriado la interneurona colinérgica y la terminal dopaminérgica hacen sinapsis entre sí y además sobre una interneurona de GABA, cuyo axon termina sobre las dendritas nigrales dopaminérgicas, existiendo también un circuito de retroalimentación positivo. Tomando en consideración cualquiera de los dos modelos de circuito descritos, sería de esperarse que cuando se apliquen sistémicamente dosis relativamente pequeñas (que llamaremos "inefectivas") de un neuroléptico, el bloqueo de los receptores dopaminérgicos será insuficiente para inhibir la descarga de las interneuronas colinérgicas estriatales. Similarmente, al inyectar en el estriado dosis pequeñas (inefectivas) de un anticolinérgico, no se bloqueara totalmente la acción postsináptica de la ACh que se libere de las dichas interneuronas.

Por otra parte, el tratamiento simultáneo con las dosis

inefectivas del neuroléptico y el anticolinérgico, produciría una suma de efectos, cuya resultante sería un bloqueo mayor de la acción de la ACh sobre los receptores postsinápticos, que el que se produciría cuando ambos tratamientos fueran aplicados por separado.

Como ya fué explicado, el bloqueo de la actividad colinérgica del estriado induce un deterioro en la retención de una tarea de prevención pasiva. Es de esperarse, por lo tanto, que un bloqueo parcial de esa actividad solamente produzca un deterioro parcial, y que un bloqueo aun menor, no produzca interferencia alguna en la retención del condicionamiento aversivo. El mismo razonamiento puede aplicarse en el caso del tratamiento con neurolépticos.

Si las proposiciones expuestas en el párrafo anterior son correctas, entonces la administración de dosis inefectivas de un neuroléptico (haloperidol) o de una droga anticolinérgica (atropina) no interferirá con la retención de un aprendizaje de prevención pasiva. Por el contrario, la acción simultánea de los dos fármacos inducirá un estado amnésico. En otras palabras, si el sistema actúa como un circuito cerrado de retroalimentación positiva, ambos tratamientos deberán producir un deterioro en la respuesta de prevención pasiva ya que están actuando sobre los sitios receptores de la neurona colinérgica pre y post-sinápticos, por mecanismos que bloquean receptores diferentes pero que interaccionan con los niveles y los efectos de la acetilcolina.

Para determinar el efecto de estas drogas se hará una

curva dosis-respuestas utilizando atropina para encontrar aquella dosis que no interfiera con la retención de la tarea de prevención (dosis inefectiva). En el Experimento 1 se determinaron las dosis inefectivas para el haloperidol. Posteriormente, las dosis inefectivas tanto de haloperidol como de atropina se aplicarán juntas y se cuantificarán sus efectos sobre la conducta de prevención.

HIPOTESIS

AL COMBINAR UNA DOSIS INEFECTIVA DE HALOPERIDOL, APLICADA INTRAPERITONEALMENTE, CON UNA DOSIS INEFECTIVA DE ATROPINA, APLICADA INTRAESTRIATALMENTE, SE PRODUCIRA UN DETERIORO SIGNIFICATIVO EN LA CAPACIDAD DE RETENCION DE UNA TAREA DE PREVENCION PASIVA.

Para someter a la prueba experimental esta hipótesis fue necesario, primero, determinar empíricamente la dosis inefectiva de atropina; es decir, aquella dosis que al ser inyectada en el cuerpo estriado no produce deficiencias en la retención del condicionamiento de prevención pasiva.

METODO

Después de ser implantados los animales con cánulas de acero inoxidable se dejaron en recuperación cuatro días, al cabo de los cuales fueron entrenados en la cámara de prevención con el procedimiento ya descrito, aplicando un choque nociceptivo de 0.3 mA; dos minutos

después del entrenamiento, utilizando una bomba para perfusión lenta, se inyectaron en el CPU dorsal anterior diferentes dosis de atropina (1ul/1min); después de que se inyectó el volumen requerido se dejaron los inyectores 1 minuto adicional para asegurarse de que toda la sustancia drenara hacia el tejido. Finalizado este procedimiento se regresaba al sujeto a su caja individual y se medía la retención 24 hrs después con el método explicado anteriormente. Se inyectaron diferentes dosis de atropina, con el objeto de construir una curva dosis respuesta. Después de realizar el control histológico, los grupos quedaron integrados de la siguiente manera:

- 1- Integras sin choque n=10
- 2- Integras con choque n=10
- 3- Atropina 20 ugr 3ul n=5
- 4- Atropina 15 ugr 3ul n=4
- 5- Atropina 10 ugr 3ul n=4
- 6- Atropina 5 ugr 1ul n=4

Los resultados obtenidos en la prueba de retención (la variable dependiente de interés) se analizaron estadísticamente, aplicandose la Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianzas. Como no se encontró homogeneidad de varianzas se emplearon las pruebas no paramétricas de análisis de varianza de Kruskal Wallis para determinar si había diferencias entre los grupos y, en su caso, la prueba U de Mann-Whitney para comparar la ejecución entre todas las combinaciones de pares de grupos.

RESULTADOS

El resultado obtenido con la prueba de Barlett indicó que no había homogeneidad de varianzas. Por este motivo se procedió a la utilización de estadísticas no paramétricas. Se aplicó el análisis de varianza de Kruskal Wallis en el que se encontró un valor de $H = 20.294$, con 4 grados de libertad y una $P = 0.000743$ (Fig. 4); como estos valores fueron estadísticamente significativos, para poder determinar cuales grupos difieren entre sí, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, con la que se encontró:

1) que el grupo de ratas íntegras sin choque, difiere de todos los demás con excepción del grupo tratado con 15 ugr de atropina.

2) El grupo de ratas íntegras con choque (recibió entrenamiento pero no tratamiento con drogas) difiere de los grupos que se trataron con 20 y 15 ugr de atropina, pero no es diferente de los grupos que recibieron 10 y 5 ugr de la misma droga.

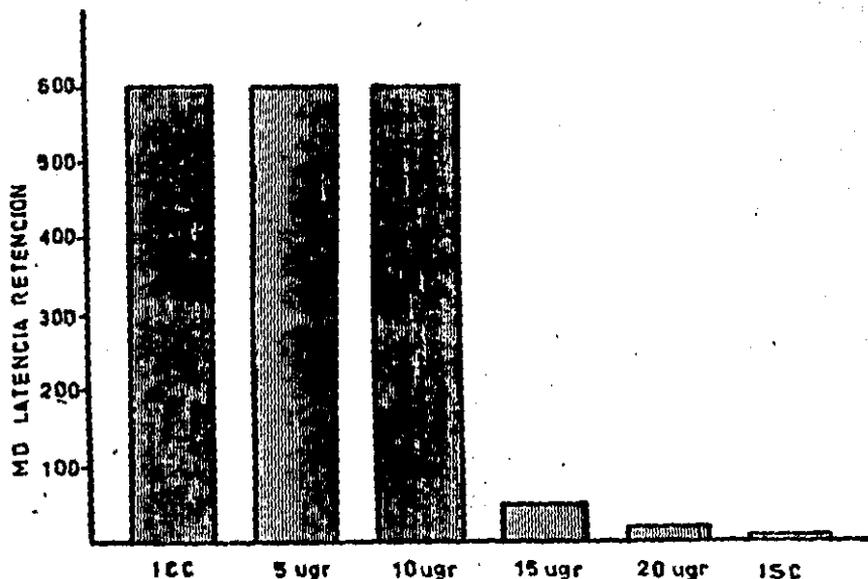
3) El grupo de 15 ugr es diferente de los grupos tratados con 10 y 5 ugr de atropina.

4) No hay diferencias significativas entre los grupos de 10 y 5 ugr de atropina.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Obviamente, el grupo que no recibió entrenamiento, no aprendió a ejecutar una respuesta de prevención, y por eso difiere de todos los demás, exceptuando al grupo inyectado.

CURVA DOSIS RESPUESTA
DE ATROPINA



Gráfica # 4: Curva dosis respuesta a la atropina, sobre el eje de las abscisas diferentes dosis de atropina aplicadas 2 minutos después del entrenamiento en el estriado dorsal anterior de la rata. ICC = Grupo de ratas entrenadas que no recibieron tratamiento. ISC = Grupo de ratas que no recibieron entrenamiento. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.

con 15 ug.

