

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

11261
15
14

« PAPEL DE LA ACTIVIDAD COLINERGICA DEL NUCLEO
CAUDADO EN LA MEMORIA DE LARGO PLAZO »

T E S I S
Que para obtener el grado de:
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
F I S I O L O G I A
Presenta:
RAFAEL SOLANA FIGUEROA.

México D.F. 1991.
UNIVERSIDAD AUTONOMA "BENITO JUAREZ" DE OAXACA.
INTERCAMBIO ACADEMICO U.N.A.M.
PRONAES S.E.P.

Trabajo apoyado por DGAPA (IN-202791) y por CONACYT



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 está 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

página

CAPITULO I

1. INTRODUCCION.....	1
2. UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE MEMORIA (CONDICIONAMIENTO DE PREVENCIÓN PASIVA EN UN ENSAYO).....	17
Actividad colinérgica estriatal y aprendizajes mediados por reforzadores negativos.....	18
A. Ventajas del modelo.....	24
B. Algunos estudios en los que se ha utilizado el modelo.....	26
3. EL SISTEMA COLINERGICO ESTRIATAL	
A. Organización básica.....	32
B. Morfología del Núcleo Caudado (NC).....	35
C. Neuroquímica de la Acetilcolina (AC) en el Núcleo Caudado.....	38
D. Receptores en el Núcleo Caudado.....	41
E. Características generales acerca de la estructura del receptor de acetilcolina....	42
F. Técnicas aplicadas para localizar nervios colinérgicos y colinoceptivos, cuerpos celulares y fibras colinérgicas.....	43
G. Sistema transmisor en el estriado y su relación con otras estructuras del sistema nervioso central.....	48
4. PARTICIPACION DEL SISTEMA COLINERGICO ESTRIATAL EN PROCESOS DE MEMORIA.....	58
A. Tareas mediadas por reforzadores positivos..	60
a) Efectos de la estimulación colinérgica...	60
b) Efectos del bloqueo colinérgico.....	61
B. Tareas mediadas por reforzadores negativos..	64
a) Efectos de la estimulación colinérgica...	65
b) Efectos del bloqueo colinérgico.....	66

CAPITULO II

HIPOTESIS DE TRABAJO.

1. ANTECEDENTES RELEVANTES.....	70
2. HIPOTESIS.....	72

CAPITULO III

1. MATERIAL Y METODO.	
A. Sujetos.....	73
B. Cirugia.....	73
C. Aparatos.....	74
D. Procedimientos de condicionamiento.....	75
E. Procedimientos de microinyección.....	76
F. Tratamientos.....	76
G. Histología.....	78
H. Estadística.....	78

CAPITULO IV

RESULTADOS.....	79
-----------------	----

CAPITULO V

DISCUSION.....	82
REFERENCIAS.....	87

R E S U M E N

Un gran número de evidencias experimentales apoyan la hipótesis de que la actividad colinérgica del estriado participa, importantemente, en los procesos de consolidación de la memoria; asimismo, dicha actividad parece estar involucrada en los procesos responsables de la salida de información almacenada.

Se ha descrito que la aplicación de colina (precursor de la acetilcolina) o de la acetilcolina misma en el estriado, induce una mayor capacidad de memoria, así como una mejoría significativa en la ejecución de respuestas instrumentales. Sin embargo, no existen estudios publicados en los que se haya demostrado que los efectos amnésicos producidos por drogas anticolinérgicas, aplicadas en el estriado, puedan ser revertidos por la aplicación, en esa misma estructura, de drogas que faciliten la función colinérgica.

En el presente trabajo, se entrenaron ratas en una tarea de prevención pasiva, en un ensayo; la retención (memoria) de la tarea se midió 24 horas más tarde. Grupos independientes fueron sometidos a la implantación bilateral, crónica, de cánulas en el estriado anterodorsal o en la corteza parietal. En algunos de ellos se administró atropina antes del entrenamiento, antes de la prueba de retención, o en ambas situaciones. En otros grupos se administró una combinación de atropina (aplicada antes del entrenamiento) y de colina (administrada antes de la retención).

El tratamiento con el anticolinérgico produjo un estado amnésico, que fue directamente proporcional a las dosis empleadas (40 y 80 ug); cuando esta droga se combinó con colina, se indujo una reversión, también dependiente de la dosis (3, 6 y 15 ug), del estado amnésico producido por la atropina.

Estos resultados apoyan fuertemente la hipótesis de que la actividad colinérgica del estriado interviene en los procesos de memoria.

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

Todo lo existente en el Universo es susceptible de ser conocido y aquello que humanamente se conoce, es posible de predecirse con toda precisión cuando tenemos información objetiva acerca de lo existente, es decir cuando identificamos cuáles son los procesos que se manifiestan en el Universo. El carácter predictivo sólo es posible a través del conocimiento científico, es a partir de este instrumento humano como se identifican las leyes objetivas que rigen el comportamiento de los procesos.

El Universo no es caótico, irregular o espontáneo en sus manifestaciones, en ocasiones, es la ignorancia humana la que dá margen a la especulación o a la aventura fantástica de lo existente. Esta observación, puede calificarse superficialmente como "cientificista", sin embargo, en este caso, es el "argumento" inicial para sustentar sin pretensiones, el trabajo experimental que efectué asesorado por el Dr. Roberto Prado Alcalá, que como Tesis de Maestría en Ciencia Biomédicas, en el área de Fisiología, presento para obtener el grado.

A continuación a manera de introducción, resumo los aspectos más relevantes de los orígenes de los conceptos de aprendizaje y memoria.

¿COMO SURGEN LOS CONCEPTOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA?

"La psicología desde el punto de vista conductista es una rama experimental puramente objetiva de la ciencia natural. Su objetivo teórico es la predicción y control de la conducta. Las formas de introspección no son parte esencial de sus métodos, ni

el valor científico de sus datos depende de la disposición con la cual ellos se presten a sí mismos a interpretación en términos de la conciencia" (Watson, 1913).

A menos que nuestros hechos observados sean indicativos de conciencia, no los utilizamos, y a menos que nuestro aparato y métodos estén diseñados para utilizar tales hechos como una ayuda, se piensa que éstos están en un camino equivocado (Watson, 1913).

Para Hull (1943), el estudio de la conducta debe partir de la construcción de estructuras lógicas: La teoría de la conducta parece requerir la utilización de cierto número de estructuras simbólicas que en su mayor parte estén dispuestas en una sola cadena (Hull, 1943).

Quien generaliza el concepto de conducta es Chace (1967), considerando que la conducta, sin duda, es estricta y completamente dependiente de un complejo subyacente de naturaleza física y química; pero al principio, a manera de primera identificación, la conducta como conducta, está impregnada de propósito y cognición. Y tales propósitos y tales cogniciones son justamente tan evidentes, como si esta conducta es la de la rata y si es de la de un ser humano (Chace, 1967). Considera la conducta como un sistema, que concibe los procesos mentales como variables funcionales que intervienen en los estímulos, estados fisiológicos de iniciación, la herencia y el entrenamiento pasado del organismo, por un lado, y las respuestas como resultado final, por el otro. Estas variables que intervienen, se definen como las determinantes de la conducta. Y además, estos determinantes de conducta se subdividen en:

- 1.- Determinantes inmanentes propositivos y cognocitivos.
- 2.- Capacidades.
- 3.- Ajustes de la conducta.

Skinner (1938), considera la conducta como el movimiento de un organismo o de sus partes en un marco de referencia constituido por el organismo mismo o por diversos objetos o campos de fuerza externos. Establece que hay una gran cantidad de conductas que no parecen ser provocadas. La actividad 'espontánea', original del organismo, es sobre todo esta clase, lo mismo que la mayor parte de la conducta condicionada del organismo adulto. Un acontecimiento puede tener lugar sin algún acontecimiento antecedente observado y no obstante puede ser aun tratado adecuadamente en una ciencia descriptiva (Skinner, 1938).

A partir de estas consideraciones, introduce un nuevo concepto: "el de conducta operante".

A la clase de conducta que está correlacionada con estímulos provocadores específicos se le puede llamar conducta respondiente y respondiente a una correlación determinada. El término tiene como objeto expresar el sentido de una relación con un acontecimiento anterior. A la conducta que no está sujeta a esta clase de control la llamaré operante y a cualquier ejemplo específico de la misma lo llamaré una operante. El término hace referencia a un acontecimiento posterior (Skinner, 1938).

Con esta definición, aparece el concepto de aprendizaje como un proceso que se manifiesta por cambios adaptativos de la conducta individual como resultado de la experiencia (Thorpe, 1956).

Hall (1966) considera que el aprendizaje es un proceso individual e interno, y se manifiesta por cambios específicos en el comportamiento, los cuales poseen ciertas características determinantes.

A partir de estas consideraciones, se deduce que el aprendizaje es un cambio de la conducta que resulta de la experiencia. Estos cambios conductuales obedecen a fenómenos adaptativos como resultado de la evolución del reino animal. Entre mejor sea la adaptación del individuo al medio, mejor y mayor posibilidades de supervivencia.

A continuación, resumiré los conceptos actuales sobre el tema de aprendizaje, sintetizados por Prado Alcalá, (1991): Actualmente se consideran dos categorías de aprendizaje: No asociativos y Asociativos.

Los aprendizajes no asociativos son las formas más simples, se caracterizan porque para presentarse no es necesario que se establezca una asociación entre un estímulo y una respuesta, o entre dos estímulos. Los más conocidos son la habituación y la sensibilización:

La habituación, es el decremento de una respuesta ante la presentación repetida de un estímulo que carece de contenido emocional para el individuo. Sirve para eliminar respuestas que no son útiles.

En la sensibilización, hay un incremento en una respuesta ante un estímulo que es aplicado después de otro estímulo intenso o nociceptivo. Este proceso ocurre independientemente del intervalo entre aplicación de los dos estímulos.

El aprendizaje asociativo implica el establecimiento de una

asociación entre un estímulo y una respuesta, o entre dos estímulos; en ellos encontramos el condicionamiento clásico (pavloviano) y el condicionamiento operante o instrumental.

En el condicionamiento clásico, el aprendizaje se establece apareando (asociando) un estímulo neutro, que no produce respuestas reflejas específicas (Estímulo Condicionado, EC), con un estímulo que puede producir una respuesta específica. A este segundo estímulo se le llama Estímulo Incondicionado, EI, y a la respuesta refleja producida por el estímulo incondicionado se le llama respuesta incondicionada. Después de un cierto número de asociaciones, el EC es capaz de producir, por sí solo, la respuesta refleja que en este caso recibe el nombre de Respuesta Condicionada (RC).

En lo antes referido se involucra la asociación de dos estímulos (EC + EI). El aprendizaje (cambio de conducta) consiste en que el sujeto da una respuesta (RC) que antes no era producida por el EC. A este tipo de aprendizaje se le conoce como Reflejo Condicionado dado que la respuesta condicionada es muy similar a la respuesta refleja producida por el EI.

Desde el punto de vista experimental en animales, la situación óptima para establecer el acondicionamiento clásico es cuando el EC precede una fracción de segundo (0.5 seg.) al EI. Cuando el EI aparece antes que el EC, es muy difícil que se establezca el reflejo condicionado.

El condicionamiento operante, también llamado instrumental o aprendizaje por ensayo y error, los organismos pueden estar emitiendo, espontáneamente, un número indeterminado de respuestas

que forman parte de su repertorio conductual (caminar, inhibir sus movimientos, emitir sonidos, acicalarse, etc.). Si alguna de esas respuestas es seguida por algún evento o estímulo favorable para el organismo, entonces esa conducta tenderá a repetirse. En este caso, también veremos un cambio en la conducta, en forma de un incremento en la frecuencia de aparición de la respuesta en cuestión.

A las respuestas o conductas emitidas espontáneamente por un organismo se les llama operantes; al estímulo favorable que sigue a la respuesta se le llama reforzador. Entonces, un reforzador es cualquier estímulo o evento que incremente la probabilidad de que una conducta se repita.

Un sujeto puede estar emitiendo, espontáneamente, un número indeterminado de respuestas ($R_1 \dots R_n$); si alguna de éstas, es seguida por un evento positivo (Reforzador), entonces se incrementará la probabilidad de que esa respuesta se repita más veces que las otras.

De lo anterior, puede deducirse que el condicionamiento operante implica la asociación de una respuesta con un estímulo reforzador. A este proceso asociativo se le llama reforzamiento.

Tomando en cuenta el grado de participación de los sujetos, en el condicionamiento Pavloviano o clásico, el aprendiz es un sujeto pasivo, mientras que el instrumental u operante, para que el sujeto aprenda debe participar activamente en el proceso.

Como se aprecia en los conceptos expuestos, el aprendizaje es un proceso complejo que va desde las formas más simples de estímulo-respuesta característico de organismos menos

evolucionados, hasta fenómenos de asociación que involucran las emociones en aquellos organismos más evolucionados.

En el ser humano encontramos todos los tipos de aprendizaje referidos, con la particularidad de que pueden presentarse cada uno de ellos en situaciones específicas.

LA MEMORIA

El estudio de las leyes de la memoria humana, constituye uno de los capítulos centrales, más esenciales de las Neurociencias.

"Es sabido que cada uno de nuestros sentimientos, impresiones o movimientos deja cierta huella, un rastro que se conserva durante un tiempo bastante prolongado y al producirse las condiciones adecuadas se manifiesta de nuevo, convirtiéndose en materia de conciencia. En virtud de ello entendemos por memoria la impresión (grabado), retención y reproducción de las huellas de la experiencia anterior, lo que da al hombre la posibilidad de acumular información y contar con los indicios de las experiencias anteriores tras desaparecer los fenómenos que la motivaron (Luria, 1975).

Los fenómenos de la memoria pueden relacionarse de igual modo con la esfera emocional que con las percepciones, con el afianzamiento de los procesos motores y con la experiencia intelectual.

"En las primeras etapas, el estudio de los procesos de la memoria se reducía a la investigación de la misma en el hombre y era más bien un estudio de la actividad mnémica y consciente especial del hombre (proceso de aprendizaje intencionado y reproducción de las huellas), y no un proceso amplio de análisis de los mecanismos naturales de impresión de las huellas, que se

manifiestan de igual modo tanto en el hombre como en el animal" (Luria, 1975).

En las postrimerías del siglo XIX y comienzos del siglo XX, aparecieron las investigaciones de Thorndike, quien por primera vez hizo objeto de estudio el proceso formativo de los hábitos del animal, utilizando para ese fin el análisis de cómo el animal aprendía a encontrar su camino en un laberinto y de cómo iba afianzando gradualmente los hábitos adquiridos (citado por Luria, 1975).

Una de las primeras especulaciones realizadas en torno a la naturaleza de la memoria se atribuye generalmente a Müller y Pilzecker (1900). Con el fin de explicar el fenómeno de la retención disminuida del material recientemente aprendido, cuando otra actividad interviene entre el aprendizaje inicial y las pruebas de retención, Müller y Pilzecker propusieron la existencia de un proceso perseverativo de tipo nervioso que se presumía de fácil interferencia por parte de las influencias externas, y que necesariamente se debía a la "consolidación" de la memoria respecto del material recientemente aprendido. La mayor parte de los investigadores actuales han aceptado este concepto, esto es, que el establecimiento de un rastro de memoria tiene lugar en dos estados:

1. El inicial, en el cual este rastro puede perderse.
2. Otro posterior, más estable, que constituye el rastro de memoria "permanente" (Best y Taylor, 1987).