El grupo control (que recibió el choque eléctrico, pero que no fue inyectado) difiere en su capacidad de retención de los de 20 y 15 ug de atropina, por que en estos últimos hubo un déficit en el aprendizaje, mientras que su retención es equivalente a los de 10 y 5 ugr por que estas son dosis inefectivas del fármaco para alterar la tarea de prevención.

Las diferencias entre los grupos con distintas dosis de atropina estan dadas por el efecto dosis dependiente de la droga sobre la respuesta.

CONCLUSIONES

- La atropina puede actuar de dos maneras para modificar el efecto de acetilcolina: 1) aumenta la liberación de acetilcolina y 2) bloquea por competencia los receptores colinérgicos postsinápticos. En el caso del presente experimento, postulamos que prevalece el segundo efecto ya que al bloquear los receptores postsinápticos se impide la interacción ACh-GABA evitando el efecto facilitador de la respuesta que este mediador tiene sobre el aprendizaje y provocando un deterioro en la misma.

Si el efecto de estas dosis de atropina hubiera provocado un aumento en la ACh, la respuestas a estas drogas se manifestaría por una ejecución normal de la tarea de prevención. En cambio, es razonable postular que el efecto deletéreo de la atropina se debio a una acción sobre los receptores postsinápticos ya que, como se encontró en el los

experimentos adicionales (que se reportarán mas adelante), la combinación de la atropina con el haloperidol también produjo una deficiencia en la memoria. Dicho efecto no se hubiera encontrado si se hubiera incrementado la liberación de ACh.

-La alteración de la respuesta de prevención con este diseño experimental se encontró con la aplicación de dosis mayores a de 10 ugr de atropina.

-La dosis inefectiva es de 10 ugr de atropina, siendo 5 ug de este fármaco la mitad de la dosis inefectiva.

- Estos resultados indican que para que se produzca una deficiencia en la consolidación de la memoria es menester que se bloquee un número mínimo de receptores a la ACh. De acuerdo con lo encontrado en el Experimento 1, la producción del estado amnésico requiere de la inactivación de más del 50% de la actividad colinérgica estriatal.

EXPERIMENTO 3

En este experimento se estudió el efecto de la combinación de las aplicaciones combinadas de las dosis inefectivas de haloperidol y atropina, determinadas en los dos experimentos anteriores. En otras palabras, se determinó la posibilidad de aceptar o rechazar la hipótesis de trabajo.

METODO

A los animales previamente implantados se les inyectó de acuerdo a su peso 1 o 2 mg de haloperidol en 0.5 cc de solución salina, intraperitonealmente, 2 hrs antes del entrenamiento, y dos minutos después de este se les inyectó bilateralmente 10 ug. de atropina según el procedimiento descrito en la primera parte de este experimento; después del control histológico los grupos quedaron integrados de la siguiente manera:

1- Integras sin choque, n = 10

2- Integras con choque, n = 10

3- Haloperidol 1 mg/kg IP -2 hrs + Atropina 10 ug 1 ul bilateral n = 7

4- haloperidol 2 mg/kg IP -2 hrs + Atropina 10 ug 1 ul bilateral n = 7

A los resultados se le aplicaron las mismas pruebas anteriormente descritas ya que con la prueba de Bartlett no se encontró igualdad de varianzas, por lo que se procedió a utilizar estadísticas no paramétricas.

RESULTADOS

Al analizar las latencias de la prueba de retención con la prueba de Bartlett no se encontró igualdad de varianzas entre los grupos, por lo que se aplicó análisis de varianza de Kruskal Wallis, obteniéndose los siguientes valores: $H = 11.503$ con 2 grados de libertad, $P = 0.01$. Como estos valores fueron significativos, se procedió a la aplicación de la prueba U de Mann-Whitney con la cual se encontró lo siguiente:

1) El grupo íntegro sin choque difiere de todos los demás grupos.

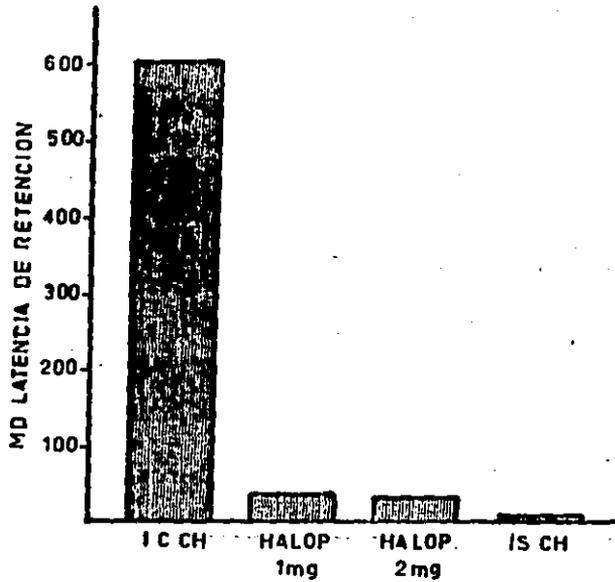
2) El grupo íntegro con choque difiere del grupo de haloperidol I.P de 1 mg/kg más 10 ug de atropina intracaudal y del grupo de 2 mg/kg de haloperidol I.P más 10 ug de atropina en el caudado.

3) No hay diferencias entre el grupo de haloperidol de 1 mg/kg IP más atropina 10 ug en caudado con el grupo de haloperidol 2 mg/kg IP más atropina 10 ug en caudado.

ANALISIS DE RESULTADOS

En el grupo íntegro con choque las ratas fueron entrenadas a realizar la tarea y no recibieron tratamiento alguno, por lo que difiere significativamente de los grupos que recibieron haloperidol y atropina. En otras palabras, el deterioro en el aprendizaje debido a estas drogas es importante pero no alcanza a ser equivalente al de los

CURVA DE HALOPERIDOL
MAS 10 UG DE ATROPINA



Gráfica # 5: Respuesta al haloperidol (1 y 2 mg/kg inyectado IP 2 hrs antes del entrenamiento) en sujetos que recibieron 10 ug de atropina bilateralmente en estriado dorsal anterior, 2 minutos después del entrenamiento. ICCH = Grupo de ratas entrenadas que no recibieron tratamiento. ISCH = Grupo de ratas que no recibieron entrenamiento. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.

sujetos no condicionados.

El deterioro en el aprendizaje con las 2 dosis inefectivas de haloperidol combinadas con la atropina no es dosis dependiente, ya que la respuesta sufrió un deterioro similar en los dos grupos.

CONCLUSIONES

- Como se estableció en los experimentos anteriores, las dosis utilizadas de haloperidol y de atropina son inefectivas para producir deterioros en la capacidad de retención de la tarea entrenada, pero al ser utilizadas juntas causan un déficit en la respuesta de prevención.

- Estas drogas actúan en partes diferentes del neurocircuito nigroestriatal, ya que el haloperidol bloquea los receptores a dopamina de la interneurona colinérgica, y la atropina los receptores a atropina postsinápticos, en la neurona GABAérgica de proyección nigral; el hecho de que que produzcan el deterioro mnémico al ser aplicadas en combinación, sugiere fuertemente la existencia de una interacción entre los sistemas dopaminérgico-colinérgico-GABAérgico.

EXPERIMENTO 4

Experimentos recientes desarrollados en nuestro laboratorio demuestran que la aplicación unilateral, en el estriado, de drogas bloqueadoras de GABA producen un cuadro amnésico, al estudiar la retención de la tarea de prevención pasiva descrita en esta tesis (Salado-Castillo y

Prado-Alcalá, comunicación personal). Era de interés, por lo tanto, determinar si la aplicación unilateral en el CPU de la dosis inefectiva de atropina utilizada en el experimento anterior, combinada con la dosis inefectiva de haloperidol, también produce el cuadro amnésico.

METODO

Se utilizó el método descrito en la segunda parte de este experimento, solo que la inyección de atropina en el caudado se realizó unilateralmente y siempre se colocó en la parte anterior dorsal izquierda de esa estructura. Después del control histológico los grupos quedaron integrados de la siguiente manera:

1- Integras sin choque, n = 10

2- Integras con choque, n = 10

3- Haloperidol 1 mg/kg IP -2 hrs + Atropina 5 ug 1 ul unilateral, n = 4

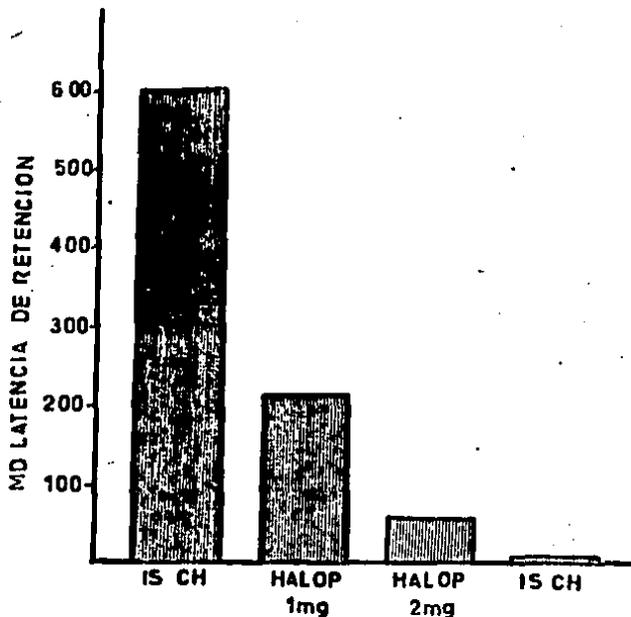
4- Haloperidol 2 mg/kg IP -2 hrs + Atropina 5 ug 1 ul unilateral, n = 8

A los resultados se le aplicaron las mismas pruebas estadísticas de experimento anterior.

RESULTADOS

Con la prueba de Bartlett no se encontró igualdad de varianzas por lo que se aplicaron pruebas de estadística no paramétrica. El análisis de varianza se realizó con la prueba de Kruskal Wallis encontrándose los siguientes

CURVA DE HALOPERIDOL
MAS 10 UG DE ATROPINA



Gráfica #6: Respuesta al haloperidol (1 y 2 mg/kg inyectado IP 2 hrs antes del entrenamiento) en sujetos que recibieron 10 ug de atropina unilateralmente en estriado dorsal anterior, 2 minutos después del entrenamiento. ICCH = Grupo de ratas entrenadas que no recibieron tratamiento. ISCH = Grupo de ratas que no recibieron entrenamiento. Los resultados graficados son los promedios obtenidos en cada grupo.

valores: $H = 9.467$ con 2 grados de libertad, $P = 0.01$; como los resultados son significativos, para determinar la diferencia entre los grupos se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney la que determinó:

1) El grupo de sujetos íntegros sin choque, difiere de todos los demás.

2) El grupo de animales íntegros con choque no difiere del grupo que recibió 1mg/kg IP de haloperidol mas 5 ug de atropina y sí es diferente del grupo de 2 mg/kg de haloperidol mas 5 ug de atropina.

3) No se encuentran diferencias significativas entre los grupos tratados con 1 y 2 mg/kg de haloperidol más 5 ug de atropina.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El grupo de sujetos íntegros sin choque difiere de los demás ya que no fué condicionado a ejecutar la respuesta.

El grupo de ratas entrenadas en la prueba de prevención pasiva que no recibió tratamiento no difiere del grupo tratado con 1 mg/kg de haloperidol y 5 ug de atropina por que con estas dosis las ratas aprenden a ejecutar la tarea de prevención, pero difiere del que recibió 2 mg/kg de haloperidol mas 5 ug de atropina ya que al parecer al utilizar la mitad de la dosis inefectiva de atropina la respuesta al haloperidol se vuelve dosis dependiente.

El hecho de no encontrar diferencias entre los grupos tratados con haloperidol y atropina entre sí se puede deber a la varianza relativamente grande que presenta el grupo de 1

mg de haloperidol más 5 de atropina por el tamaño pequeño de la muestra.

CONCLUSIONES

- Los resultados de este experimento indican que para obtener el efecto amnésico inducido por la combinación de los tratamientos utilizados, es necesario que se cumplan dos condiciones:

1. La aplicación bilateral, en el estriado, de la dosis inefectiva de atropina, aunada a la aplicación I.P. de haloperidol, independientemente de la dosis (1 o 2 mg/kg),
- o 2. La aplicación unilateral, en el estriado, de la dosis inefectiva de atropina, aunada a la aplicación I.P. de la dosis mayor de haloperidol (2 mg/kg).

Estos resultados son congruentes con la idea expresada en el experimento anterior, en el sentido de que para interferir con el proceso de consolidación, debe bloquearse un número mínimo de receptores colinérgicos estriatales. En el presente caso, se bloqueo la mitad de dichos receptores ya que la inyección del anticolinérgico fue unilateral.

Por otra parte, cuando la acción de la atropina se sumo a la del haloperidol, el decremento en la capacidad de retención solamente se manifestó cuando se aplicó la dosis mayor del neuroléptico (2 mg/kg). Esto podría indicar que, a pesar de que ambas dosis (1 y 2 mg/kg) parecen producir una disminución equivalente de la ACh estriatal, probablemente,

la dosis menor tiene un efecto menos agresivo sobre los procesos integrativos de la memoria. No tenemos datos que nos permitan justificar esta última interpretación; por lo tanto deberemos esperar a que se realicen más estudios acerca de los efectos íntimos que tiene el haloperidol sobre el metabolismo colinérgico estriatal.

DISCUSION. GENERAL

En general, los datos obtenidos en la presente serie experimental dan un fuerte apoyo a los reportados en la literatura, en el sentido de que el bloqueo de la actividad colinérgica estriatal produce una incapacidad para que se establezca la memoria de largo plazo (consolidación).

Por otra parte, son dos las aportaciones novedosas que este trabajo hace al campo del estudio de los mecanismos involucrados en los procesos mnémicos:

1. En contraste con el efecto deletereo que produce el haloperidol sobre el aprendizaje de prevención activa, este neuroleptico fue inefectivo para producir, por sí solo, deterioros en la memoria de la prevención pasiva. Este fue un hallazgo inesperado, ya que, en forma casi rutinaria, se encuentra que la disminución de la eficiencia sináptica colinérgica del estriado (producida por la aplicación de drogas anticolinérgicas) produce amnesia. En el caso de la prevención activa, probablemente el efecto de interferencia con la memoria se debe a que esta tarea representa la activación de mas elementos neurales, ya que los animales tienen que aprender a discriminar una gran variedad de estímulos condicionantes (luz, sonido, localización de las fuentes de estimulación); además, la respuesta condicionada involucra dos tipos diferentes de actividad motora: facilitadora e inhibidora. Por lo tanto, dada la complejidad de la tarea, es mas probable, teóricamente, que cualquier tratamiento que interfiera con la actividad integrativa del estriado (o de otras estructuras) produzca deficiencias

conductuales mas facilmente que cuando se estudia una tarea mas sencilla, como en caso de la prevención pasiva. En este condicionamiento, practicamente la unica discriminación que el animal tiene que aprender es la diferenciación entre dos compartiminetos totalmente diferentes entre sí. Además, este aprendizaje solamente implica la inhibición de la actividad motora y nunca la facilitación de dicha actividad.

Dado que el haloperidol tiene un efecto equivalente al bloqueo colinérgico (disminuye la concentración estriatal de ACh), esperabamos que su aplicación también produjera amnesia. La falta de tal efecto indica que para la consolidación de la memoria de la tarea estudiada no es necesaria la particiapión de muchos elementos colinérgicos. Esta aceveración se basa en el hecho de que las dosis de haloperidol que empleamos reducen el contenido de ACh estriatal en un 50%.

Por lo tanto, podemos suponer que para la consolidación de la memoria relacionada con la prevención pasiva es suficiente con que se active menos del 50% de los elementos colinérgicos del caudado-putamen (suponiendo que cada una de las neuronas colinérgicas tengan un contenido igual de ACh).

2. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio en el que se pone de manifiesta, directamente, una interacción entre los sistemas dopaminérgico y colinérgico estriatales, de la que depende el establecimiento de la memoria. A pesar de que se tiene un conocimiento razonable acerca de la neuroquímica nigroestriatal, y de que muchos experimentos han demostrado que existe una interrelación funcional entre los diferentes neurotransmisores que estan presentes en dicho sistema, a la

fecha no se habían estudiado dichas interacciones en el contexto de las funciones superiores del sistema nervioso central (aprendizaje y memoria).