Los fenómenos de conservación duradera de las huellas tras un estímulo dado, han sido apuntadas por los investigadores en

todo el transcurso de la evolución del mundo animal (Luria, 1975).

La excitación momentánea del sistema nervioso de los pólipos mediante una descarga eléctrica suscitaba la aparición de impulsos eléctricos, rítmicos, que podían subsistir durante muchas horas. La excitación momentánea de los tubérculos mamilares superiores del conejo mediante un destello de luz engendraba descargas eléctricas rítmicas, que se podían registrar durante un tiempo bastante largo, reacciones que cabía observar incluso cuando la corriente resultante se tomaba de una neurona aislada (Luria, 1975).

"La continuación de las descargas eléctricas nacidas de un solo estímulo indica que las neuronas son algo más que aparatos receptores de señales y reguladores en base a las señales de las respuestas correspondientes. También conservan las huellas del estímulo, y siguen dando las respuestas rítmicas engendradas por dicho estímulo, mucho tiempo después de que el mismo cesa de ejercer su influjo. El efecto subsiguiente de los influjos del estímulo, constituye, pues, la expresión más elemental de memoria fisiológica que se puede observar tanto en una sola neurona como en el funcionamiento de todo el sistema nerviosos en su conjunto (Luria, 1975).

Los procesos biológicos de los que dependen el aprendizaje y la memoria son complejos, y difícilmente pueden estudiarse en su conjunto. No es de extrañarse, que ante la complejidad de dichos procesos, surjan en la actualidad nuevos conceptos, como es el caso de memoria de "referencia y de trabajo" (para mayores referencias consultar Squire, 1987; Packard y col., 1989).

Básicamente, son tres las teorías sobre las que se basan las explicaciones acerca del establecimiento del aprendizaje y la memoria, a saber: la anatómica, la electrofisiológica y la bioquímica (Prado-Alcalá, 1991).

En la teoría anatómica la adquisición de información (aprendizaje) y el almacenamiento de la misma (memoria), dependen de cambios estructurales que se suscitan en el sistema nervioso central. Se postula que la experiencia de los individuos deja una huella, más o menos permanente, en alguna región cerebral (citado en Prado-Alcalá, 1991).

Existe un periodo de desarrollo crítico en los elementos estructurales del sistema nervioso central, mediante el cual, el cerebro puede modificar su morfología. Se han hecho comparaciones histológicas en cerebros de ratas que fueron expuestas a diferentes situaciones:

Los cambios hormonales facilitan o inhiben el desarrollo cerebral (Sara y Lazarus, 1974).

La desnutrición disminuye el número de dendritas y espinas en el desarrollo del cerebro de la rata (Salas y col., 1974). La restricción o alteración en las dietas administradas durante el desarrollo postnatal temprano en algunos roedores en el laboratorio, causaron una reducción total en el número de células en el cerebro (Barnes and Altman 1973; Chase y col., 1969; Culley y col., 1968).

El factor de crecimiento nervioso (NGF), es una proteína tipo insulina que induce la diferenciación morfológica y metabólica de neuronas simpáticas y sensoriales (Levi-Montalcini

y Angeletti, 1968; Bradshaw y col., 1974). Las neuronas sensoriales son estimuladas por el NGF sólo en un corto período del desarrollo embrionario, lo que influirá en procesos de aprendizaje y memoria posteriormente.

"La estimulación sensorial durante el desarrollo es muy importante para el aprendizaje y la memoria:

Se han efectuado experimentos en los que se obtienen ratas provenientes de las mismas camadas, y posteriormente fueron asignadas a una de las siguientes tres situaciones de estimulación:

- a) en un ambiente empobrecido.
- b) en un ambiente normal.
- c) en un ambiente enriquecido.

En el ambiente empobrecido, cada animal fué alojando en una pequeña caja carente de estimulación ambiental; en el ambiente normal, los animales fueron alojados en pares, en cajas de mantenimiento de tamaño estandar, de tal manera que había una interacción social; y en la condición de ambiente enriquecido, grupos de más de cinco ratas habitaban en jaulas grandes, en las que tenían acceso a una variedad de objetos (escaleras, ruedas de actividad, pedazos de madera, etc.). En esta última situación, los animales estaban sometidos a una mayor estimulación ambiental y una mayor interacción social que aquellas de los dos primeros grupos; en otras palabras, estaban en mejores condiciones de aprendizaje.

Los resultados en este tipo de experimentos han demostrado que los animales mantenidos en un ambiente enriquecido difieren de los otros animales, entre otras cosas, en que el peso neto de

la corteza cerebral está incrementado, las ramificaciones dendríticas son más extensas y el número de espinas dendríticas es mayor; desde el punto de vista neuroquímico también, se encuentran diferencias, los sujetos sometidos a una mayor cantidad de estimulación ambiental presentan un incremento de la actividad colinérgica cortical (citado en Prado-Alcalá, 1991).

Teoría Electrofisiológica.

Como ya se mencionó, se acepta que la memoria puede dividirse en dos etapas: la inicial que se denomina memoria de corto plazo, en la que la información adquirida permanecerá sólo durante un breve período y memoria de largo plazo en la que la información se almacena en forma más o menos permanente.

Durante muchos años la única evidencia que apoyaba esta proposición era la amnesia retrógrada que se veía en muchos pacientes que sufrían traumatismos cerebrales. Estos traumatismos son habitualmente acompañados de pérdida de la memoria para los sucesos que ocurrieron durante el período inmediatamente anterior al daño. Con el advenimiento de la terapéutica con electrochoques al final de la década de los treinta, hubo evidencias ulteriores para esta naturaleza del fenómeno como sucediendo en dos etapas. Aplicando choques eléctricos a través de electrodos en la piel de la cabeza, esto da por resultado la inconciencia e interrumpe, presumiblemente mediante la energía eléctrica, muchos de los circuitos neuronales del cerebro, por lo menos en forma temporal.

Muchos médicos e investigadores que usaron o estudiaron el choque electroconvulsivo (ECS) hallaron que además produce una pérdida diferencial de la memoria sólo para los sucesos que

precedieron inmediatamente al tratamiento (Williams, 1950).

Otros procedimientos que se han usado con éxito para interrumpir la fase de consolidación de la memoria incluyen la hipotermia, el coma insulínico, las convulsiones por metrazol, la anoxia, algunas sustancias anestésicas y la aplicación de sustancias químicas (bloqueadores de vías) o estímulos eléctricos a regiones locales del cerebro.

Cuando un animal es sometido a algún tipo de aprendizaje e inmediatamente después se le aplica un tratamiento que interfiera con la actividad cerebral (por ejemplo, un choque electroconvulsivo), el sujeto se comportará como si nunca hubiera aprendido. En otras palabras, presentará cuadro de amnesia. Sin embargo, si el tratamiento es aplicado (en grupos independientes de animales) a intervalos crecientes a partir de la experiencia de aprendizaje, entonces la magnitud de la amnesia será menor, hasta que se llega a un intervalo en el cual la interferencia con la actividad cerebral no produce ninguna alteración en la memoria (citado en Prado-Alcalá, 1991).

Es pertinente señalar que al excitarse un sistema sensorial, comúnmente participan múltiples receptores del mismo, y el mensaje neural es enviado a través de numerosas fibras al sistema nervioso central. Este mensaje contiene en forma de potenciales de acción (todo o nada), todas las dimensiones del estímulo: duración, intensidad, patrón temporal y espacial, polaridad, espectro de energía, relaciones de fase, etc. (citado en Benitez Díaz, 1991). De tal forma que si consideramos que existen zonas de asociación cortical que parecen estar organizadas como para hacer un agregado de información sensorial desde una amplia

variedad de fuentes, olfatorias, visuales, auditivas, táctiles, de la pared corporal, etc., utilizan la información para poder especificar acciones que estén de acuerdo con motivaciones específicas (Best y Taylor, 1978).

Se cree que durante la fase de adquisición, cuando aún no se ha consolidado la memoria (es decir, durante la memoria a corto plazo), la información se mantiene en el sistema nervioso a través de la actividad eléctrica (potenciales de acción) de conjuntos neuronales que forman circuitos reverberantes o de retroalimentación. Esta sería la razón por la cual la aplicación de tratamientos que interfieren con la actividad eléctrica cerebral produce amnesia de eventos recientes, que todavía no han pasado a formar parte del almacén permanente o de largo plazo (citado en Prado-Alcalá, 1991).

Por último, de acuerdo a la teoría bioquímica, se cree que el almacén permanente de la información aprendida debe estar representada por cambios constantes en el sistema nervioso. Cualquiera que fuese la naturaleza de dichos cambios, éstos serían producidos por un incremento en la producción de proteínas. Los estudios experimentales en este campo pueden ser agrupados de acuerdo con las tres técnicas básicas que se han utilizado:

- 1.- Medición de la cantidad de proteínas formadas en una situación de aprendizaje.
- 2.- Determinación de los efectos de la aplicación de inhibidores de la síntesis de proteínas sobre el establecimiento de la memoria.

3.- Medición de la incorporación de precursores de proteínas en el tejido cerebral.

(citado en Prado-Alcalá, 1991).

Se ha encontrado que cuando se entrenan animales en tareas que implican un incremento en cierto tipo de actividad motora (equilibrio), el contenido de ácidos nucleicos se incrementa en las regiones cerebrales correspondientes (núcleo de Deiters). Resultados equivalentes se han encontrado en situaciones de aprendizaje más específicas, por ejemplo al analizar cerebros de ratas que fueron entrenadas a evitar un compartimiento oscuro, en el que previamente habían recibido descargas eléctricas, se ha encontrado una proteína que no aparece en los cerebros de ratas que no han sido entrenadas en esa tarea. Asimismo, se ha encontrado que después de aprender este tipo de tareas, se incrementa, en forma selectiva, la formación de receptores a ciertos neurotransmisores (acetilcolina, norepinefrina, etc.) en las membranas neuronales de regiones corticales y subcorticales.

En concordancia con la postulación de la existencia de dos tipos de memoria, la aplicación intracerebral de antibióticos (inhibidores de la síntesis de proteínas) inmediatamente después de una experiencia de aprendizaje, produce un cuadro de amnesia retrógrada. Cuando el tratamiento se aplica mucho tiempo después de dicha experiencia, ya no se encuentran deficiencias mnémicas.

Por último existen datos experimentales de estudios en donde se inyectan precursores de proteínas marcados radioactivamente, inmediatamente antes o después de una sesión de entrenamiento. Se encuentra que existe una incorporación del precursor en neuronas de zonas del cerebro que están involucradas en procesos de

aprendizaje y memoria (citado en Prado-Alcalá, 1991).

Desde mi punto de vista, considero que las tres teorías propuestas, se encuentran involucradas en una relación estrecha. Inicialmente, existe un periodo de desarrollo crítico que involucra factores genéticos y ambientales para conformar toda la estructura del sistema nervioso, y una potencialidad del mismo sistema nervioso que ha sido llamada "plasticidad", para continuar con la formación de los elementos estructurales (dendritas, espinas, receptores, enzimas, neurotransmisores, etc.) que involucran directamente a las sinapsis en el sistema nervioso para formar redes neuronales complejas que constituyen los circuitos reverberantes o de retroalimentación, que se observan tanto en las vías sensoriales como a nivel central. Todo tipo de información que llega como potencial de acción, es codificada electrofisiológicamente y este proceso a su vez es capaz de generar cambios bioquímicos según sea el caso. Hay que recordar que el aprendizaje en sí mismo, es un proceso de cambio que será permanente, cuando la integridad del sistema así lo requiera para poder mantener un equilibrio interno, que sea capaz de adaptarse a las condiciones del medio ambiente.

UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE MEMORIA
(CONDICIONAMIENTO DE PREVENCION PASIVA EN UN ENSAYO)

El objetivo central del trabajo experimental que en esta Tesis se presenta, es lo concerniente al papel que representa la actividad colinérgica del núcleo caudado en los procesos de memoria a largo plazo. Una forma lógica de presentar esta revisión de la literatura, es clasificarla de acuerdo a las técnicas empleadas. Es por ello necesario en este caso, explicar lo concerniente al tipo de reforzador empleado.

Los reforzadores se dividen en dos tipos: positivos y negativos. Se entiende por reforzador positivo, aquel evento que al ser presentado incrementa las probabilidades de la aparición de una respuesta determinada; por ejemplo, cuando después de que un organismo hambriento o sediento ha emitido una respuesta se le da acceso a comida o agua, muy probablemente este organismo emitirá la misma respuesta para así volver a obtener los satisfactores mencionados.

Se entiende por reforzador negativo, por otra parte, aquel evento que al ser omitido incrementa las probabilidades de aparición de una respuesta determinada; por ejemplo, cuando un organismo emite una respuesta que evita la aparición de un estímulo aversivo (comúnmente un choque eléctrico nociceptivo), muy probablemente el organismo emitirá la misma respuesta para así volver a evitar el castigo. Específicamente en este estudio relacionado con aprendizaje de tipo instrumental, se trabajó con un reforzador negativo.

ACTIVIDAD COLINERGICA ESTRIATAL Y APRENDIZAJES MEDIADOS POR
REFORZADORES NEGATIVOS.

"MODELO DE PREVENCION PASIVA EN UN ENSAYO"

En la prevención pasiva, el animal es entrenado a permanecer relativamente inmóvil en uno de los compartimientos de una cámara (posteriormente se hará una descripción detallada de la que fue utilizada en el experimento); si pasa al compartimiento opuesto recibirá allí un choque eléctrico. En este procedimiento el sujeto experimental inhibe su actividad motora. Este modelo ofrece la ventaja de descartar posibles efectos de los tratamientos sobre la actividad locomotriz, permitiendo así determinar hasta que punto se ha interferido con los procesos de la memoria.

En los estudios de prevención pasiva, la tarea puede ser aprendida en UN SOLO ENSAYO; el modelo se presta para realizar estudios en los cuales, los tratamientos pueden aplicarse, en grupos independientes de animales, con intervalos crecientes a partir del momento del entrenamiento ; también puede aplicarse antes de la sesión en la que se medirá la retención de la tarea (comúnmente 24 horas después del entrenamiento). En el primer caso se medirá la memoria de corto plazo, mientras que en el segundo, se medirá la memoria de largo plazo.

Existen reportes en los que se describe que las lesiones del núcleo caudado (NC), producidas por la aplicación de corriente eléctrica o substancias neurotóxicas, producen un marcado deterioro en la retención de la prevención pasiva. También se ha reportado, que la inyección de escopolamina o de atropina en el NC, inmediatamente después del entrenamiento de prevención pasiva

produce un estado amnésico total. Se ha demostrado, además, que este efecto específico en la región anterior del caudado, es la responsable del estado amnésico, puesto que inyecciones similares en el hipocampo, la corteza parietal o en el NC posterior no producen tal efecto (para una revisión ver Prado-Alcalá, 1985).

Iniciación del empleo de prevención pasiva y reportes experimentales:

Thompson y col. (1955, 1958), iniciaron el empleo de un ensayo en tareas de aprendizaje, Pearlman y col. (1959) aplicaron un sólo electrochoque (ECS), para minimizar los efectos acumulativos en los estados convulsivos múltiples. A partir de esta propuesta de investigación, muchos investigadores utilizaron un sólo ensayo para distinguir los efectos de una sólo aplicación de ECS, de aquellos que utilizaban tratamientos con múltiples ECS (King, 1965, 1967; Madsen y McGaugh, 1961; McGaugh y Madsen, 1964; Hudspeth y col., 1964; Chorover y Schiller, 1965).