Estamos convencidos de que en la medida en que podamos diseccionar los elementos neuroquímicos que participan en procesos cognitivos, podremos comprender mejor tanto el funcionamiento normal del cerebro, como la etiología de las enfermedades relacionadas con problemas de aprendizaje y memoria. Probablemente el estudio experimental de las interacciones entre dos o más neurotransmisores propicie el avance del conocimiento en esta área, a un ritmo mucho mayor que el que las metodologías clásicas (estudio de sistemas neuroquímicos individuales) nos lo permite en la actualidad.

Por último, debemos hacer hincapié en que de ninguna manera se propone que en los procesos de memoria, en general, y en los de la prevención pasiva, en particular, solamente está involucrado el sistema nigroestriatal. Sabemos que prácticamente cada una de las neuronas cerebrales está conectada, directa o indirectamente, con el resto de las neuronas. De acuerdo con este planteamiento, el sistema nigroestriatal deberá estar conectado, funcionalmente, con otros sistemas neurales que forzosamente deben estar participando en el análisis de la información derivada de las experiencias de aprendizaje. Asimismo, otros sistemas deberán estar involucrados en los procesos de almacenamiento de dicha información (memorias de corto y largo plazos). Lo que el presente experimento indica es que el sistema nigroestriado es un eslabón indispensable para que se realice el fenómeno de la

memoria.

BIBLIOGRAFIA

Barker, L. A., Glick, S. D., Green, J. P. and Khandelwal, J. K.. Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one-trial passive training. *Neuropharmacology* 21: 183-185, 1982.

Barret, E. F. and Magleby, K. L.. Physiology of cholinergic transmission. In A. M. Goldberg and I. Hanin (Eds.). *Biology of Cholinergic Function*, Raven Press, New York, 29-100, 1976.

Bjorklund, A. and Linvall, O.. Dopamine in dendrites of substantia nigra neurons: suggestions for a role in dendritic terminals. *Brain Research*, 83: 531-537, 1975.

Bourgoin, S., Cesselin, F., Artaud, F., Glowinski, J. and Hamon, M.. In vivo modulations by GABA-related drug of met-enkephalin release in basal ganglia of the cat brain. *Brain Research*, 248: 321-330, 1982

Brown, D. A.. Slow cholinergic excitation a mechanism for increasing neuronal excitability. *Trends in Neurosciences*, 6: 302-307, 1983.

Butcher, S. G. and Butcher, L. L.. Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Research*, 71: 167-171, 1974.

Cepeda, Vazquez G. G., Verduzco, Verduzco L. M.. Mecanismos colinérgicos de núcleo caudado involucrados en el aprendizaje de prevención activa. Tesis de Licenciatura,

Universidad Anahuac, 1979.

Cuello, C., Priestley, J. and Sofroniew. Immunocytochemistry and neurobiology. Quarterly Journal of Experimental Physiology 68: 545-578, 1983.

Chesselet, M. F.. Commentary presynaptic regulation of neurotransmitter release i the brain. Neuroscience 12: 347-375 ,1984.

Chesselet, M. F., Cheramy, A., Reisine, T., Lubetzki, C. and Glowinski, J.. Presynaptic regulation of striatal dopamine release: in vivo and in vitro studies. Journal of Physiology 78: 420-425, 1982.

Collier, B.. Biochemistry and physiology of colinergic transmission. Handbook of Physiology, chapter 13, 1975.

Consolo, S., Ladinsky, H. and Bianchi, S.. Decrease in rat striatal acetylcholine levels by some direct- and indirect-acting dopaminergic antagonists. European Journal of Pharmacology 33: 345-351, 1975.

Cooper, B., Bresse, G., Grant, L. and Howard, J.. Effects of 6-hydroxydopamine treatments on active avoidance responding: evidence for involvement of brain dopamine. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 185: 358-370, 1973.

Creese, I.. Dopamine receptors explained. Trends in Neuroscience, 43-46, january 1982.

Dahlstrom, A. and Fuxe, K.. Evidence for existence of monoamine-containing neurons in the central neurons in the central nervous system. Acta Physiology Scandinavica 62: 1-55, 1964.

Evenden, J. L. and Robbins, T. W.. Effects of unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the caudate-putamen on skilled forepaw use in the rat. Behavioural Brain Research 14: 61-68, 1984.

Faustman, W.. Fowler, S. and Walker, C.. Time course of chronic haloperidol and clozapine repon operant rate and duration. European Journal of Pharmacology, 70, 65-70, 1981.

Fibiger, H., Phillips, G. and Ziz, A.. Deficit in instrumental responding after 6-hydroxydopamine lesions of the nigro-neostriatal dopaminergic projections. Pharmacology Biochemistry and Behavior 2: 87-96, 1974

Fisher, R., Shiota, Ch., Levine, M., Huil, Ch. and Buchwald, N.. Interhemispheric organization of corticocaudate projections in the cat: a retrograde double-labelling study. Neuroscience Letters 48: 369-373. 1984.

Fuxe, K., Andersson, K., Ogren, S-O., Perez de la Mora, M., Schwarcz, R., Hokfelt, T., Eneroth, P., Gustafsson, J-A., and Skett, P.. GABA neurons and their interaction with monoamine neurons. An anatomical, Pharmacological and functional analysis. "GABA-Neurotransmitters". Alfred Benzon Symposium 12. Munksgaard, 1978.

Galarraga Palacio, E. Potenciales sinapticos de las neuronas neostriatales normales y denervadas de su aferencia dopaminergica. Tesis de Doctorado, CINVESTAV, IPN. 1986.

Gerfen, Ch. R.. The neostriatal mosaic: compartmentalization of cortical input and striatonigral

output systems. *Nature*, 311: 461-464, 1984.

Giordano, M. and Prado-Alcala, R. A.. Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 24: 905-909, 1986.

Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacologicas de la Terapeutica*. 6ta edicion, Editorial Panamericana 1980.

Gordon Patray Taylor. *El cerebro y la mente*. Ed. planeta, 1980 Graybiel, A.M. and Ragsdale, C. W.. Fiber connections of the basal ganglia. *Progress in Brain Research* 51:239-283. 1979.

Greenough, W.T.. Structural correlates of information storage in the mammalian brain: a review and hypothesis. *Trends in Neuroscience*, 229-233, july 1984.

Hattori, T., Sing, V. K., McGeer, E. G. and McGeer, P. L.. Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase containing neostriatal neurons and their relationship with dopaminergic synapsis. *Brain Research* 102: 164-173. 1976b.

Hayashi, T.. Tadokoro, S.. Hashimoto, H. and Nakashima, M.. Enhancement of avoidance-suppressing effect after repeated administration of haloperidol and serum haloperidol in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17, 131-136, 1982.

Gale, K. and Casu, M.. Dynamic utilization of GABA in substantia nigra: regulation for dopamine and GABA in the striatum, and its clinical behavioral implications.

Molecular and Cellular Biochemistry 39: 369-405, 1981.

Graybiel, A. M. and Ragsdale, C. W.. Fiber connections of basal ganglia. Progress Brain Research, 51, 239-282, 1979.

Kamata, K., Sugimoto, A. and Kameyama, T.. Effect of chronic haloperidol on dopamine release following microinjection of GABA into the substantia nigra zona reticulata in the rat, Brain Research 380: 1-6, 1986.

Ker, W. Carlsson, A. and Lindquist, M.. Biochemical aspect of dopamine agonists. Advances in Neurology 9: 185-195, 1975.

Ladinsky, H., Consolo, S., Bianchi, S., Samanin, R. and Ghezzi, D.. Cholinergic-dopaminergic interaction in the striatum: the effect of 6-hydroxydopamine or pimozide treatment on the increased striatal acetylcholine levels induced by apomorphine, piribedil and d-amphetamine. Brain Research 84: 221-226. 1975.

Langnickel, R., Bluth, R. and Oelssner, W.. Various dose-dependent influences of apomorphine on the acetylcholine turnover in striatum and mesolimbic areas of rat brain. Biomedical and Biochemistry Acta 7/8, 42: 937-946, 1983.

Lee, J-M., McLean, S., Maggio, J. E., Zamir, N., Roth, R. H., Eskay, R. L. and Bannon, M. J.. The localization and characterization of substance P and substance K in striatonigral neurons. Brain Research 371: 152-154, 1986.

Lester, H. A.. The response to acetylcholine. Scientific American 236: 106-118, february 1977.

Lipton, M. A., DiMascio, A., Killam, K. F..
Psychopharmacology. A generation of progress. Raven press,
1978.

Loopuijt, L. D. and Van Der Kooy, D.. Organization of
the striatum: collateralization of its efferent axon. Brain
Research 348: 86-99, 1985.

Lynch, G. and Baudry, M.. The biochemistry of memory:
A new and specific hypothesis. Science 224: 1057-1063, 1984.

Maler, L., Fibiger, H. C., McGeer, P. L..
Demonstration of the nigrostriatal projection by silver
staining after nigral injections of 6-hydroxydopamine.
Experimental neurology 40: 505-515, 1973.

Marco, E., Mao, C. C., Cheney, D. L., Revuelta, A.,
Costa, E.. The effects of antipsychotics on the turnover
rate of GABA and acetylcholine in rat brain nuclei. Nature
264: 363-365, 1976.

McGeer, E. G., Staines, W. A. and McGeer, P. L..
Neurotransmitters in the basal ganglia. Le Journal Canadien
des Sciences Neurologiques 11: 89-99, 1984.

McGeer, P. L., McGeer, E. G. and Hatory, T..
Biochemical interactions in the basal ganglia. Progress
Brain Research 51: 285-301, 1979.

McGeer, P. L., McGeer, E. G., Fibiger, H. C. and
Wickson, V.. Neostriatal choline acetylase and
acetylcholinesterase following selective brain lesions.
Brain research 35: 308-314, 1971.

Melis, M. R. and Gale, K.. Intranigral application of
substance P antagonists prevents the haloperidol-induced

activation of striatal tyrosine hydroxylase.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 326: 83-86, 1984.

Merlie, J. P., Isenberg, K., Carlin, B. and Olson, E. N.. Regulation of synthesis of acetylcholine receptors. Trends in Pharmacological Sciences 5: 377-379, 1984.

Neill, D. B. and Grossman, S. P.. Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of the dorsal and ventral caudate of rats. Journal of Comparative and Physiological Psychology 71: 311-317, 1970.

Ottersen, O. P. and Storm-Mathisen, J.. Glutamate- and GABA-Containing neurons in the mouse and rat brain, as demonstrated with a new immunocytochemical technique. Journal of Comparative Neurology 229: 374-392, 1984

Prado-Alcalá, R.. Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory?. Life Sciences 37: 2135-2142, 1985.

Prado-Alcalá, R. Papel de la actividad colinérgica del núcleo caudado en la memoria. Revista Mexicana de Psicología 11: 106-108, 1985.

Prado-Alcalá, R. A., Cepeda, G., Verduzco, L., Jimenez, A. and Vargas-Ortega, E.. Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. Neuroscience Letters 51: 31-36, 1984.

Prado-Alcalá, R. A., Cobos-Zapian, G. G.. Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a "moving" engram. Brain Research 172: 577-583, 1979.

Prado-Alcalá, R., Fernandez-Samblancat, M. and Solodkin-Herrera, M., Injection of atropine into the caudate nucleus impair the acquisition and the maintenance of passive avoidance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 22: 243-247, 1985.

Prado-Alcalá, R., Gomez-Gomez, L. A. and Lopez-Miro, F. A.. Cortical spreading depression and state-dependent learning. A negative finding. *Neuroscience Letters* 8: 203-206, 1978.

Prado-Alcalá, R. A., Grinberg, J. Z., Alvarez-Leefmans, F. J. Gomez, A. G. Singer, S. and Brust-Carmona, H.. Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of the corpus striatum in rats. *Physiology and Behavior*, 15, 283-287, 1975.

Prado-Alcalá, R. A., Grinberg, J. Z., Arditti, Z. L., García, M. M., Prieto, H. G. and Brust-Carmona, H.. Learning deficits produced by chronic and reversible lesion of the corpus striatum in rats. *Physiology and Behavior* 15: 283-287, 1975.

Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P. and Moscona, R.. Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 12: 249-253. 1979.

Prado-Alcalá, R. A., Maldonado, M. G. and Vázquez Nin, G. H.. Caudate nucleus lesions and Passive avoidance: a quantitative study. *Boletín de Estudios Médico Biológico.*, Mex.30: 211-215, 1979.

Prado-Alcalá, R. A., Signoret-Eduard, L., Figueroa,

M., Giordano, M. and Barrientos, M. A.. Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term, but not with short-term retention of passive avoidance. Behavioral and Neural Biology, 42, 81-84, 1984.

Rago, L. K., Kiivet, R. A., K. Harro, J. E. and Allikmets, L. H.. Benzodiazepine binding sites in forebrain and kidneys: evidence for similar regulation by GABA agonists. Pharmacology Biochemistry and Behavior 24: 1-3, 1986.

Rothman, A. H. and Glick, S. D.. Differential effects of unilateral and bilateral caudate lesions on side preference and passive avoidance behavior in rats. Brain Research 118: 361-369, 1976.

Saito, S., Matsumoto, A., Watube, S. and Ishikawa, K.. GABAergic neurons and formation of long-term memory. Symposium: Biochemistry and Pharmacology of Memory XXIII Congreso Internacional de Psicología, Acapulco 1: 132, 1984.

Scatton, B.. Effect of dopamine agonists and neuroleptic agents on striatal acetylcholine transmission in the rat: evidence against dopamine receptor multiplicity. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 220: 197-202, 1982.

Schultz, W. and Ungerstedt, U.. Short-term increase and long-term reversion of striatal cell activity after degeneration of the nigrostriatal dopamine system. Experimental Brain Research 33: 159-171, 1978.

Scrito, S., Matsumoto, A., Watube, S. and Ishikawa

K.. Gaergic neurons and formation of long-term memoria. Symposium: Biochemistry and pharmacology of memoria. XII Congreso Internacional de sicologia, 1, 132, Acapulco, 1984.

Sherman, K. A., Hawin, I. and Zigmon, M. J.. The effect of neuroleptics on acetylcholine concentration and choline uptake in striatum: implications for regulatin of acetylcholine metabolism. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 206: 677-686, 1978.

Siegel, Albers, Agranoff, Katzman. Basic neurochemistry, 3ra edicion, Little , Brown and Company Boston, 1972.

Soof, J. C. and Kebebian, J. W.. Two dopamine receptors biochemistry physiology and pharmacology. Life Sciences 35: 2216-2281, 1984.

Stoof, J. C.. Dopamine receptors in the Neostriatum: biochemical and physiological studies. American Chemical Society, 117-144, 1983.

Stoof, J. C., Den Breejen, E. J. S. and Mulder, A. H.. GABA modulates the release of dopamine and acetilcholine from rat caudate nucleus slices. European Journal of Pharmacology 57: 35-42, 1979.

Stadler, H., Lloyd, K. G., Gadea-Ciria, M. and Bartholini, G.. Enhanced striatal acetylcholine release by chlorpromazine and its reversal by apomorphine. Brain Research 55: 476-480, 1976.

Wagda, I. S., Manigault, I., Hudick, J. P. and Lajtha, A.. Regional and subcellular distribution of choline acetyltransferase in the brain of rats. Journal of

Neurochemistry 21: 1385-1401, 1973.

Watson, M.. Funcional and bichemical basis for multiple muscarinic acetylcholine receptors. Progress in Neuropsychopharmacol Biology Psychiatry, 9 [5-6] , 569-564, 1985.

Wyers, E. S. and Deadwyler. Duration and nature of retrograde amnesia produced by stimulation of caudate nucleus. Physiology and Behavior 6: 97-103, 1971.

Wyers, E. I., Dedwyler, S. A., Hirasuna, N. and Montgomery. Pasive avoidance retention and caudate stimulation. Pysiology Behavioral 11: 809-819, 1973.

Zetterstrom, T., Sharp, T. and Ungerstedt, U., Effect of neuroleptic drugs on striatal dopamine release and metabolism in the awake rat studied by intracerebral dialysis. European Journal of Pharmacology 106: 2-37, 1985.

Zonetzer, S. F. and Chonister R. B.. Neuroanatomical localization of memory disruption. Physiology and Behavior, 10, 747-775, 1973.