Hudspeth y col. (1964) efectuaron ensayos en ratas bajo una situación de aprendizaje por "evitación inhibitoria" (actualmente llamada prevención pasiva). En estas tareas, los animales eran castigados por emitir una respuesta, la retención estaba indicada por la renuencia para efectuar dicha respuesta en un siguiente ensayo. Las ratas recibieron en un sólo ensayo de aprendizaje un sólo ECS cada día por un período de ocho días.

Es a partir de esta consideración experimental como surge la idea de utilizar un choque eléctrico en un sólo ensayo, para obtener un aprendizaje de tipo instrumental, además de demostrar la correlación de un estímulo nociceptivo y el aprendizaje, y no

correlacionar la convulsión al paso de corriente a través del cerebro, que dá por resultado la interferencia con la ejecución de la respuesta aprendida (McGaugh and Herz, 1972).

En 1969 Cherkin demostró que sólo con tratamientos ECS de alto voltaje no se presenta la consolidación de la memoria. Propuso que dadas las variaciones en el gradiente amnésico, estas pueden ser producidas por variar la intensidad y duración de los tratamientos amnésicos. Cuando la tarea y procedimiento de entrenamiento se mantienen constantes, el grado de amnesia puede variar con el grado de interrupción de la actividad neural producida por el tratamiento. Esta hipótesis es fuertemente apoyada por evidencias de numerosos estudios en los que el grado de amnesia producida por ECS varía directamente con la intensidad de la corriente (Miller, 1968; Dorfman y Jarvik, 1968b; Jarvik y Kopp, 1967b; Hughes y col., 1970a; Lee-Teng, 1967). Hay evidencias que la amnesia varía también con la duración de la corriente del ECS (Alpern y McGaugh, 1968).

Hasta la fecha, la técnica de condicionamiento de prevención pasiva en un ensayo, es el procedimiento que más se emplea en los estudios de los efectos farmacológicos que influyen en el aprendizaje y la memoria tomando como fundamentos los experimentos previamente descritos.

La popularidad en el uso de tal procedimiento, plantea diversas ventajas, incluyendo el hecho de que la respuesta al condicionamiento es rápidamente aprendida, la memoria es estable durante un tiempo substancial después del entrenamiento, y los resultados obtenidos son los mismos a los observados usando otros procedimientos (Gold, 1986).

En este tipo de procedimiento, lo importante es la latencia que se lleva el sujeto experimental para pasar al compartimiento de castigo donde recibirá el choque eléctrico, es en esta latencia en donde se mide la "acción" de retención; altas latencias son interpretadas como buena retención, bajas latencias indican mala retención (llamadas frecuentemente amnesia) (Gold, 1986).

Estos procedimientos son comúnmente empleados para evaluar los efectos de diversos tratamientos que influyen en la memoria. Los sujetos de prueba reciben tratamientos (hormonas, neurotransmisores, precursores de neurotransmisores, bloqueadores de receptores, medicamentos, etc.) antes o poco después del entrenamiento obteniéndose posibles resultados de los efectos retrógrados, los cuales pueden ser observados en la prueba del entrenamiento.

Existen diversos aspectos de "control", importantes en estos procedimientos:

Primero.- Todos los sujetos a prueba experimental diferentes del control, no reciben tratamiento, por consiguiente, los efectos observados en la prueba de retención en la ejecución experimental, no pueden ser atribuidos a la aplicación del tratamiento o a la estimulación sensorial o motora en el acto aprendido.

Segundo.- Los tratamientos efectuados antes o después del ensayo de retención, no reflejan influencias proactivas sobre las variables ejecutadas en el curso del ensayo experimental. Esto se refiere al hecho de que se le

puede administrar cualquier sustancia al sujeto de prueba, sin que ello modifique la conducta que seguiría normalmente sin dicha aplicación.

La efectividad del tratamiento disminuye si aumenta el tiempo de la aplicación. antes o después del entrenamiento.

El tratamiento es efectivo en la modulación de la memoria, cuando se administra inmediatamente antes o después del ensayo, pero no una hora después del entrenamiento, dependiendo esto de la droga y la dosis empleada.

Una pregunta que surge al emplear esta técnica, es si objetivamente, los experimentos de prevención pasiva, reflejan el aprendizaje y la memoria.

Gash y Thomas (1983), se preguntaron que relación causal existe entre los procesos de memoria y las tareas de prevención pasiva.

Los autores mencionados no establecieron una impresión general en la que indicaran que algún tipo de ejecución puede ser el mejor, admitiendo una inferencia hecha a partir de construcciones teóricas fundamentales (aprendizaje, memoria, recordar, motivación). Como puede verse, la intención de sus comentarios, es dirigida lógicamente a todos los estudios de neurobiología del comportamiento.

La interpretación ofrecida por Sahgal (1984) es más precisa, en el sentido de considerar que la latencia medida en la retención es decisiva, porque la medición escogida adecuadamente

muestra que los sujetos experimentales realmente recuerdan que recibieron un choque eléctrico en uno de los compartimentos durante el entrenamiento.

Sahgal (1984) considera que los estados de choque electroconvulsivo producen alteraciones en todo el rango de comportamiento, tomando en cuenta variables importantes como la motivación y el recuerdo. Planteamiento ya hecho por Heise en 1981.

Es en el curso de la prevención pasiva en donde se suscitan respuestas fisiológicas que pueden llamarse "temor" o "recuerdo", lo que sucede es que las respuestas fisiológicas, son respuestas organísmicas en los entrenamientos como una parte de los determinantes biológicos en el almacenamiento de la memoria.

El entrenamiento puede resultar como un cambio relativamente estable en el sistema nervioso. El entrenamiento puede también evocar una serie de respuestas biológicas que promueven el almacenamiento de la información ((Gold, 1984; Gold y McGaugh, 1975, 1978; Kety, 1970; Krasne, 1978; McGaugh, 1973).

En los términos de Krasne (1978) la duración de los cambios cerebrales son procesos intrínsecos y la regulación de esos cambios son procesos extrínsecos que interactúan para establecer la memoria.

Las evidencias empíricas, sugieren que la excitación a partir de los efectos producidos por el choque eléctrico, quizás se relacionan con componentes fisiológicos como la presión sanguínea, la desincronización electrográfica, los cambios cardiacos y otras propiedades en los recuerdos. Estos componentes fisiológicos son correlaciones esenciales en la modulación de la

memoria (Krasne, 1978).

A. VENTAJAS DEL MODELO.

Una ventaja sustancial es un mejor control de la conducta del sujeto experimental.

El procedimiento de entrenamiento es fácilmente manejado.

El sujeto experimental (rata) no genera un importante estado de stress al manipularlo, situandolo en el compartimiento de "seguridad".

Se mantienen invariables los estímulos ambientales para distintos grupos experimentales. Los sujetos se adaptan con facilidad al medio experimental.

Todos los sujetos experimentales empleados para el ensayo; del compartimiento de "seguridad", pasan al compartimiento de "castigo" con o sin el empleo previo de técnicas quirúrgicas realizadas y/o medicamentos administrados.

La tarea efectuada por el animal, es rápidamente aprendida, lo que permite evaluar con precisión los cambios en el almacén de la memoria.

El comportamiento del animal no muestra grandes variaciones individuales en los grupos sometidos a la tarea del aprendizaje.

Hasta la fecha, durante el evento de entrenamiento en un sólo ensayo, éste ha revelado modificaciones cerebrales tanto en lo estructural como en lo bioquímico o en lo fisiológico (Lynch, McGaugh y Weinberger, 1984), y los procesos modulatorios post-entrenamiento en la memoria reflejan las alteraciones en la eficiencia de dichos procesos.

Los estudios en la modulación de los procesos de la memoria

consiguientemente brindan ventajas en el entrenamiento, principalmente por poder identificar el "momento" en el que el proceso cerebral es responsable del almacenamiento de la memoria y que procesos reguladores endógenos se inician.

Cuando se utilizan grupos experimentales, aplicándoles tratamientos que causen daño a la "retención" a un elevado porcentaje de los mismos, obtenemos referencias que pueden ser generalizadas, revelando diferencias de grupo y no sólo de casos "particulares".

Actualmente la estrategia seguida en los estudios de la memoria, ya sea investigando procesos reguladores (Gold, 1984; McGaugh y Gold, 1986) o buscando engramas (Thompson, 1983; Thompson, Berger y Madden, 1983), son utilizando tareas de un solo ensayo como la prevención pasiva o a través de ensayos múltiples como en el condicionamiento clásico.

La desventaja de utilizar el condicionamiento clásico para evaluar la respuesta del neurotransmisor u hormonas inmediatamente después de las tareas de entrenamiento, es el tiempo en el cual se obtienen las mediciones de dichas tareas, debido a la necesidad de plantear ensayos múltiples, lo que oscurece el tiempo de adquisición y por lo tanto dificulta su control.

Como ya se ha enfatizado, la ventaja de las tareas en un sólo ensayo, como la prevención pasiva, es el hecho de que la tarea es rápidamente aprendida y fácilmente retenida.

Por lo tanto: el aprendizaje, la memoria, el deterioro de la memoria, la relación tiempo-dependencia y sus efectos en los tratamientos sobre la memoria, la especificidad de algunos

tratamientos para algunas respuestas aprendidas, etc., pueden estudiarse adecuadamente empeando la prevención pasiva, técnica que no solamente es apropiada sino conveniente.

B. ALGUNOS ESTUDIOS EN LOS QUE SE HA UTILIZADO EL MODELO.

Hemos mencionado que los estudios que utilizan tareas de prevención pasiva han tenido una gran aceptación experimental. Ocupa un lugar predilecto, ya que mide una tendencia al "congelamiento", una respuesta emocional condicionada, o la memoria de un evento aversivo (Spevack y Suboski, 1969).

A continuación se señalan algunos estudios utilizando tareas por prevención pasiva que involucran procesos de aprendizaje y memoria.

Efectos de lesiones permanentes:

En relación a las ablaciones producidas en el caudado, Olmstead y col., (1976) examinaron sus efectos en tres situaciones de aprendizaje: En el laberinto T, en la caja de Skinner donde había dos palancas y la caja de prevención pasiva. En los dos primeros casos hubo alteraciones, en el caso de la respuesta de prevención pasiva, ésta se afectó en un animal cuya ablación abarcaba el 70 % del caudado.

Lesiones electrolíticas en procesos de prevención pasiva.

En relación a los experimentos de lesión electrolítica del cuerpo estriado; Kirby y Kimble (1968) compararon las ejecuciones de ratas sobre dos tareas de prevención pasiva:

En una, los animales privados de agua durante 24 horas recibieron un choque de 1 ó 2 mA, cuando hicieran contacto por segunda vez en un disco que contenía 3 ml de agua; 24 horas

después, fueron colocados en la caja experimental y se registró el número de contactos con el bebedero.

En la segunda tarea fué usado un laberinto y los animales tenían que desplazarse desde el pasillo de partida hasta el final del brazo izquierdo, y beber agua de una botella durante 15 segundos; después de haber recibido 10 sesiones de 10 ensayos cada una, los animales recibieron en el quinto ensayo de la siguiente sesión, un choque de 2 mA, cuando se aproximaron a la botella, se midió la latencia en los cinco ensayos de la doceava.

Aunque no fué afectada la inhibición de la respuesta más sencilla y menos entrenada, la respuesta más compleja y bien entrenada si lo fué, o sea que los animales seguían mostrando buena memoria para el caso de la respuesta de prevención pasiva menos difícil: sólo era necesario dar dos o tres pasos y agachar la cabeza para ponerse en contacto con el bebedero. En cambio, en la tarea más compleja, (en el laberinto Y) donde era necesario recorrer una distancia desde el compartimiento de partida, distinguir el brazo correcto e ir hasta el bebedero, el daño al caudado sí produjo amnesia, pues los animales siguieron emitiendo la respuesta castigada.

En esta sección experimental se debe mencionar el hecho de que en el caso de la respuesta de la prevención pasiva menos difícil en un sólo ensayo, la intensidad del choque de 2 mA, quizás no fué de suficiente intensidad para obtener la respuesta aprendida (no hay referencia a variaciones en la intensidad del choque), en cambio cuando se hicieron ensayos repetidos, la experiencia fué acumulada y por lo tanto existió el recuerdo a la estimulación nociceptiva.

Para determinar si la integridad anatómica del núcleo caudado es imprescindible para la adquisición de tareas de inhibición motora, Glick y Greenstein (1973) probaron, en ratones, los efectos de lesiones en el núcleo caudado anterior, o del hipocampo dorsal, efectuadas una hora antes o inmediatamente después del entrenamiento en una tarea de prevención pasiva de un ensayo. Encontraron déficits marcados en el aprendizaje de prevención pasiva, independientemente de la estructura dañada y del momento en que la lesión fué producida. En otras palabras, los resultados son compatibles con las tesis de que el NC y el hipocampo participan en forma importante en la adquisición y en la retención de respuestas de prevención pasiva.

Lesiones químicas y prevención pasiva.

La degeneración de las neuronas intrínsecas locales como resultado de la inyección intracaudal de ácido kaínico (KA), dejando intactos tanto los axones y terminales de las neuronas extrínsecas, como las fibras de paso, han inducido a la siguiente interrogante:

¿La extinción conductual y la inhibición de una respuesta castigada se ven alteradas por la pérdida selectiva de las neuronas caudadas?.

Al respecto existen dos experimentos:

En el primero, Sanberg, Lehman y Fibiger (1978) encontraron interferencias en la adquisición y retención en prevención pasiva cuando se inyectó 1 ul de 6 nmol/ul de KA en el caudado dorsal. Este tratamiento produjo que las actividades de la descarboxilasa del ácido glutámico y de la acetilcolinesterasa se vieran

notablemente reducidas, reflejando pérdidas en las interneuronas gabaérgicas y colinérgicas.

En el segundo experimento, Sanberg, Pisa y Fibiger (1978) encontraron un aumento en la resistencia a la extinción de una respuesta operante reforzada con comida, y un déficit en la adquisición y retención de una tarea de prevención pasiva por la inyección de 3 nmoles de KA en el caudado dorsal.

Aunque el análisis histológico reveló una pérdida de las neuronas locales en el estriado dorsal, sin daño apreciable en las terminaciones dopaminérgicas, o en los axones extrínsecos mielinizados, el análisis bioquímico demostró déficits en las regiones dorsales del caudado en las actividades enzimáticas de acetilcolintransferasa (ACT) y descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), pero no en la tirosinahidroxilasa; en las regiones ventrales del caudado, sólo se encontró un decremento en la actividad de ACT, debido tal vez a la degeneración de las interneuronas colinérgicas de la región dorsal que posiblemente se proyectan al caudado ventral.

¿Por qué se incrementa la resistencia a la extinción y se decrementa la memoria en la prevención pasiva?

La respuesta podría ser que las lesiones electrolíticas interfieran con el control inhibitorio de los movimientos voluntarios.

En apoyo a este punto de vista, hay evidencias de que las lesiones electrolíticas del caudado en ratas, dan por resultado hiperactividad locomotora ante situaciones que involucran altos niveles de vigilia, como son la privación de la comida, la oscuridad o los ambientes intensamente iluminados (Kirby, 1973;

Neill, Ross y Grossman, 1974) por lo tanto, una reacción exagerada de vigilia ante la falta del reforzamiento esperado o la ocurrencia de estímulos aversivos podrían dar cuenta, en parte, de los niveles exagerados en la respuesta de las ratas experimentales durante la extinción y el castigo de una respuesta.

Interferencia Reversibles

Estimulación eléctrica y prevención pasiva.

Una de las primeras contribuciones acerca de cómo la estimulación eléctrica de baja intensidad en lugares específicos del cerebro afectan el aprendizaje en prevención pasiva, lo representa el estudio de Wyers y col. (1968).

En este experimento se aplicaron pulsos eléctricos únicos en el caudado, hipocampo ventral, corteza, cuerpo calloso y en la cápsula interna, posteriormente al entrenamiento de una tarea de prevención pasiva. En esta tarea, ratas altamente entrenadas recibían un choque eléctrico breve e intenso a través de una palanca que estaban presionando para obtener una recompensa líquida. Únicamente la estimulación caudada o del hipocampo ventral causaron amnesia retrógrada, los animales continuaron emitiendo la respuesta, no obstante de haber sido castigados.

Wyers y Deadwyler (1971) estudiaron en ratas los efectos de la aplicación de pulsos únicos en el caudado, con diferentes intervalos de demora sobre una respuesta de prevención pasiva (recibían un choque eléctrico breve pero intenso en las patas mientras se paraban y bebían de un tubo). La estimulación aplicada 5 minutos después del ensayo hizo que los animales

fueran rápidos para retornar y bebieran del tubo, pero al darse el estímulo 15 minutos después no se observó amnesia retrógrada. Sobre la base de estos resultados, es posible concluir que hay un periodo crítico de consolidación, el cual ocurre entre los 5 y 15 minutos, y que después de este último intervalo, la interferencia funcional del NC ya no interviene en la ejecución de la tarea estudiada. En otras palabras, una vez establecido el "engrama", formado antes de ese periodo, ya no afecta la ejecución aprendida.

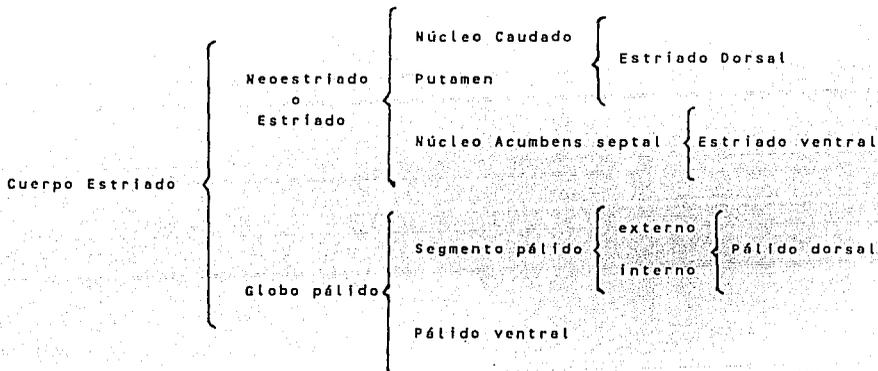
En el mismo estudio, Wyers y Deadwyler observaron una interacción entre el número de ensayos de entrenamiento y la demora de la estimulación. Cuando grupos de ratas recibieron cuatro ensayos de entrenamiento, un grupo con estimulación demorada de 300 seg. en el NC, tendió a disminuir la amnesia conforme aumentaron los ensayos; en cambio en un grupo con menos demora en la estimulación (120 seg.) la recuperación fué apenas perceptible. En realidad la magnitud del déficit, reflejó una función conjunta en la demora de la estimulación del caudado y del grado de entrenamiento, observándose que variaron inversamente: ante demoras más cortas y menor repetición de los ensayos, mayor fué la amnesia producida, y conforme la demora y la repetición de los ensayos eran mayores, mejor la ejecución de la tarea de prevención pasiva.

Los resultados de este estudio coinciden con los hallazgos de Wyers y col. (1968), dado que encontraron una atenuación gradual del déficit de prevención pasiva conforme aumenta la demora entre el choque eléctrico recibido en las patas y la estimulación en el caudado.

EL SISTEMA COLINERGICO ESTRIATAL

I.- Organización Básica:

El término ganglios basales originalmente fué referido a toda la materia gris subcortical del telencéfalo: el núcleo caudado, el putamen, el núcleo acumbens, el globo pálido, el claustrum, la amígdala y la sustancia innominata. Por otra parte el cuerpo estriado incluye dos componentes: El neostriado que comprende al núcleo caudado y putamen, constituyendo la porción dorsal del estriado y al núcleo acumbens septal, que constituye el estriado ventral. Y al globo pálido, constituido por el segmento pálido externo e interno que forman el pálido ventral.



El neostriado (llamado estriado) es dividido por la cápsula interna en el núcleo caudado y el putamen. Estas dos grandes masas son esencialmente indistinguibles respecto a su citología, sustancias transmisoras y conectividad general (Haber, 1986). A partir de 1960, el núcleo acumbens septal se demostró que forma parte del estriado, conteniendo dopamina y acetilcolina, así como facciones morfológicas comunes al estriado.

neuronas de mediano tamaño (10 a 20 μm), el resto por neuronas más grandes (20 a 50 μm).

En cada categoría celular pueden ser con o sin espinas dendríticas. Las neuronas de mediano tamaño con espinas son consideradas las proyecciones de neuronas (Haber, 1986).

El estriado se considera la porción recibidora de fibras aferentes de los ganglios basales.

Fibras aferentes al cuerpo estriado:

El mayor volúmen de entrada es de la neocorteza, con proyecciones específicas organizadas topográficamente que llegan a regiones también específicas al estriado. Estas son:

1.- Las proyecciones bifrontal, temporal superior y cortical cingular anterior a la porción ventromedial, la cual incluye el núcleo acumbens septal; la dorsolateral, prefrontal y corteza parietal posterior terminan en el campo estriatal central y lateral respectivamente (Selemon y Goldman-Rakic, 1985).

2.- Axones que desde el área premotora y motora terminan lateralmente en el putamen (Kunzle, 1975).

Los otros dos principales orígenes de las fibras aferentes son el tálamo y el cerebro medio:

3.- Las que provienen del núcleo intralaminar (núcleo parafascicular y el centro medial) del tálamo y,

4.- Tres sistemas aferentes provenientes del cerebro medio:

La vía serotoninérgica del núcleo del rafe dorsal.

La vía noradrenérgica del locus coeruleus.

La vía dopaminérgica proveniente de la pars compacta de la sustancia negra y de las neuronas dopaminérgicas situadas más

medialmente en el área tegmental ventral del Tsai (Haber, 1986).

Fibras eferentes del cuerpo estriado.

El globo pálido es considerado como el sitio de salida de los ganglios basales. Está localizado medialmente al putamen y separado a partir de la lámina medular externa. Esta estructura se encuentra dividida por un delgado haz de fibras correspondientes a la lámina medular interna en dos segmentos: el segmento pálido externo y el segmento pálido interno.

Las fibras de entrada al complejo pálido es a partir del estriado y el núcleo subtalámico, aunque los segmentos pálidos reciben masivamente fibras de entrada desde el estriado. Existe una importante distinción entre los segmentos respecto al blanco eferente:

1.-El segmento externo proyecta primariamente al núcleo subtalámico, el cual, vuelve a proyectarse sobre sí mismo a ambos segmentos del globo pálido. También envía fibras eferentes a la sustancia negra.

2.-El segmento interno proyecta al complejo ventral anterior/ventral lateral del tálamo, al núcleo intralaminar del tálamo, al núcleo habenular lateral y a los núcleos del tallo cerebral tegmento pendunculo pontinos (Haber, 1986).

Recientemente se ha sugerido una región ventral a la comisura anterior que recibe entradas desde el núcleo acumbens, su citoarquitectura e histoquímica es indistinguible en el globo pálido, sin embargo esta se incluye en el complejo pálido (Heimer y col., 1982; Haber y Nauta, 1983). Esta región se refiere ahora como pálido ventral.

En el pálido dorsal, sus entradas derivan desde el estriado y en su salida proyecta al núcleo subtalámico y a la substancia negra.

3.-Fibras eferentes desde el pálido ventral proyectan al núcleo dorsal medio del tálamo y el área tegmentaria ventral del cerebro medio (Haber y col., 1985; Young y col., 1984).

II.- Morfología del Núcleo Caudado (NC).

En el hombre el NC es una masa de substancia gris, que tiene la forma de una "coma" (,), la cual se arrolla alrededor del ventrículo lateral, formando parte del suelo del cuerno anterior y la pared de la bóveda del cuerno inferior. En él se pueden distinguir dos extremidades, la cabeza y la cola, y una porción intermedia, el cuerpo.

La cabeza ocupa por su parte superior al cuerno anterior del ventrículo lateral, su límite posterior, convencionalmente corresponde a un plano vertical que pasa por el agujero interventricular. Excede por delante al tálamo, por delante y por arriba está rodeado por la rodilla del cuerpo calloso. En la mitad anterior de su cara inferior la cabeza está unida al núcleo lenticular por un ancho puente de substancia gris que corresponde a la parte posterior del lóbulo frontal.

El cuerpo, limitado por delante por la cabeza, se extiende por detrás hasta el extremo posterior del tálamo. Aplanado de arriba hacia abajo presenta dos caras y dos bordes. La cara superior es ventricular, se yuxtapone al tálamo y forma el suelo del cuerno anterior del ventrículo lateral. La cara inferior ligeramente convexa por todas partes corresponde a la cápsula interna. El borde externo convexo y ligeramente festonado,

corresponde a la unión de la bóveda del cuerpo calloso con el suelo ventricular. El borde interno cóncavo situado más abajo que el precedente comprende en su curvatura al tálamo del que está separado por el surco tálamo-estriado, que contiene la lámina fija, la vena tálamo-estriada y la estria terminal. (citado por Cobos-Zapiain, 1978).

La cola del NC se continúa sin línea de demarcación alguna al cuerpo. Rodea lateralmente al extremo posterior del tálamo, así como también al segmento retrolenticular de la cápsula interna, y se sitúa delgada y afiladamente, en la bóveda del cuerno inferior del ventrículo lateral (Barr, 1975; Lebidinete y Pino-Núñez, 1970; Ranson y Clark, 1964; Testut y Latarjet, 1940; citados por Cobos Zapian, 1978).

El NC es una estructura, cuyas neuronas y células gliales se encuentran esparcidas entre los elementos mielinizados y no mielinizados del neurópilo que dicha estructura posee, presentando los mismos caracteres generales en toda la entidad (Adinolfi y Pappas, 1968; Bak y col., 1975).

Las neuronas del NC son relativamente uniformes en dimensiones y configuración externa, pudiéndose clasificar en seis tipos: uno de células pequeñas (diámetro menor de 10 u), cuatro células medianas y uno de células gigantes (diámetro mayor de 20 u).

Las neuronas pequeñas y las gigantes constituyen aproximadamente el 1 % de la población del núcleo. Las neuronas medianas son las más abundantes; y de éstas las espinosas constituyen el 96 % del núcleo y las tres restantes (de axón

largo, lisas y de dendritas varicosas) el 3 % faltante (citado por Cobos-Zapiain, 1978).

Los axones del NC son amielínicos, fluctuando el diámetro de éstos últimos en la cabeza del NC entre 0.3 y 1.6 μ . Encontrándose éstos aislados o en pequeños haces. También existe una mayor cantidad de fibras amielínicas irregularmente dispuestas (Adinolfi y Pappas, 1968; Kemp, 1968b; citado por Cobos-Zapiain, 1978).

El NC es una estructura que presenta una gran cantidad de sinapsis axodendríticas y escasas axosomáticas (Adinolfi y Pappas, 1968; Back y col., 1975; citado por Cobos-Zapiain, 1978).

Existen cinco tipos de botones sinápticos cuyos caracteres son los siguientes:

El botón tipo I, es el más frecuente, se encuentra haciendo contacto con las espinas dendríticas, posee una axoplasma transparente, un número moderado de vesículas sinápticas esféricas aparentemente vacías, con un diámetro aproximado de 45 nm y también tres mitocondrias.

El botón tipo II se caracteriza por un escaso axoplasma transparente y vesículas sinápticas esféricas, irregularmente distribuidas con diámetro aproximado de 45 nm, este botón se encuentra en la sinapsis axosomática de la variedad "de paso", dispuestas simétricamente, observándose raramente en las dendritas pequeñas.

Los botones tipo III y IV se encuentran en la sinapsis axoespinosas y se caracterizan por poseer un gran número de vesículas esféricas ordenadas en forma compacta, cuyo diámetro fluctúa entre 35 y 40 nm, siendo las segundas casi dos veces más

grandes que las primeras. El botón tipo III no posee mitocondrias, el tipo IV las posee en gran cantidad.

El botón tipo V contiene vesículas pleomórficas de diámetro de 50 nm y forman sinapsis axodendríticas, es raro observar este tipo de botón.

Es importante notar que después de lesionar la substancia negra, se encuentran terminales nerviosas degeneradas en el estriado ipsilateral con botones tipo I y II comprometidos en tal proceso; también es habitual observar botones tipo III degenerados en la cabeza del NC después de destruir la corteza sensorial y motora (Kemp y Powel, 1971b; Bak y col., 1975, citado por Cobos-Zapiain, 1978).

III.- Neuroquímica de la Acetilcolina (AC) en el Nucleo Caudado.

La AC es sintetizada a partir de la colina (Co) y la acetilcoenzima A (CoA) por una reacción catalizada por la enzima acetilcolinatransferasa (ACT). Dado que uno de los precursores, la CoA requiere de energía para su formación, la síntesis del neurotransmisor es un proceso endergónico.

El cerebro de los mamíferos, a diferencia del hígado, no es capaz de sintetizar la colina "de novo" por metilación de las fosfatidiletanolaminas, de tal manera que las neuronas colinérgicas centrales dependen del aporte sanguíneo de colina para sintetizar su acetilcolina (Cohen y Wurtman, 1976, citado por Cobos-Zapiain, 1978).

Las concentraciones de AC encontradas en el núcleo caudado de diferentes especies son: en la rata 5400 ng/g (Sethy y col., 1973), en el cobayo 5100 ng/g (Beani y col., 1966) y en el gato 5000 ng/g (Mac Intosh, 1941). Es conveniente señalar, que debido a que la síntesis de AC en el cerebro es tan acelerada (400 ug/g/min en el ratón) y su hidrólisis postmortem tan rápida, estos niveles tisulares pueden no ser indicativos de la actividad colinérgica. Generalmente las concentraciones de AC en el cerebro son proporcionales a las de ACT y la presencia de esta última es comúnmente utilizada como índice de la presencia de neuronas colinérgicas, que en el NC se piensa son interneuronas (McGeer y col., 1971c. citado por Cobos-Zapiain, 1978).

Acetilcolinesterasa (ACE).

La enzima responsable de la hidrólisis de la AC es la acetilcolinesterasa (ACE). La reacción de hidrólisis del ester (AC), es catalizada por la ACE para formar Co y acetato.

El peso molecular de la ACE es aproximadamente de 23 000 en el hombre y de 29 000 en los bovinos.

La ACE se encuentra en los sinaptosomas, en las dendritas, en los axones y los somas neuronales. La actividad de la ACE del sinaptosoma se asocia principalmente con la membrana postsináptica y se le denomina funcional, mientras que la ACE intracelular se llama de reserva o inactiva y está localizada en los microsomas (Bachelard, 1976)

La ACE presenta una gran actividad en el NC semejante a la ACT y a la AC, que expresada en ug de AC metabolizada por gramo de tejido y por minuto, en el perro es de 154 (Burgen y Chipman, 1951), en la rata de 246 (Vernadakis, 1973), en el mono de 351

(Coté y Fahn, 1968) y en el hombre de 1058.5 (Rinner y col., 1973).