APENDICE I

DOPAMINA:

La dopamina (3,4 dihidroxifeniletilamina), es un poderoso agente simpaticomimético, precursor metabólico inmediato de la noradrenalina y la adrenalina; es un neurotransmisor central, sustrato de la monoamino oxidasa (MAO) y de la catecol-o-metiltransferasa (COMT); inyectada no tiene efectos centrales por que no cruza facilmente la barrera hematoencefálica, por lo cual es ineficaz cuando se administra por vía sistémica.

La liberación de dopamina (DA) desde las terminales nerviosas de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, depende de la actividad nerviosa y está regulada a nivel presináptico. Varios neurotransmisores que están en el estriado, pueden regular presinápticamente la liberación de dopamina estriatal (Chesselet, 1982).

Interacción con la acetilcolina:

La liberación de dopamina desde la terminal axónica de la neurona dopaminérgica nigroestriatal no solamente depende de la actividad nerviosa ya que también puede ser regulada a nivel presináptico (Chesselet, Cheramy, Reisine, Lubetzki y Glowinski, 1982).

Los agonistas muscarínicos y nicotínicos, por acción específica sobre los receptores colinérgicos, aumentan la liberación espontánea de dopamina recién sintetizada. La

acetilcolina estimula la liberación de DA marcada, en rebanadas estriatales de rata, por acción de receptores nicotínicos y muscarínicos (Giorguieff-Chesselet et al., 1979 citado por Chesselet et al. 1982). No se puede excluir la posibilidad de una acción directa de la ACh en la terminal nerviosa dopaminérgica por la persistencia de sus efectos en presencia de tetradotoxina y en preparaciones sinaptosomales. La regulación presináptica colinérgica de la dopamina también puede depender de la tasa de actividad nerviosa de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales.

La ACh actúa directamente sobre las terminales nerviosas dopaminérgicas aferentes al cuerpo estriado. Los receptores nicotínicos están localizados sobre las terminales nerviosas dopaminérgicas, no así los receptores muscarínicos que se encuentran sobre la membrana postsináptica (Straton, 1981); estos últimos presentan cambios adaptativos a través de mecanismos transinápticos después de alguna lesión.

Interacción con opiáceos:

Con estudios de unión, se ha demostrado la presencia de receptores a opiáceos en NC. Las lesiones nigroestriatales con 6-OHDA provoca una disminución en los sitios de unión de leu-enkefalina y naloxona marcada (Pollar et al 1977, citado por Chesselet et al., 1982).

Los sitios receptores opiáceos en el estriado, están localizados en las aferencias estriatales, las interneuronas y las eferencias estriatales. Como se describirá adelante, se han descrito 4 tipos de receptores opiáceos (μ , κ , δ , σ).

delta, y gamma) que tienen agonistas específicos. De éstos el μ y el gamma tienen efectos en la regulación de la transmisión dopaminérgica.

Los opiáceos pueden producir un incremento en la liberación de dopamina in vitro, que es mediado por la acción de receptores gamma (Chesselet et al., 1982; Chesselet, 1984) localizados sobre las terminales nerviosas dopaminérgicas; por acción sobre estos mismos receptores, en algunos casos los opiáceos exógenos y la encefalina estriatal pueden regular presinápticamente la transmisión dopaminérgica en el estriado. In vivo actúan preferencialmente sobre receptores μ modulando también la liberación de dopamina marcada (Chesselet 1984).

La diferencia de efectos en los patrones inducidos por agonistas μ y gamma, sugieren que distintos mecanismos son disparados por la estimulación de estos dos tipos de receptores a opiáceos en el estriado (Chesselet et al., 1982; Chesselet, 1984).

Interacción con B-adrenérgicos:

El estriado contiene una alta densidad de sitios b-adrenérgicos aunque posee escasa inervación noradrenergica, lo que indica un papel regulador de la noradrenalina sobre la transmisión dopaminérgica estriatal (Resine et al., 1979; citado por Chesselet 1982). La noradrenalina en el estriado puede modular postsinápticamente la transmisión dopaminérgica a través de una acción sobre beta-receptores, localizados sobre las terminales dopaminérgicas. Estas posibilidades se

ven apoyadas por el hecho de que después de la degeneración inducida por 6-OHDA (Cooper, Bresse, Lester, et al., 1983) en neuronas nigroestriatales se observa una disminución en los sitios de unión β -adrenérgicos (Chesselet, 1984).

Interacción con aminoácidos:

El ácido L-glutámico ha sido propuesto como un neurotransmisor excitatorio en numerosas sinapsis en el sistema nervioso central, y es el transmisor de las neuronas corticoestriatales (Divac et al., 1977 citado por Chesselet et al., 1982), que puede controlar la transmisión dopaminérgica estriatal a nivel presináptico.

En contraste, el glutamato, el GABA y la glicina son transmisores inhibitorios en el sistema nervioso central. Sin embargo, tanto el ácido L-glutámico como el glutamato aumentan la liberación de dopamina marcada en rebanadas estriatales; estos efectos involucran receptores específicos que son bloqueados por la picrotoxina y la estriocina, respectivamente (Giorguieff-Chesselet et al., 1979; citado por Chesselet, 1982).

El GABA y la glicina, controlan la dopamina en el estriado indirectamente, mediando su acción sobre un receptor localizado en interneuronas estriatales que interaccionan con terminales nerviosas dopaminérgicas.

RECEPTORES PARA DOPAMINA:

Los receptores para dopamina pueden clasificarse de acuerdo con su ubicación en relación con la sinapsis, en dos

categorías: 1) receptores presinápticos y 2) receptores postsinápticos.

1.- Los receptores presinápticos o autorreceptores se pueden encontrar localizados sobre el axón de las terminales dopaminérgicas o sobre la región somato-dendrítica; los primeros participan en el control local de la síntesis y liberación de dopamina, mientras que los que se encuentran localizados sobre la región somato-dendrítica controlan la tasa de disparo de las células dopaminérgicas.

2.- Los receptores postsinápticos para dopamina están localizados sobre neuronas inervadas por células dopaminérgicas y se clasifican en D1 y D2 de acuerdo con la capacidad de la dopamina para estimular la producción de AMP cíclico (Grace et al., 1985).

Receptores presinápticos de dopamina:

Las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales poseen receptores para dopamina, que se encuentran en las terminales nerviosas del neostriado (autorreceptores presinápticos), y también se encuentran en el soma y las dendritas (autorreceptores somadendríticos) (Stoof, 1983). La estimulación de todas las categorías de receptores, regulan la síntesis, el recambio y la liberación de dopamina en el neostriado por diferentes mecanismos.

La estimulación de receptores presinápticos en las terminales nerviosas dopaminérgicas del neostriado, inhiben la actividad de la hidroxilasa de la tirosina y la síntesis de dopamina.

Los efectos que pueden tener las drogas dopaminérgicas sobre los autorreceptores presinápticos incluyen:

1. Bloqueo de receptores de dopamina por administración de neurolepticos que, como se ha demostrado, inducen una activación alostérica de la hidroxilasa de la tiroxina, la cual es acompañada por un aumento de la tasa de recambio de dopamina y una acumulación de ácido fenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA).

2. Los agonistas dopaminérgicos producen una disminución en las concentraciones cerebrales de DOPAC y HVA, que puede ser antagonizada por drogas neurolépticas.

3. La interrupción del flujo de impulsos en neuronas dopaminérgicas se puede obtener por administración de gamabutirolactona (GBL). En presencia de inhibidores de la dopadescarboxilasa se induce una acumulación de dopa, que puede ser antagonizada por pretratamientos con neurolépticos (Grace y Bunney, 1985).

Aplicaciones sistémicas o intranigrales de agonistas del receptor dopaminérgico deprimen el disparo de las células dopaminérgicas nigroestriatales, por la estimulación de autorreceptores somadendríticos en la zona compacta, un efecto que puede ser antagonizado con pretratamientos con neurolépticos (Soof, 1983).

Aparentemente los receptores dopaminérgicos postsinápticos, localizados sobre las neuronas estriatonigrales, juegan un papel menor en la regulación de la síntesis y el recambio de dopamina en las neuronas dopaminérgicas; el papel principal se atribuye a los

autorreceptores dopaminérgicos (Sooof y Keabian, 1984).

Receptores de dopamina tipos D1 y D2:

En 1972 se iniciaron estudios bioquímicos de receptores dopaminérgicos y se identificaron receptores estimulados por la adenilciclase; a estos receptores asociados a la estimulación de la actividad de la adenilciclase Keabian y Calvin los denominaron receptores dopaminérgicos D1 (Creese, 1984; Scatton, 1982).

En 1975 se encontró que habían sitios de unión para butirofenonas (haloperidol), que son neurolépticos antagonistas dopaminérgicos en el estriado; la distribución de estos sitios de unión para drogas neurolépticas de muchas clases químicas era similar a la de terminales nerviosas que contienen dopamina y tienen afinidades nanomolares que se correlacionan con sus efectos sobre el comportamiento (Creese, 1982).

Los receptores D2 no están asociados con la adenilciclase o la pueden inhibir, pero se unen con alta afinidad a neurolépticos (butirofenonas o benzamidas). Los receptores D2 también se pueden encontrar en sitios postsinápticos a las terminales dopaminérgicas en el estriado.

Procesos regulados por el receptor D2:

Interneuronas colinérgicas del estriado. Los niveles de ACh estriatal son aumentados por agonistas dopaminérgicos D2 y disminuyen por antagonistas del receptor D2, ya que los

agonistas selectivos D2 en las neuronas colinérgicas estriatales bloquean la liberación de ACh e incrementan el contenido de la misma. Los agonistas selectivos de D1 no inhiben la liberación de ACh (Soof et al., 1984).

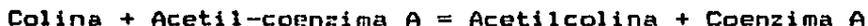
Neuronas dopaminérgicas del estriado. La liberación de dopamina in vitro puede ser inhibida por la dopamina y agonistas del receptor D2. La dopamina inhibe la liberación de beta-endorfinas por estimulación del receptor D2.

Celulas que poseen ambos receptores a la dopamina, D1 y D2 :

La dopamina puede estimular e inhibir la formación de AMP cíclico en el estriado; esto indica la existencia de un receptor D2 que inhibe la formación de AMP-cíclico y que también actúa estimulando receptores D1. Es posible que la población neuronal posea ambos receptores de dopamina D1 y D2 (Soof, 1983).

ACETILCOLINA

Su capacidad de síntesis depende de la enzima colinacetiltransferasa, que cataliza la reacción:



La enzima se encuentra en las terminales nerviosas y en los tejidos adyacentes e incluso en los tejidos que no tienen inervación nerviosa colinérgica (placenta); en este último caso su papel neuronal es desconocido (Collier, 1975).

Una parte de esta enzima se encuentra libre (soluble),

mientras que la otra se halla unida a partículas; ésto difiere en varias regiones del sistema nervioso. Esta característica se usa para detectar áreas que contienen sinapsis colinérgicas en el cerebro y localizar su salida. La ACh y la acetiltransferasa, están localizadas en los sinptosomas colinérgicos y se usan como marcadores de la parte sináptica de las terminales nerviosas colinérgicas.

Síntesis de ACh:

El precursor de la síntesis de ACh es la colina extracelular. El tejido nervioso no puede sintetizar colina, pero la puede transportar desde el líquido extracelular a la terminal nerviosa.

La colina está en el plasma sanguíneo, el cual tiene niveles de colina libre; en la terminal nerviosa hay una pequeña síntesis a partir de hemicolinio, el cual bloquea la captación de colina por la terminal. También existen pequeñas cantidades de colina libre.

La primera demostración de que el cerebro contiene ACh fue hecha en 1933, y se sabe que solo unas pocas vías neuronales son colinérgicas. Esto se demostró porque la distribución de ACh es paralela a la actividad de la acetilcolintransferasa, además por la concentración de receptores a ACh, midiendo sitios de unión para agentes bloqueadores de ACh, y porque por degeneración neuronal las vías de ACh desaparecen. La ACh neuronal se puede dividir en:

- 1.- ACh libre: liberada por axones colinérgicos que

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

controlan la permeabilidad iónica y genera los cambios de potencial de acción.

- 2.- ACh citoplasmática: la ACh nuevamente sintetizada.
- 3.- ACh unida a vesículas: disponibilidad del trasmisor para ser liberado en cuantos.

Calcio y liberación de ACh:

La presencia de iones de calcio es necesaria en una amplia gama de procesos neurosecretorios; la liberación de ACh de todas las sinapsis es dependiente de calcio y dicha liberación puede ser antagonizada por el magnesio. En otras palabras, la cantidad de ACh liberada esta en función de las concentraciones de calcio intracelular. Hay entrada de calcio a la terminal nerviosa que dispara la liberación de ACh y relativamente pocos iones de calcio son necesarios para inducir su liberación.

Acciones del calcio:

- 1.- Actúa en la membrana fijando cargas negativas por repulsión electrostática.
- 2.- El calcio puede inhibir la unión de sodio, potasio y magnesio a la membrana y activar la ATPasa, la cual controla la liberación de ACh.
- 3.- El calcio puede activar una proteína contráctil, de la cual resulta la liberación del trasmisor (neurotensina).

Inactivación de la ACh:

En la sinapsis colinérgica es importante que cuando se libere el trasmisor, éste sea rápidamente removido de su

sitio de acción sobre la membrana postsináptica. La exposición prolongada de los receptores a ACh produce una desensibilización de estos mismos y un bloqueo de la transmisión sináptica.

Los mecanismos por los cuales el neurotransmisor es removido, son los siguientes: destrucción enzimática, captura o recaptura y difusión. La vía más importante es la destrucción enzimática por hidrólisis, la que se realiza en condiciones fisiológicas en todas las sinapsis colinérgicas.

Destrucción enzimática:

La enzima responsable es la acetilcolinhidroxilasa que cataliza la reacción: $ACh + H_2O = colina + \text{ácido acético}$; no es específica, también participa en la hidroxilación de los ésteres de colina, y es una de varias colinesterasas presentes en los tejidos biológicos. Esta enzima está asociada a membranas localizadas postsinápticamente.

Receptores colinérgicos:

Después de la inyección de ACh en la región de la terminal nerviosa las células colinoceptivas pueden presentar dos tipos de respuesta, identificadas por Dale en 1914:

1) Respuestas nicotínicas: son rápidas, excitatorias, y muy similares a las provocadas por la nicotina, duran milisegundos, y pueden ser bloqueadas por drogas tipo curare, por exceso de nicotina o de ACh.

2) Respuestas muscarínicas: son lentas, se prolongan por segundos, pueden ser excitatorias o inhibitorias, ser

provocadas por muscarina , alcaloides de hongos y tambien por la misma ACh, y son bloqueadas por atropina o escopolamina (Brown, 1983).

Receptores presinápticos:

No todos los receptores para ACh son postsinápticos; esta bien establecido que muchos de ellos tienen localización presináptica, la cual puede estar superficialmente cerca del sitio de liberación del transmisor para que el receptor participe en el mecanismo de retroalimentación.

El receptor involucrado en la mayoría de los casos es muscarínico y la retroalimentación es negativa, los receptores nicotínicos presinápticos juegan un rol menor (Lipton, DiMascio, Killam, 1978).

ACIDO GAMA-AMINO BUTIRICO (GABA).

Este neurotransmisor fué descrito en 1950, aunque su acción como depresor en el sistema nervioso central no se reconoció de inmediato; tiene la peculiaridad de que se produce casi exclusivamente en el cerebro y la médula espinal (Straton, 1981), y al igual que el glutamato es un aminoácido con gran capacidad para alterar la descarga neuronal.

Química del GABA.

La glucosa es el principal precursor del GABA; el piruvato y varios aminoácidos tambien pueden servir de precursores. El primer paso es la transaminación del

alfacetoglutarato, un intermediario del ciclo de Krebs, a ácido glutámico; el ácido glutámico es descarboxilado por la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y forma GABA (Goodman y Gilman, 1980).

Catabolismo del GABA:

El catabolismo del GABA se hace por transaminación, por una enzima dependiente de la vitamina B6, la alfa-cetoglutarato aminotransferasa (GABA-T) que forma semialdehído succínico y un subproducto de amonio; en esta reacción el alfacetoglutarato se combina con amonio y forman ácido glutámico, y de esta manera suple continuamente al precursor del GABA. El semialdehído succínico puede ser oxidado o reducido dependiendo de los cofactores y la presencia de la enzima. Si el nivel de ésta es alto, se oxida y forma ácido succínico el cual entra al ciclo de Krebs en la mitocondria (Lipton et al., 1978).