Acetilcolintransferasa (ACT).

La ACT es una enzima soluble, que se encuentra en el citoplasma de los sinaptosomas, cuyo pH de actividad óptima es de 7.5 a 9.5, que es activada al máximo por la presencia de NaCl (300 nM) y de manera menos importante por el KCl, el tritón X-100 y la cisteína. La ACT es una molécula catiónica de peso molecular aproximado de 60 000 y constituida esencialmente por grupos sulfidrilo.

El NC y el núcleo entopeduncular poseen la ACT más activa del SNC y producen AC a velocidad hasta de 24 000 ug de AC por gramo de tejido fresco y por hora (Lloyd, 1975). La actividad de la ACT es constante en el NC (Domino y col., 1973).

Los niveles de la ACT expresados en Mol/hr/g de tejido seco en el cerebro anterior basal y regiones afines, se distribuye de la siguiente manera:

Núcleo Acumbens -----	150
Núcleo Caudado -----	84.3
Substancia inonimada lateral -----	79.7
Substancia inonimada medial-----	34.8
Area próptica lateral-----	32.2
Núcleo del lecho de la estria terminal parte ventral---	27.8
Globo pálido rostroventral-----	29.9

(Walas y Fonnus, 1979; Citado por León-Díaz del Guante, 1982).

IV.- Receptores en el núcleo caudado.

Son el NC y el putamen los que presentan mayor cantidad de

receptores muscarínicos, seguidos por la corteza y el tálamo quienes también presentan niveles importantes. En estudios de homogeneizados, en los cuales se ensayó la unión del ^3H -benzilato de quinoclidinilo mediante el método de filtración (Gazit y col., 1979; citado por León-Díaz del Guante, 1982), los niveles de unión expresados en pmol por mg de proteína de este antagonista muscarínico es el siguiente:

Núcleo Caudado -----	1.39
Putamen -----	1.11
Corteza -----	1.07
Hipocampo -----	0.70
Tálamo -----	0.63
Hipotálamo -----	0.35
Tallo Cerebral -----	0.19

V. Características Generales acerca de la Estructura del Receptor de Acetilcolina.

La estructura tridimensional del receptor a la AC es la clave para su función en la mediación de la respuesta al neurotransmisor AC. La reciente determinación de la secuencia de aminoácidos, deducida de la secuencia de clones de DNA complementarios, para los cuatro tipos de subunidades en receptores de AC en la especie torpedo, ha posibilitado el entendimiento de como estos productos genéticos diferentes están ensamblados para formar el complejo funcional del receptor de AC (Stroud, 1983).

Correlaciones funcionales de la estructura.

La estructura de tres dimensiones del receptor de AC, es adecuada para comprender la conducción de iones por el receptor.

Por ejemplo., Lewis y Stevens (1979) y Harn y Stevens (1980) analizaron la barrera energética a la permeabilidad de iones, en el estado abierto, que condujo a los iones hacia el interior, invirtiendo potenciales y rectificando propiedades del receptor de la membrana a la AC.

La secuencia de las cuatro sub-unidades claramente identificadas con cuatro secuencias hidrofóbicas suficientemente largas en el espacio de la membrana plasmática, así como un mínimo de 20 hélices hidrofóbicas por monómero de AC pueden estar en interfase con los lípidos. Con el método de Fourier, (Finer-Moore y Stroud, 1983) identificaron otras hélices anfipáticas presentes en cada sub-unidad que puedan formar la interfase del canal. Si las cinco porciones de las subunidades similares interaccionan, entonces esta secuencia puede proporcionar un canal hidrofílico de diámetro correcto para la selectividad iónica (Finer-Moore y Stroud, 1983), y un atractivo camino para formar este canal hidrofílico en la membrana plasmática, es como las sub-unidades llegan juntas después de la síntesis (Stroud, 1983).

VI.- Técnicas aplicadas para localizar nervios colinérgicos y colinoceptivos, cuerpos celulares y fibras colinérgicas.

Histoquímica de la ACE.

El primer método específico y digno de confianza para la localización de estructuras que contenían ACE, fué descrito por Koelle y Friedenwald (1949). Sin embargo este método no demostraba la actividad de la ACE y su nivel ultraestructural. Fué a través de estudios de microscopía electrónica como se pudo

demostrar que todas las neuronas colinérgicas conocidas, presentaban esta enzima en altas concentraciones en el pericarión, dendritas y axón. Un detallado "mapa" de neuronas colinérgicas y vías colinérgicas en el SNC fué elaborado por Lewis y Shute (1967); Shute y Lewis (1975).

Método Farmacohistoquímico:

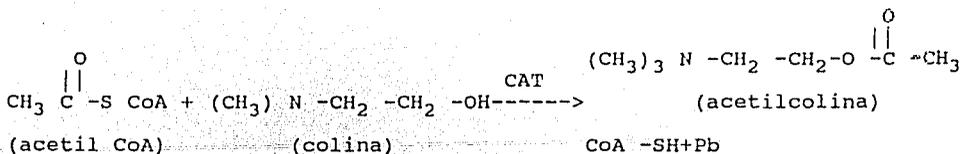
Utilizando esta técnica, Butcher y Bilezikjian (1975) encontraron neuronas intensamente teñidas (colinérgicas), en el estriado y en otras partes del cerebro (Butcher y Talbot, 1978).

Se demostró (Lynch y col., 1972; Butcher y col., 1975) que si los animales son tratados con diisopropilfluorofosfato (DFP), 4 a 6 horas antes de la tinción histoquímica de ACE, los cortes realizados en las estructuras estudiadas, presentan neuronas intensamente teñidas, mismas que no pueden ser demostradas en otra forma en el SNC (Kása, 1986).

Histoquímica de la ACT.

La clave para el examen preciso de la transmisión de las neuronas colinérgicas en el SNC, es a partir de la identificación morfológica de el transmisor específico, el cuerpo celular y su proyección. Burt (1970), Kása y col.(1970a) desarrollaron una técnica histoquímica para la localización morfológica de ACT en el cerebro y cordón espinal.

Su técnica se basó en la siguiente reacción:



El principio utilizado se basó en la formación del mercaptido, propiedad de la liberación de CoA-SH durante la síntesis de AC (Kása, 1986). En la técnica histoquímica, la formación insoluble del mercaptido fué convertida a la formación sulfuro, la cual puede ser vista en la microscopía (Kása, 1986). A través de esta técnica para la demostración de la actividad de la ACT, fué posible demostrar neuronas colinérgicas y colinoceptivas así como axones terminales colinérgicos (Burt, 1970; Kása y col., 1970a, b; Kása, 1975, 1978b) en diferentes áreas del SNC.

Inmunocitoquímica de la ACT.

Inmunohistoquímica con poli y/o monoespecífico antisuero CAT:

Las primeras pruebas para localizar CAT con una técnica inmunocitoquímica fué reportada por Eng y col. (1974) y McGeer y col. (1974). Los anticuerpos utilizados en estos experimentos fueron poliespecíficos y los resultados obtenidos fueron severamente criticados (Rossier, 1975 y 1977).

El grupo de McGeer (Peng y col., 1980) purificó ACT a partir de tejido estriatal humano (0.005 unidades/mg de proteína) y preparó anticuerpos monoespecíficos para ACT en conejos. Sus anticuerpos reaccionaron cruzadamente con ACT de otras distintas especies mamíferas.

Cozzari y Hartman (1980) purificaron CAT del núcleo caudado de bovino (120 a 160 unidades/mg de proteína). Y su enzima purificada se separó en dos bandas (A y B); cuando las muestras fueron sujetas a electroforesis en un gradiente de gel a pH de 4.3, el antisuero específico se pudo producir en el conejo y se pudieron mostrar que las formas A y B de la enzima tienen sitios

antigénicos comunes. El antisuero puede ser usado para la localización de ACT en el cerebro bovino. La elevación de anticuerpos en conejos reacciona exclusivamente con elementos neuronales dentro del cerebro. Los autores fueron capaces de visualizar las diferencias discernibles entre las localizaciones observadas en el tejido con los dos antisueros. La forma A de la enzima fué más claramente visible en las dendritas, cuando la forma B de la enzima fué más pronunciada en el axón terminal (Kása, 1986).

Inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales.

Siguiendo un orden, es necesario cumplir con los siguientes criterios para la producción de anticuerpos monoclonales frente a la ACT:

- 1.- que la enzima pueda ser purificada
- 2.- que el anticuerpo pueda precipitar ACT
- 3.- Que el anticuerpo pueda tener una amplia reactividad cruzada con ACT en diferentes especies, y
- 4.- que pueda ser apropiada para la localización de ACT en diferentes tejidos de diversas especies.

Levey y col. (1982) produjeron diversos anticuerpos monoclonales para ACT y en especial el AB8 fué excelente para la localización inmunohistoquímica de la enzima, en neuronas colinérgicas y su axón terminal en el cerebro de rata (Levey y col., 1983b, 1984). El anticuerpo monoclonal AB8 fué usado sucesivamente para demostrar estructuras neuronales colinérgicas en la rata (Armstrong y col., 1983; Mesulman y col., 1983a; Wainer y col., 1983, 1984a,b) y en el cerebro de macaco (Mesulam

y col., 1983b, 1984).

Recientemente, Levey y col. (1983a) reportaron la creación de su método inmunohistoquímico en combinación con una técnica histoquímica para la localización de ACT y ACE en la misma sección tisular.

Localización Morfológica de los sitios receptors nACR y mACR.

Las técnicas para la identificación morfológica de los sitios receptores es un instrumento valioso para la investigación de la organización funcional del tejido nervioso. Ensayos para el estudio de los sitios morfológicos de nACR y mACR colinérgicos han involucrado autoradiografía (Rotter y col., 1979a,b; Wamsley y col., 1980, 1981) y técnicas histológicas (Freedman y Lentz, 1980). La neurotoxina alfabungaratoxina se ha usado extensamente como un ligando específico e irreversible para estudiar nACR en el SNP (Vogel y col., 1979) y en el SNC (Clarke y col., 1984. citado por Kása, 1986).

El benzilato (^3H)-Quinuclidinyl fué reportado para marcar específicamente mACR en vivo (Yamura y col., 1974) y para ser aplicado en estudios de autoradiografía en vitro (Kuhar y Yamamura, 1975, 1976).^c Estas técnicas han revelado que en algunas áreas del estriado o en otras estructuras cerebrales (cerebelo, hipocampo), existen diferencias significativas en la distribución de nACR (Clarck y col., 1984; Nonaka y Moroji, 1984). Uso de una colinotoxina (AF64A) para producir degeneración específica en los axones colinérgicos y axones terminales.

Evidencias bioquímicas sugieren que la mostaza etilcolina ion aziridinium (AF64A) puede degenerar selectivamente estructuras colinérgicas en el cerebro (Mantione y col., 1981,

1983; Sandberg y col., 1984) posterior a la inyección de este componente (2.5 ó 5.0 nmol), introducido en el ventrículo lateral de la rata, después de cierto periodo de supervivencia (de 24 horas a 14 días), la degeneración de axones y axones terminales fueron detectados en áreas cerebrales colinérgicas conocidas (corteza, estriado, hipocampo, habenula, núcleo de la banda diagonal, colículo superior y septum), vistos por microscopía electrónica (Kása y col., 1984a; citado por Kása, 1986).

Visualización de neuronas colinérgicas con Anticuerpos Anti-AC:

El primer método para la producción de antisuero con especificidad para AC fué descrito por Spector y col., (1978). El inmunógeno parecido al AC fué el c-aminocoproyl-Ch (hápteno) unido a BSA. El antisuero específico a AC fué usado para la determinación cuantitativa de AC tisular por radioinmunoensayo (Spector y col., 1978). En otra prueba, Kawashima y col., (1980) conjugaron C-GA a BSA y produjeron un nuevo compuesto inmunógeno (Kása, 1986).

VIII.- Sistema transmisor en el estriado y su relación con otras estructuras del sistema nervioso central.

Sistema transmisor de los ganglios basales:

Históricamente se creía al estriado como una estructura un tanto homogénea, que recibía topográficamente entradas de varias regiones corticales (Haber, 1986). Sin embargo, recientemente se ha descubierto que esta estructura, está organizada en una especie de sistema no-homogéneo (parchado), involucrando interdigitaciones entre todas las distribuciones de los diferentes sistemas transmisores (Haber, 1986).

Hasta ahora, la inyección de aminoácidos tritiados, demostraron proyecciones a través de grandes regiones del estriado, en las que áreas terminales empobrecidas, son rodeadas por áreas terminales enriquecidas (Goldman y Nauta, 1977). Estos modelos no-homogéneos o de parches, también son vistos en la distribución de moléculas transmisoras (Graybiel y Ragsdale, 1983) y de sus receptores (Herkenham y Pert, 1981). El estriado es particularmente rico en moléculas que juegan un rol en la transmisión neuronal (Haber, 1986).

Transmisores químicos de proyecciones aferentes al estriado:
Dopamina.

El sistema transmisor con mayor frecuencia asociado con los ganglios basales es la proyección de dopamina desde las células grandes en la zona compacta de la sustancia negra (Haber, 1986). Dichas células fueron identificadas por primera vez por Fuxe en 1965, quien usó la técnica fluorescente desarrollada por Falck-Hillarp para visualizar las monoaminas. Se cree que aproximadamente un 95 % de las células en la pars compacta contiene dopamina (Haber, 1986). Las neuronas positivas a dopamina envían una directa y organizada proyección al estriado. Estudios con trazadores anterógrados y retrógrados han indicado una topografía medial a lateral, y una topografía inversa dorsal a ventral (Gerfen, 1985; Beckstead y col., 1979); hasta la fecha, por ejemplo, las células que contienen dopamina, localizadas en la porción ventral-media de la sustancia negra, en la pars compacta, terminan en la porción dorsal media del estriado (Haber, 1986).

Las neuronas que contiene dopamina situadas más medialmente se establecen en el área referida como tegmental ventral de Tsai. Estas neuronas proyectan a la porción medial ventral del estriado, incluyendo por entero al núcleo acumbens septal (Haber, 1986). La distribución de terminales dopaminicas es densa en la porción ventral y media del estriado del mono. En el ser humano, sin embargo, los niveles de dopamina aparecen similares en todas las áreas del estriado; en el núcleo acumbens, el núcleo caudado y el putamen (Fahan y col., 1971).

Serotonina.

La otra mayor proyección del cerebro medio, es la que asciende primariamente de neuronas que contienen (5HT) serotonina del núcleo del rafe dorsal. Los axones que contienen serotonina terminan en todo el estriado, y consisten de fibras muy finas que se ramifican extensamente por completo al ganglio basal (Haber, 1986).

La región más densamente inervada es vista en el núcleo acumbens y en la cabeza ventromedial de el núcleo caudado, decreciendo su densidad en la región dorsal y lateral. El putamen exhibe un mayor nivel, pero menos densidad (que la porción medial ventral) de inervación de fibras positivas a 5HT (Pasik y col., 1984a).

Colecistocinina.