Las neuronas que contienen GABA y sus terminales se han localizado en varios núcleos de los ganglios basales tales como el estriado, el putamen, y la sustancia nigra; la concentración de GABA en la sustancia nigra es la más alta de todas las áreas cerebrales. Las vías GABAérgicas proyectan desde el estriado donde también existe una gran población de interneuronas intrínsecas GABAérgicas. La mayoría de las neuronas de GABA de los ganglios basales forman circuitos (Saito, Matsumoto, Watube y Ishikawa, 1984) en los cuales se incluyen neuronas que contienen otros neurotransmisores y que además regulan su actividad recíprocamente; al mismo tiempo

las neuronas GABAérgicas están sujetas al control e influencia de varias vías que convergen sobre el estriado, existiendo una función integrativa importante (Gale y Kasu, 1981).

Los cambios ocasionados por drogas o lesiones, aunque no afecten a las neuronas de GABA directamente, pueden causar cambios secundarios en éstas al afectar sinapsis subsecuentes de un mismo circuito neural. De esta manera pueden estar involucradas en cambios patológicos que causan los trastornos del movimiento como en la corea de Huntington o en la discinesia tardía inducida por neurolépticos o en el Parkinsonismo (Gale et al., 1981).

Algunas neuronas estriatales degeneran en la enfermedad de Huntington, en otros casos los cambios son secundarios a la degeneración de otras neuronas cuyos somas se encuentran fuera del estriado, como en la enfermedad de Parkinson. En una vía en la cual hay un cambio en un elemento de la cadena neural se puede alterar el orden de las uniones de la cadena que está interactuando; por ejemplo, los cambios en la actividad dopaminérgica pueden alterar la actividad estriatal y nigral de las sinapsis GABAérgicas. La dopamina puede ejercer una influencia sobre las terminales presinápticas que contienen glutamato que vienen desde la corteza y también sobre las terminales postsinápticas colinérgicas y GABAérgicas de las células estriatales (Gale y Casu, 1981).

El GABA también actúa modulando la liberación de dopamina y ACh estriatales (Stoof, Den Breejen y Mulder, 1979; Marco, Mao, Cheney, Revuelta, Costa, 1976). Las

neuronas GABAérgicas establecen sinapsis unas con otras formando una serie de conexiones inhibitorias, el resultado de este arreglo es desinhibición (Roberts, 1976). En otras palabras, la actividad de un sitio puede deprimir la actividad GABAérgica en otro sitio del neurocircuito. Las sinapsis GABAérgicas en el estriado y en la sustancia nigra juegan mutuamente roles sobrepuestos y responden a cambios en la transmisión dopaminérgica en forma recíproca.

Si se estimulara la síntesis de GABA y esto diera como resultado una mayor liberación, esta no podría ser detectada debido a la rápida captura y degradación del GABA después de dicha liberación. Sin embargo, si su degradación fuera bloqueada, entonces se podría esperar que se acumularan en una tasa proporcional a la velocidad de síntesis. Se ha demostrado un incremento en los niveles de GABA después de una lesión crónica en las fibras gabaérgicas de la sustancia nigra. El GABA también puede ser sintetizado, capturado y degradado en otros compartimientos celulares además de las terminales presinápticas GABAérgicas, aunque grandes cambios en los niveles de GABA que no están asociados a terminales nerviosas GABAérgicas, tienen pequeños efectos sobre la transmisión sináptica.

Después de tratamientos crónicos con haloperidol se han encontrado alteraciones en la síntesis, utilización y recambio del GABA, porque las neuronas dopaminérgicas que inervan el estriado, ejercen una influencia inhibitoria sobre las interneuronas GABAérgicas estriatales. El efecto del

haloperidol sobre la neurotransmisión no dopaminérgica o GABAérgica es considerado secundario al bloqueo de receptores de dopamina producidos por haloperidol (Kamata, Sugimoto y Kaneyama, 1986).

Receptores de GABA:

Los receptores de GABA pueden ser pre o postsinápticos, tienen alta afinidad de unión al sitio receptor del neurotransmisor y se pueden distinguir por el papel que juega el Na^+ en la unión de la molécula con el neurotransmisor.

Las uniones al receptor presináptico son dependientes de Na^+ , mientras que las postsinápticas son independientes y tienen alta afinidad para unirse a GABA radioactivo. Recientemente se ha descrito un tipo de receptor de GABA, que está acoplado al sitio de reconocimiento de benzodiazepinas (GABA-A) y otro receptor que no está ligado a benzodiazepinas (GABA-B) (Rago, Kiiwet, Harro y Allikmets, 1985).

Existen agentes farmacológicos que son capaces de interactuar con el GABA en todas las áreas clásicas para la manipulación de neurotransmisores. Estos son: sitios de síntesis, almacenamiento, liberación extraneuronal, recaptura presináptica, destrucción postsináptica y acción postsináptica.

APENDICE II.

EFFECTOS DEL HALOPERIDOL SOBRE LA INTERACCION ENTRE ACETILCOLINA, DOPAMINA Y ACIDO GAMA AMINO BUTIRICO.

Las drogas neurolepticas son potentes antagonistas del receptor dopaminérgico en el sistema nervioso central, y pueden actuar sobre la dopamina aumentando su liberación o produciendo un incremento en su metabolismo (Zetterstrom, Sharp y Ungerstedt 1985). Hay evidencias de que existe una interacción entre los sistemas dopaminérgicos nigroestriatales y mesolímbicos con ACh y GABA. Los antipsicóticos como la clozapina, la clorpromazina y el haloperidol aumentan la tasa de recambio de dopamina en el núcleo caudado. Los dos últimos son antipsicóticos cataleptogénicos, que muestran un efecto preferencial en el núcleo mencionado (Zivkovic, et al., citado por Marco, Mao, Cheney et al., 1976).

Se han estudiado algunas interacciones entre el haloperidol y dos de los neurotransmisores más abundantes en el neostriado (ACh y GABA):

- El haloperidol carece de efectos anticolinérgicos y reduce el recambio de ACh en el núcleo caudado cuando los receptores dopaminérgicos son bloqueados.

- Aumenta el metabolismo y la liberación de la ACh en esa estructura, pero no en otras áreas límbicas, aumentando

además la utilización de ACh la cual no va acompañada de un aumento en la afinidad para la captura de colina, por lo cual sus niveles no se mantienen constantes, no operando el acoplamiento entre síntesis y secreción en el contenido estriatal de ACh en las interneuronas del caudado (Sherman, Hanin, y Zigmond, 1978).

- Bloquea la inhibición del metabolismo de la ACh estriatal causada por la apomorfina.

- No tiene efecto sobre el metabolismo del GABA en la sustancia nigra pero disminuye el GABA estriatal.

Se ha sugerido la posibilidad de que los receptores muscarínicos regulen el metabolismo del transmisor de las interneuronas intrínsecas GABAérgicas del estriado y de las neuronas GABAérgicas estriatonigrales (Marco, Mao, Cheney, Revuelta, Costa, 1976).

Las drogas neurolépticas bloquean los receptores de dopamina en las neuronas estriatales; esto reduce la inhibición tónica que la dopamina ejerce sobre las interneuronas colinérgicas, aumentando así la utilización de ACh en el estriado. Esta utilización no se acompaña de un aumento de la afinidad para la captación de colina; por esta razón, los niveles de ACh no son mantenidos constantes. Es interesante hacer notar que estos efectos resultan principalmente de un bloqueo de los receptores dopaminérgicos de las interneuronas colinérgicas más que de una acción directa de estas drogas sobre la síntesis de ACh o sobre el receptor de ACh (Consolo, Ladinsky y Bianchi, 1975).

La habilidad de estas drogas para afectar las

concentraciones de ACh estriatal sin afectar la captación de colina no es única de los neurolepticos; también se ha visto que ciertas dosis de atropina producen un incremento en la liberación de ACh y una disminución en las concentraciones estriatales sin afectar la captación de colina dependiente del sodio.

El haloperidol en bajas dosis (0.05 - 0.5 mg/kg) causa cambios en el metabolismo de la dopamina y no tiene efecto sobre su liberación (Zetterstrom et al., 1985), mientras que dosis aun mayores que la dosis máxima efectiva actúan sobre el metabolismo dando una curva dosis respuesta pobre que alrededor de 1mg/kg llega a su meseta (Nicolau, 1980, citado por Zetterstrom et al.,