El neuropéptido colecistocinina (CCK), está ampliamente distribuido en el cerebro, y su distribución regional en material humano post-mortem (Dorn, 1985; Studler y col., 1982) indicaron que el estriado contiene moderada cantidad del neurotransmisor y altas concentraciones cuando son comparadas con otras regiones

subcorticales (Studler y col., 1982). Es probable que una buena proporción de CCK estriatal se localiza en axones terminales de neuronas en la sustancia negra. Realmente, estudios en ratas han indicado que una sub-población de neuronas dopamínicas mesencefálicas contiene CCK (Hokfelt y col., 1980). Estas neuronas se localizan primariamente en el área tegmental ventral de Tsai, pero también se establecen en la pars lateral de la sustancia negra. Otro origen de estos axones puede ser a través de células en el Claustro (Meyer y col., 1982).

Otros Neuropeptidos.

Se han observado terminales nerviosas que contiene somatostatina en el estriado de ratas, monos y humanos. Estudios bioquímicos en las regiones sub-corticales de humanos, muestran que la concentración de la somatostatina en la cabeza del núcleo caudado son secundarias solamente a las establecidas en la amígdala, con niveles algo menores a los observados en el putamen (Cooper y col., 1981). Las terminales que contienen somatostatina encontradas en el estriado, surgen en parte, de neuronas localizadas en la amígdala y/o en la base del cerebro anterior, puesto que, en lesiones de estas áreas en rata (pero no en otras regiones que contiene somatostatina, tales como la corteza o hipotálamo), presentan un decremento importante en la somatostatina (Haber, 1986).

Se han encontrado altas concentraciones del neuropeptido Y (NPY) en el estriado; niveles altos en el núcleo caudado, seguido por el núcleo acumbens y luego el putamen. El globo pálido tiene relativamente baja cantidad de este péptido (Adrian y col., 1983;

Dawbarn y col., 1984). Es creíble que el principal origen del NPY, se deriva de las neuronas intrínsecas NPY -positivas establecidas en el estriado, pudiendo ser parte de una red de interneuronas (Haber, 1986). Finalmente los niveles de neurotensina (NT), medidos en el globo pálido y en la sustancia negra, son relativamente altos cuando se comparan a otros núcleos extrahipotálmicos (Cooper y col., 1981).

Ocasionalmente han sido observadas fibras beta endorfina-positivas en el estriado, particularmente en la región ventromedial. Estas provienen del grupo de células hipotálamicas beta endorfinas (Haber, 1986).

Aminoácidos excitatorios.

El estriado recibe masivamente entradas de todas partes de la corteza y las moléculas transmisoras asociadas con estas proyecciones son los aminoácidos excitatorios, en particular el glutamato y posiblemente el aspartato. Niveles altos de estos aminoácidos se han encontrado en el estriado del mono (Defeuadis y col., 1970), y alta cantidad subcortical, medida en material humano post-mortem encontrándose en los ganglios basales (Perry y col., 1971), lesiones corticales en monos se han acompañado con decrementos en su alta afinidad y en la concentración del glutamato en el estriado (Young y col., 1983).

El glutamato y el aspartato se han sugerido como candidatos para la proyección talamoestriatal (Haber, 1986).

Transmisores químicos intrínsecos y proyección neuronal de los ganglios basales.

Acetilcolina.

El estriado es extremadamente rico en AC, medida y

localizada a través de marcar a la enzima (ACE) o la (ACT) y utilizando otras técnicas (esto ya fué comentado ampliamente). La AC se encuentra en células estriatales de mediano y gran tamaño consideradas interneuronas (Haber, 1986). También se encuentran células colinérgicas en lo que se ha considerado ser parte del núcleo basal de Meynet (Haber, 1984).

Acido Gamma-aminobutirico (GABA).

Como en el caso de la AC, la variación regional en la actividad del GABA en el estriado, fué encontrada en material humano post-mortem; la mayor actividad se ha registrado en la porción central del núcleo acumbens (Perry y col., 1971). El GABA es considerado uno de los principales transmisores involucrados en el flujo hacia afuera de los ganglios basales; hasta ahora, la proyección estriado-pálida, así como la vía estriado-negra, utiliza a este aminoácido inhibitorio como transmisor. Los niveles cerebrales del GABA son altos en la sustancia negra y globo pálido del mono (Fahn y Cote, 1986). Las terminales GAD -positivas se encuentran densamente distribuidas en ambos segmentos del globo pálido, el pálido ventral y en la pars reticulada de la sustancia negra (Haber, 1986). Las terminales establecen sinapsis en las estructuras señaladas. Gran número de cuerpos celulares GAD-positivos se establecen en ambos segmentos pálidos; en el pálido ventral, en la pars reticulada de la sustancia negra. (Haber, 1986). Las terminales establecen sinapsis en las estructuras señaladas. Gran número de cuerpos celulares GAD -positivos se establecen en ambos segmentos pálidos; en el pálido ventral, en la pars reticulada de la

substancia negra. Estas células son medianas y grandes que proyectan al tálamo y al núcleo subtalámico. Sólo unas pocas células GAD- positivas se observan en la pars compacta de la substancia negra (Haber, 1986).

Neuropéptidos.

Muchos de los neuropéptidos identificados, han sido encontrados en los ganglios basales, aunque algunos sólo en cantidades vestigiales. Los péptidos con más alta concentración incluyen los opioides endógenos: encefalina, dinorfina y substancia P. Usando métodos inmunohistoquímicos, la encefalina y la substancia P se han localizado con GAD en neuronas estriatales en la rata (Oertel y Mugnaini, 1984).

Opioides endógenos.

De los opioides endógenos, la encefalina (Met-, y Leu-) presenta niveles altos en los ganglios basales, su elevación en el cerebro (Gramsh y col., 1979) y, como es de esperarse, el aumento de inmunoreactividad en la afinidad-encefalina también es alta (Haber y Elde, 1982a; Bouras y col., 1984). Es importante notar que la unión al receptor opioide ha demostrado ser alta en el estriado del primate (Kuhar y col., 1973; Wamsley y col., 1982).

La dinorfina es el miembro más recientemente reconocido de la familia opioide; también existe en niveles altos en los ganglios basales, mientras que la beta-endorfina se encuentra en niveles bajos (Khachaturian, 1984).

La distribución de receptores opioides también aparece en "parches" (Herkenham y Pert, 1981. Neuronas estriatales encefalina-positivas se han identificado en el mono con

microscopía de luz (Haber y Elde 1982b) y microscopía electrónica (DiFiglia y col., 1982), correspondiendo a neuronas medianas espinosas que proyectan al globo pálido. La tinción abundante, observada en la sustancia negra del primate (Haber y Elde, 1982a) también sugieren una proyección estriatal opioide a la pars reticular, la cual tiene como soporte el material humano patológico (Pioro y col., 1984). Recientemente ha sido demostrado, que la inmunoreactividad dada a la encefalina en el globo pálido y la sustancia negra de la rata, mono y hombre aparece con distintos patrones, caracterizada por mallas de fibras largas en bandas (Haber y Nauta, 1983; Haber y Watson, 1985). A esta morfología única se le ha denominado fibras de "lana" (Haber, 1986). La dinorfina y la sustancia P, también aparecen con este patrón de fibras de "lana" en el globo pálido y en la sustancia negra (haber y Watson, 1985b, McGeer, 1984). A diferencia de GAD, el campo terminal de la encefalina y dinorfina en el globo pálido y la sustancia negra, muestran una clara variación regional (Haber y Watson, 1985).

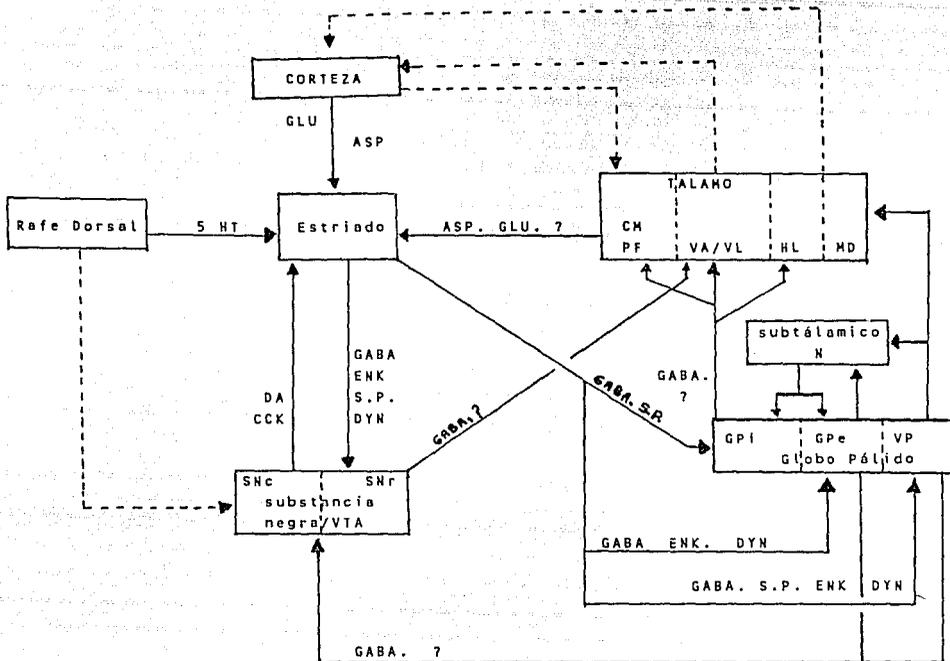
Substancia P.

Como los opioides endógenos, la sustancia P, se encuentra principalmente en las neuronas medianas espinosas del estriado, presentándose en parches de regiones densas, rodeadas por áreas ligeras de tinción. Fibras densas de "lana" positivas a la sustancia P, ascienden a lo largo de la vía estriatal eferente, se distribuyen de igual forma a través de la sustancia negra en el mono y en el hombre (Haber, Del Fiacco y col., 1984). Las neuronas estriatales sustancias P-positivas, en el primate,

también proyectan gruesamente al segmento interno del globo pálido; donde las fibras de "lana" péptido-positivas se observan completamente (Beach y McGeer, 1984; Haber y Elde, 1981; Haber y Watson, 1985).

Concluimos esta sección, mostrando a continuación un "esquema" general de las conexiones de los ganglios basales con su respectiva transmisión neuroquímica.

Figura presentada por Haber (1986).



Conexiones de los ganglios basales, indicando los transmisores químicos, los cuales están identificados con sus vías particulares.

Las líneas continuas indican algunas conexiones entre estructuras que no corresponden a los ganglios basales, las cuales se encuentran próximas al circuito del cuerpo estriado.

Las líneas punteadas, no indican la existencia de axones colaterales.

ASP-aspartato; CCK-colecistocinina; CM-centro medial; DA-dopamina; DYN-dinorfina; ENK-encefalina; 5HT-serotonina; GABA-ácido gama-aminobutírico; GLU-glutamato; GPe-segmento del globo pálido externo; GPI-segmento del globo pálido interno; HL-núcleo habenular lateral; SNC-Substancia negra, pars compacta; SNr-substancia negra, pars reticular; S.P.-substancia P; VA/VL-ventral anterior/ventral lateral; VP-pálido ventral.

Haber (1986).

4.- PARTICIPACION DEL SISTEMA COLINERGICO ESTRIATAL EN PROCESOS DE MEMORIA.

La primera enfermedad en la que se comprobó que se debía a una anomalía específica de un neurotransmisor, fué la enfermedad de Parkinson. Como se sabe, este estado patológico se debe a un mal funcionamiento del sistema dopaminérgico nigro-estriatal. Este descubrimiento indujo una gran cantidad de investigaciones acerca de la organización funcional de los ganglios basales, en forma general, y del núcleo caudado, en particular.

Originalmente se creyó que los ganglios basales (que forman parte del sistema extrapiramidal) estaban involucrados fundamentalmente en la regulación motora. Sin embargo, durante las últimas décadas, se han estado reportando resultados experimentales que indican que el NC no solamente está involucrado en la regulación de la actividad motora, sino también en funciones cognitivas, tales como el aprendizaje y la memoria. La participación del NC en tales funciones se ha demostrado tanto experimentalmente como a través de estudios patológicos en el humano (Haycock y col., 1973; Glick y Greenstein, 1973 y Polgar y col., 1981).

Se han encontrado en estudios post-mortem, por ejemplo, que en la corea de Huntington y en la demencia senil, el número de neuronas del NC se encuentra reducido significativamente; de la misma manera, la actividad colinérgica en esa estructura se encuentra reducida (Sanberg y col., 1978).

Como se sabe, la actividad colinérgica estriatal se realiza por interneuronas locales (Lynch y col., 1972; McGeer y col.,

1975); además, en el caudado existe toda la maquinaria química necesaria para la síntesis y la hidrólisis de la acetilcolina, como ya se explicó anteriormente (Butcher, S y Butcher, L., 1974; Ladinsky y Consolo 1974; Lloyd, 1975; Potter, 1970).

Estos hallazgos dan un fuerte apoyo a la hipótesis de que estos padecimientos son debidos, fundamentalmente, a un deterioro del funcionamiento sináptico colinérgico del núcleo caudado. Desde el punto de vista experimental, son muchos los estudios que muestran que el núcleo caudado representa un eslabón muy importante en los complejos fenómenos del aprendizaje y la memoria. Tanto las lesiones (permanentes electrolíticas, mecánicas o neuroquímicas) como las reversibles (producidas por la aplicación local en el NC de anestésicos locales o de KCl) producen incapacidad para aprender (memoria de corto plazo) y para retener (memoria de largo plazo) respuestas condicionadas instrumentales en una gran variedad de especies animales (Glick y Greenstein, 1973; Glick y col., 1974; Kirby y Kimble, 1968; Mitcham y Thomas 1972; Neill y Grossman, 1970; Polgar y col., 1981; Winocur, 1974., etc.); algunos de estos experimentos ya se relataron en la sección 2 del capítulo I.

Tomados en conjunto, los datos mencionados dan una amplia justificación al estudio de los mecanismos estriatales que dan base al establecimiento y mantenimiento de conductas aprendidas. Como toda investigación básica, una de las metas fundamentales del proyecto en el que estoy involucrado, es la de determinar las causas de los desórdenes en el funcionamiento que encontramos en las patologías humanas. En este caso, es mi

interés estudiar experimentalmente, las posibles causas de los desórdenes mnémicos que se encuentran en los padecimientos de Huntington y de la demencia senil. Además de acercarnos a explicaciones objetivas, que involucran la conducta en el ser humano. Para ello, es menester determinar primero la manera en que se integra la información, que dará lugar al establecimiento de la memoria, para después, a través de modelos, determinar cómo se altera ésta.

Durante los últimos 15 años, se ha estudiado en forma sistemática el papel que juega la actividad colinérgica del núcleo caudado en los procesos de memoria de corto plazo y de largo plazo.

A. Tareas mediadas por reforzadores positivos:

Los modelos que se han empleado en este campo son el condicionamiento instrumental de "apretón de palanca" y la conducta "de laberinto". En el primer caso se ha trabajado con ratas y gatos, mientras que en el segundo, solamente con gatos. Se ha encontrado consistentemente que, independientemente del modelo de aprendizaje o de la especie animal estudiados, la aplicación de drogas anticolinérgicas (atropina o escopolamina) en el núcleo caudado produce un deterioro significativo en la retención (memoria de largo plazo) de dichas tareas (Prado-Alcalá y col., 1978; Prado-Alcalá y Cobos-Zapiain, 1977; Prado-Alcalá y col., 1980). Cuando en lugar de inyectar agentes anticolinérgicos se inyecta acetilcolina o su precursor colina, los animales de experimentación mejoran notablemente su nivel de ejecución (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiain, 1979).

a.- Efectos de la estimulación colinérgica.

Se ha demostrado que la estimulación colinérgica del núcleo caudado induce una mejoría en tareas que son mantenidas por reforzadores positivos. La aplicación de acetilcolina (en contraste con la aplicación de solución salina) en el núcleo caudado anterior de gatos produce una adquisición rápida de una conducta de presionar una palanca, reforzada con leche. La aplicación de acetilcolina o de colina en el núcleo caudado anterior también produce incrementos significativos en la ejecución de tareas en gatos que han alcanzado un nivel asintótico de presiones de palanca, mientras que no se observan cambios conductuales después de la estimulación colinérgica de la corteza parietal (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiani, 1977).

En otros experimentos en los que se bloqueó la vía colinérgica del núcleo caudado en gatos, Brust-Carmona y col. (1974) demostraron que la aplicación bilateral tópica en el caudado de atropina, bloquea las respuestas de aproximación condicionada o de presionar una palanca previamente aprendidas. En cambio cuando aplicaron acetilcolina mejoró la ejecución cuando es aplicada en la etapa de adquisición de las respuestas condicionadas instrumentales.

b.- Efectos del bloqueo colinérgico.

Los estudios iniciales que mostraron evidencias experimentales de la participación del núcleo caudado, en procesos de aprendizaje y memoria, en relación al daño que pueda sufrir esta estructura, son los de Borst y col., 1970 quienes efectuaron lesiones bilaterales en la cabeza del núcleo caudado en ratas. Encontraron un déficit importante y reversible sobre la

adquisición y retención de una respuesta de alternación condicionada en un laberinto.

Oberg y Divac (1975) lesionaron selectivamente al núcleo caudado de ratas y gatos, con el fin de analizar su efecto sobre un condicionamiento de alternación con retardo. Las ratas fueron entrenadas en un laberinto en T, en el que se ponía en cada sesión un poco de alimento al final de uno de los brazos, alternándose el brazo reforzado en cada sesión, introduciendo un retardo, desde que el sujeto era puesto en la caja meta hasta que le era permitido salir. Los gatos fueron condicionados en una cámara de Skinner que tenía dos comederos sobre los que se encontraba un foco con el que se daba el estímulo condicionado. En esta situación los sujetos fueron entrenados progresivamente hasta alcanzar la etapa de alternación con retardo. En ambas situaciones una vez que los sujetos aprendieron las respuestas, fueron lesionados en tres porciones diferentes del núcleo caudado (anteromedial, anterodorsal y posterodorsal). Encontraron efectos similares en dos de dichos grupos, es decir cuando las lesiones se localizaron en las porciones anteromedial y anterodorsal se obtuvo un déficit en la ejecución de la respuesta, siendo más importante este déficit en la primera porción, y ningún efecto cuando la porción lesionada fue la posterolateral. Concluyeron que los efectos de la lesión del núcleo caudado dependen del sitio afectado y que el núcleo caudado es funcionalmente heterogéneo.

Por otra parte, en relación al bloqueo específico de la vía colinérgica del núcleo caudado, Prado-Alcalá y col. (1972) encontraron un estado amnésico que se produjo al aplicar

microinyecciones de atropina en el núcleo caudado anterior de gatos, que habían sido entrenados a presionar una palanca o a recorrer un laberinto, para sí poder ser reforzados con leche. Mientras se encontraron bajo los efectos de la droga, estos animales mostraban reflejos de enderezamiento, de orientación y táctiles normales, y consumieron tanta leche como cuando se encontraban libres de los efectos de la atropina. Resultados similares se obtuvieron cuando se microinyectó escopolamina en el núcleo caudado anterior (pero no cuando se microinyectó en la corteza parietal) de ratas que habían sido entrenadas a presionar una palanca para obtener agua (Prado-Alcalá y col., 1980).

En estudios recientes se ha comprobado que la actividad colinérgica del núcleo caudado está estrechamente involucrada en la adquisición de conductas mantenidas por la acción de reforzadores positivos. En estos estudios se determinó el efecto de la alteración de los mecanismos colinérgicos del caudado sobre un entrenamiento de automoldeamiento, en ratas (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá 1979). Se hicieron aplicaciones de escopolamina o de solución salina en el núcleo caudado posterior; en otros grupos de animales, estas sustancias se aplicaron en la corteza parietal. Las microinyecciones se efectuaron 2 minutos después del entrenamiento, y sus efectos se determinaron en sesiones sucesivas. Se encontró que los grupos que fueron tratados con solución salina adquirieron la respuesta instrumental (presionar la palanca), no así los que fueron microinyectados con escopolamina en ambas regiones del núcleo caudado (Bermudez-Rattoni y Prado-Alcalá, 1979).

En conjunto, estos datos demuestran que la facilitación en la ejecución de respuestas instrumentales, producidas por la estimulación colinérgica del núcleo caudado, y que los decrementos conductuales inducidos por el bloqueo colinérgico de esta estructura, ocurren independientemente del tipo de tarea que los animales deben ejecutar, del tipo de reforzamiento utilizado, de la especie animal estudiada y del método para producir cambios en la actividad colinérgica.

Puede concluirse que la actividad colinérgica del núcleo caudado es esencial para la adquisición de la prevención pasiva y del automoldeamiento. Los resultados obtenidos después de aplicar acetilcolina en el núcleo caudado de gatos, que mostraron una facilitación en la adquisición de una tarea de presionar una palanca, también apoyan la hipótesis mencionada (Prado-Alcalá, 1985).

B.- Tareas mediadas por reforzadores negativos.

Han sido dos los modelos empleados en los procesos por reforzadores negativos: la prevención activa y la prevención pasiva.

En la prevención activa, los sujetos deben dar una respuesta motora activa para evitar el recibir un estímulo nociceptivo. El ejemplo clásico es aquel en el que el sujeto debe pasar de un compartimiento de una cámara al compartimiento opuesto, antes de que se aplique un choque eléctrico en el piso del compartimiento en el que se encuentra el animal.

En la prevención pasiva, el animal es entrenado a permanecer relativamente inmóvil en uno de los compartimientos de una cámara; si pasa al compartimiento opuesto recibirá allí un choque

eléctrico. Como puede verse, en la prevención activa el sujeto debe incrementar su actividad motora para evitar un evento aversivo, mientras que en la prevención pasiva el sujeto debe inhibir su actividad motora. La existencia de estos tipos de aprendizaje permite en un momento dado, descartar posibles efectos de los tratamientos sobre la actividad locomotriz, permitiendo así determinar hasta que punto se ha interferido con los procesos de la memoria.

a.- Efectos de la estimulación colinérgica.

Microinyecciones de colina al núcleo caudado anterior, aplicado 6 minutos antes de las sesiones de prueba, producen una mejoría significativa en la ejecución de la prevención activa, y un mayor incremento en la capacidad de respuesta cuando este agente es aplicado en el núcleo caudado posterior (Verduzco y col., 1979). Similarmente, cuando se administró colina en el núcleo caudado anterior de ratas que habían sido entrenadas en una tarea de prevención pasiva, ellas mostraron una elevada capacidad de retención (Fernandez y col., 1977).

Al igual que en los casos de la estimulación colinérgica del núcleo caudado sobre la prevención activa y sobre tareas mediadas por reforzadores positivos, la aplicación de colina en el núcleo caudado induce una mejoría significativa en la ejecución de la prevención pasiva.

Un importante estudio, apoya los resultados descritos antes. Barker y col. (1982) reportaron que la síntesis de acetilcolina se incrementa significativamente en el núcleo caudado de ratas entrenadas en la prevención pasiva, mientras que esto no sucede

en otras áreas cerebrales, tales como el hipocampo y la corteza.

b.- efectos del bloqueo colinérgico.

El primer reporte acerca del efecto del bloqueo colinérgico del núcleo caudado sobre la prevención activa es la de Neill y Grossman (1970). Ellos encontraron que la aplicación de escopolamina en el estriado produce una disfunción en la capacidad de aprendizaje de esta tarea. Prado-Alcalá y col., (1984) confirmaron este hallazgo y, además, demostraron el efecto opuesto: la aplicación tópica de colina en el núcleo caudado produce una mejoría en la ejecución de la respuesta de prevención pasiva (Fernández y col., 1977).

También se sabe que el estado amnésico producido por el bloqueo colinérgico estriatal es dependiente de la dosis empleada, del intervalo del entrenamiento y la aplicación del bloqueador, es decir entre mayor es la dosis inyectada (Fernández y col., 1977) y entre menor es el intervalo entre el entrenamiento y la inyección, mayor es la interferencia con la memoria de la tarea (Prado-Alcalá y col., 1981). En este último experimento se pudo determinar que el tratamiento es efectivo para producir amnesia solamente cuando la inyección se aplica dentro de los primeros ocho minutos después del entrenamiento; cuando las inyecciones se realizan a los 15 ó 30 minutos no se encuentra interferencia alguna con la retención.

En contraste, el bloqueo colinérgico del núcleo caudado posterior (Prado-Alcalá y col., 1980) de la corteza parietal (Fernández y col., 1977) o del hipocampo (Haycock y col., 1973), no producen un decremento importante en la retención.

Prado-Alcalá y col., (1975) demostraron que el bloqueo reversible con KCl 3M y las lesiones electrolíticas del núcleo caudado en ratas, dan como resultado un importante impedimento en la adquisición de una tarea de prevención pasiva en un ensayo. Reportaron que con el último método empleado se obtiene además un déficit importante de la retención de la tarea. Concluyeron que los resultados no se deben a las características específicas de un método de lesión determinado, apoyando así la hipótesis de que el núcleo caudado es una estructura importante en la integración y el almacenamiento de la información aprendida.

En 1973, Haycock y col., en ratas previamente entrenadas a tomar agua de un tubo, fueron sometidos a un choque en las patas y probadas 24 horas después, para determinar la retención de la experiencia. Encontraron que si el choque en las patas fué seguido por un estímulo eléctrico único y breve en el complejo caudado-putamen o el hipocampo dorsal, la retención de la experiencia fué deteriorada y que la aplicación unilateral en el núcleo caudado de escopolamina después de la experiencia, también impidió la retención, mientras que no se afectó, cuando la substancia se aplicó en forma unilateral al hipocampo. Por último no reportaron déficit conductual cuando lo aplicado a ambas estructuras fué eserina (citado por Cobos-Zapiain, 1978).

Hasta este punto, las evidencias experimentales señaladas indican el papel relevante del núcleo caudado en los procesos de aprendizaje y memoria, y destacan la importancia de la actividad colinérgica intrínseca en dicha estructura, relacionadas con tareas mediadas por reforzadores negativos; sin embargo, hay que destacar hasta que punto desde la perspectiva cuantitativa, el

bloqueo de la vía colinérgica afectada las tareas señaladas, involucradas en la adquisición y retención.

Fernández y col., (1977) estudiaron los efectos, en grupos de ratas, de dosis de 20, 40 y 60 ug de atropina suministrados en el núcleo caudado anterodorsal dos minutos después del ensayo de una tarea de prevención pasiva, y 24 horas más tarde los animales fueron probados en su retención de la tarea. La dosis de 20 y 40 ug, produjeron bloqueos parciales en la retención y éstos eran insignificantes. Por el contrario, la dosis de 60 ug causó amnesia total. De igual forma trataron de determinar si la atropina era capaz de interferir con los procesos de mantenimiento en la misma respuesta de prevención pasiva. Para esto, probaron dosis de 20, 60 y 80 ug, aplicados al núcleo caudado, 6 minutos antes de la sesión de retención, la cual fué conducida 24 horas después de la sesión de entrenamiento. Pese a la carencia de diferencias significativas del grupo en el que se aplicaron 20 ug, respecto a los grupos de control; el segundo grupo con (60 ug) mostró decremento en la retención. Por otro lado, en el grupo inyectado con 80 ug del bloqueador se produjo un deterioro total de la retención. Sin lugar a dudas, estos resultados reflejan la participación activa del núcleo caudado en los procesos de mantenimiento de una respuesta aprendida mediada por reforzadores negativos (citado por León Díaz del Guante, 1982).

Considerando la hipótesis de que cada región del núcleo caudado está involucrada en diferentes funciones, Prado-Alcalá y col. (1980) suministraron 60 ug de atropina en las regiones

anterior y posterior del núcleo caudado en ratas, un minuto después del entrenamiento de prevención pasiva de un ensayo; 24 y 48 horas después se probó la retención. Únicamente el grupo anterior mostró un decremento marcado en la retención de prevención pasiva, mientras que el bloqueo colinérgico de la región posterior del caudado no indujo cambios significativos sobre la memoria.

C A P I T U L O I I
- HIPOTESIS DEL TRABAJO -

1.- ANTECEDENTES RELEVANTES.

Existe un gran número de resultados experimentales que sugieren fuertemente la existencia, dentro del caudado, de un sistema colinérgico. En este núcleo se encuentran altas concentraciones de colina y acetilcolina así como de las enzimas que interviene en su metabolismo.

Además, la estimulación sensorial induce la liberación de AC en el NC, y pueden observarse efectos similares ante su estimulación eléctrica; la aplicación iontoforética de acetilcolina incrementa la actividad de algunas neuronas de esta estructura, mientras que la electroforesis de drogas anticolinérgicas produce el efecto opuesto.

Desde el punto de vista anatómico, este sistema colinérgico se encuentra totalmente contenido dentro del caudado y está representado por interneuronas.

En los estudios de prevención pasiva, la interferencia con los procesos de retención no se debió a interferencia con los procesos motores, motivacionales o perceptuales, ni a un proceso de estado-dependencia, sino la a interrupción de los procesos de adquisición (memoria), ya que los tratamientos fueron aplicados después del entrenamiento, y los animales fueron probados 24 horas más tarde (cuando los efectos farmacológicos directos de las drogas anticolinérgicas ya se habían disipado). En otras palabras los animales son entrenados y probados en un estado libre de drogas.

Si los resultados que se acaban de describir se deben al

bloqueo colinérgico del NC, y no a los efectos colaterales de la escopolamina o de la atropina, sería de esperarse que la activación farmacológica de las sinapsis colinérgicas del núcleo caudado produciría una mejoría en la ejecución de respuestas instrumentales. Precisamente esto es lo que sucede. Microinyecciones de colina en el NC anterior, aplicadas 6 minutos antes de las sesiones de prueba, producen una mejoría significativa en la ejecución de prevención activa, y un mayor incremento en la capacidad de respuesta cuando este agente es aplicado en el NC posterior (citado en la sección anterior). Estos resultados son "una imagen en espejo" de los que se obtuvieron con la aplicación de escopolamina (Verduzco y col., 1979). Similarmente, cuando se administró colina en el núcleo caudado anterior de ratas que habían sido entrenadas en una tarea de prevención pasiva, ellas mostraron una elevada capacidad de retención (ya citado en la sección anterior).

Como ya se ha mencionado, a la fecha se han realizado experimentos en los cuales se ha bloqueado la actividad colinérgica del núcleo caudado y se ha encontrado que la retención de una tarea de prevención se deteriora. Este tipo de resultados ha llevado a la proposición de la hipótesis de que la actividad colinérgica de esa estructura es esencial para el desarrollo de los procesos de memoria de largo lazo. Sin embargo, no existen evidencias adicionales de que el estado amnésico producido se debe a dicho bloqueo colinérgico. Una manera de aportar más evidencias que apoyen la hipótesis en cuestión es la de inducir un estado amnésico, por la aplicación local de drogas

anticolinérgicas, para después revertir dicho estado aplicando en el mismo sitio un precursor de la acetilcolina. De esta manera, se espera que el precursor induzca un incremento en la síntesis del mediador químico, y así se disminuyan los efectos del anticolinérgico.

H I P O T E S I S :

La aplicación de un precursor de la síntesis de acetilcolina en la región antero-dorsal en el núcleo caudado, revertirá los efectos amnésicos producidos por el bloqueo colinérgico de dicho núcleo.

C A P I T U L O I I I

MATERIAL Y METODOS

Sujetos:

Se utilizaron 110 ratas machos sin historia experimental, de la cepa Wistar, cuyos pesos oscilaron entre 250 y 300 gramos al inicio del experimento. Se alojaron en jaulas individuales con libre acceso a comida sólida (purina Laboratory Rat Chow) y a agua durante todo el periodo de observaciones. Los animales fueron asignados al azar a uno de los tres principales grupos:

- 1.- Con cánulas en el núcleo caudado anterior (NCA).
- 2.- Con cánulas en la corteza parietal (CTZ).
- 3.- Animales integros (INT).

Cirugía:

A los animales de los dos primeros grupos se les implantó bilateralmente, cánulas de doble pared, construidas con tubos de acero inoxidable de 12 mm de longitud. La pared externa de la cánula se fabricó con tubo de aguja hipodérmica del N° 21, y la pared interna que servía de tapa, con tubo de aguja dental del N° 27.

Para los fines quirúrgicos se anestesiaron los sujetos inyectando intraperitonealmente (I.P.) pentobarbital sódico (40 mg/Kg) disuelto en solución salina isotónica que contenía atropina (0.2 mg/ml). Al terminar la implantación se inyectó I.P. 0.5 ml de Benzetacil (150 000 U) para prevenir las infecciones post-operatorias.

La cirugía se efectuó en un aparato estereotáxico con el

cuidado que requiere la técnica. Se procedió a efectuar una incisión de aproximadamente 2 cm de longitud en sentido anteposterior de la piel del cráneo, previamente rasurada y limpiada con benzal, hasta llegar al hueso.

Se realizó una perforación superficial en el hueso frontal y otra en la región posterior del hueso parietal, con el objeto de colocar dos tornillos. Después se levantó el tejido perióstico para realizar dos orificios en el hueso, respetando la duramadre, misma que delicadamente fué perforada evitando dañar el tejido cerebral. La colocación de los tornillos sirvieron para anclar las cánulas implantadas, para ello se utilizó cemento acrílico.

Las coordenadas que se emplearon en la implantación en el núcleo caudado en la región anterodorsal fueron: A= 9 mm, L= 3 mm, H= -3.5 mm. Para la corteza parietal: A= 9 mm, L= 3 mm, H= -0.5 mm. Estas coordenadas corresponden a las descritas por Paxinos y Watson (1982).

Después de la implantación, se les dió a los sujetos experimentales 6 a 8 días de recuperación, antes de realizar el entrenamiento de prevención pasiva.

Aparatos:

La técnica de prevención pasiva se llevó a cabo en una caja de condicionamiento que consta de dos compartimientos de iguales dimensiones (30 cm de largo, 30 cm de ancho y 30 cm de altura), separados por una compuerta oscura deslizable tipo guillotina. Tanto las tapas de los compartimientos como la compuerta deslizable se construyeron con acrílico anaranjado transparente, lo que permite observar el comportamiento de los animales. La

tapa de uno de los compartimientos (compartimiento de seguridad, CS) tiene un foco de 10 watts en el centro; en este compartimiento el piso está formado por barras de tubo de aluminio de 0.5 cm de diámetro, separados 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 está separadas por una distancia de 1.5 cm.

El piso del compartimiento de castigo está conectado a su vez, a un estimulador BRS/LVE Modelo SGS-003, de pulsos de corriente constante, con un mezclador de choques (scrambler). Las mediciones de las latencias y el control de la duración del estímulo nociceptivo se realizó en forma automática con un equipo electromecánico programado por módulos BRS/LVE.

Procedimiento de Condicionamiento:

Durante el entrenamiento, cada animal fué introducido en el compartimiento de seguridad de la cámara de condicionamiento y diez segundos después, la puerta de separación fué abierta; se midió la latencia para pasar al compartimiento de castigo. Una vez en éste compartimiento el animal, se cerró la puerta, aplicando un choque eléctrico de (4 mA)* a través del piso durante cinco segundos, acto seguido se abrió la puerta.

Permitiendo de esta manera que el animal escapará al

* Esta intensidad fué calculada a fin de que la densidad de corriente neta (la cantidad total de corriente recibida por los animales y por lo tanto lo aversivo de la estimulación) es equivalente a intensidades del choque usadas en trabajos previos, en donde fueron utilizados estimuladores de corriente constante DC (Prado-Alcalá, 1985)

compartimiento de seguridad, en donde permaneció allí durante 30 segundos, antes de regresarlo a su jaula individual.

Veinticuatro horas después se midió la retención de la experiencia aversiva. Esta sesión de retención fué realizada de la misma manera que la sesión previa, excepto que no se aplicó el choque eléctrico. Cuando la rata no pasó al compartimiento de castigo en 600 segundos se dió por terminada la sesión.

Procedimiento de microinyección:

Para este fin se utilizó una bomba de perfusión lenta marca SANGE, acoplada a dos 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 tapón. El sistema era lavado y purgado antes y después de cada aplicación del tratamiento utilizando alcohol y agua destilada esterilizada, en ese orden. Durante la aplicación de la substancia empleada, para cada uno de los animales de prueba, se verificaba la permeabilidad en el sistema antes de proceder a su aplicación.

La velocidad en la inyección fué de 1 ul/60 segundos.

Tratamientos:

Se entrenaron a siete grupos de ratas implantadas en la región anterodorsal del núcleo caudado, un grupo de ratas implantado en la corteza parietal y a un grupo integro.

Los tratamientos que se aplicaron son:

- 1.- sulfato de atropina (40 y 80 microgramos).
- 2.- cloruro de colina (3, 6 y 15 microgramos).
- 3.- solución salina isotónica (NaCl).

Las dos primeras sustancias (Sigma) fueron disueltas en solución salina isotónica, todas inyectadas bilateralmente, en un volumen de 3 ul, a razón de 1 ul/1 minuto.

Las inyecciones se realizaron 6 minutos antes de la sesión de entrenamiento, 6 minutos antes de la sesión de retención o en ambos tiempos.

En la siguiente tabla se define cada grupo con sus respectivos tratamientos:

T A B L A I

GRUPO	n	sitio de inyección	-6 Min E	-6 Min R
1	11	No implantadas		
2	10	CORTEZA	A 40	
3	11	ESTRIADO	NaCl	NaCl
4	11	ESTRIADO	A 40	
5	9	ESTRIADO	A 40	A 40
6	8	ESTRIADO	A 40	C 3
7	9	ESTRIADO	A 40	C 6
8	10	ESTRIADO	A 40	C 15
9	10	ESTRIADO	A 80	C 6

Las abreviaturas son como sigue: n, tamaño de la muestra; -6 Min E, inyectadas 6 minutos antes del entrenamiento; -6 Min R, inyectadas 6 minutos antes de la prueba de retención; A, atropina; NaCl, solución salina isotónica; C, colina. Las cantidades de las dosis mostradas, son en microgramos.

Histología:

Una vez terminados los experimentos, los cerebros de los animales sometidos a la implantación de cánulas, fueron estudiados histológicamente, considerandose como válidos aquellos en los que las puntas de cada cánula se encontraron en la parte anterodorsal del núcleo caudado o en la corteza parietal.

La técnica fué la siguiente:

Bajo el efecto de anestesia con pentobarbital sódico (40 mg/Kg) I.P. se efectuó una incisión en el tórax, dejando al descubierto el corazón e introduciendole una aguja en el ventriculo izquierdo acompañada de una cánula; haciendo a su vez una incisión en la aurícula derecha. A través de la cánula se inyectaba solución salina isotónica para lavar el tejido, inyectando después una solución de formol al 10 % hasta obtener rigidez muscular.

Posteriormente se decapitaba al sujeto experimental, se extraía el cerebro evitando dañarlo guardandose en formol al 10 %, 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 a la técnica de Nissl.

Estadística:

En virtud de que los datos obtenidos en la prueba de retención no guardaban una distribución normal (debido al nivel de corte de 600 segundos), se utilizaron pruebas no paramétricas para analizar los datos.

Se aplicó el análisis de varianza de Kuskal-Wallis para comparar la ejecución de los grupos entre sí, con respecto a las latencias de la sesión de adquisición, escape y retención. En su caso, se aplicó la prueba de Mann-Whitney para comparar la ejecución del principal grupo control (intacto) con la de cada uno del resto de los grupos.

d

CAPITULO IV

RESULTADOS

Veintiuno de los animales fueron descartados, debido a que la situación de las cánulas se encontraban asimétricas o fuera de las áreas blanco; consecuentemente, el análisis estadístico se llevó a cabo con los datos obtenidos de los 89 animales restantes, los cuales se encuentran agrupados como se anota en la tabla I. Las puntas de las cánulas de los grupos estriatales fueron localizadas en la región anterodorsal del estriado. Las puntas de las cánulas corticales, se encontraron alojadas en la corteza parietal dentro de las coordenadas anteposteriores de los grupos estriatales (Figura 1).

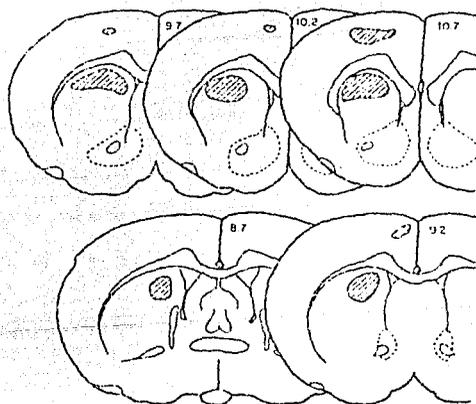


FIG. 1

Representación diagramática de secciones histológicas, modificadas de Paxinos y Watson, 1982. Las áreas sombreadas representan la extensión de la localización de las puntas de las cánulas en el estriado anterior y en la corteza parietal. Sólo se representan las cánulas situadas en el hemisferio derecho.

El análisis de varianza mostró que no había diferencias significativas entre los grupos relativos al entrenamiento y los tiempos de la latencia de escape. Estos resultados permitieron el empleo de una calificación diferencial para cada animal, sustrayendo el tiempo de latencia obtenido durante la sesión de prueba del tiempo de la latencia de la sesión de entrenamiento; de este modo, calificaciones altas, especialmente con una aproximación a los 600 segundos, reflejan una buena retención de la tarea, mientras que calificaciones bajas reflejan un deterioro en la retención. La prueba de Kruskal-Wallis demostró que había diferencias altamente significativas en la retención entre los grupos ($H = 21.570$, d.f. = 8, $P = 0.006$).

Los tiempos de la retención del grupo intacto no difirió significativamente de los tiempos de la retención de los grupos corticales tratados con atropina, el grupo estriatal que fué inyectado con salina ni el grupo estriatal que recibió 40 ug de atropina antes del entrenamiento más 6 ug de colina antes de la prueba de retención.

En contraste, diferencias altamente significativas, fueron encontradas después de comparar la ejecución del grupo intacto frente a cada uno de los grupos estriatales restantes. Estos resultados están representados en la figura 2.

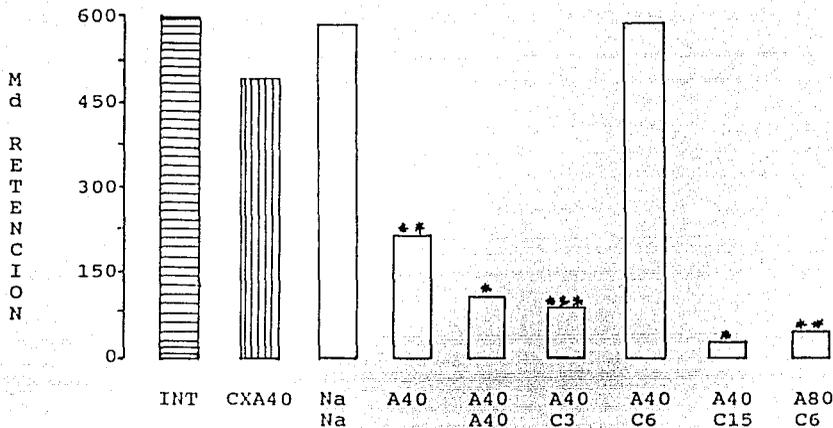


FIG. 2

Medianas de los tiempos de retención obtenidas 24 horas después del entrenamiento. Las abreviaturas son las siguientes: INT, grupo intácto; Na, A, y C, se refieren a inyecciones de solución salina isotónica, atropina y colina, respectivamente, dentro del estriado (barras abiertas) o corteza parietal (CX). La primera y segunda hileras bajo las barras, se refieren a la droga y dosis (ug) inyectadas seis minutos antes del entrenamiento y seis minutos antes de la prueba de retención, respectivamente. Valores de P: *, 0.05; **, 0.02; ***, 0.005 con respecto al grupo intácto.

C A P I T U L O V

D I S C U S I O N

Este es el primer reporte, donde un estado de amnesia inducido por la inyección de una droga antimuscarínica dentro del estriado, fué revertido por la aplicación de colina, un precursor de acetilcolina, en esta región. Este hallazgo, además fortalece la hipótesis de que la actividad colinérgica estriatal, está críticamente involucrada en los procesos de memoria.

En un estudio previo (Prado-Alcalá y col., 1985) se estableció que la inyección de 40 ug de atropina un poco después del entrenamiento de prevención pasiva, produce un déficit muy similar al observado en el presente experimento. En esta investigación, sin embargo, esta dosis del anticolinérgico fué administrada antes del entrenamiento, y la prueba de retención se llevó a cabo en un estado libre de droga o bajo la influencia de una droga diferente (colina). Por estas razones, los déficits en el comportamiento que fueron observados pudieron deberse a aprendizajes estado-dependientes. Esta posibilidad queda excluida, porque cuando la atropina fué inyectada tanto antes del entrenamiento como, antes de la prueba, los déficits fueron aún manifiestos (grupo 5; tabla I).

Dado que estos grupos, tratados con atropina fueron entrenados bajo la influencia de la droga, se podría argumentar que el déficit de la ejecución mostrado por estos animales, fué causado por interferencias con funciones no-asociativas (grupos 4, 5, 6, 7, 8, y 9; tabla 1). Esta posibilidad parece improbable, porque durante el entrenamiento no hubo diferencias significativas entre las latencias de los grupos entrenados para

pasar al compartimiento de castigo; es decir, todos los grupos mostraron la misma ejecución motora. Por el mismo tenor, no hubo diferencias en las latencias de escape entre los grupos; estos resultados indican que la capacidad para reaccionar al choque eléctrico es la misma para todos los grupos. Además se apoya la idea de que la aplicación aguda de atropina dentro de la región dorsal del estriado anterior no produce interferencias significativas con las capacidades motoras necesarias para la ejecución de una respuesta más elaborada (presionar una palanca) (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiain, 1977). Estos resultados y aquellos derivados de los grupos controles de estado-dependencia, sugieren firmemente que los déficits producidos en la ejecución por el anticolinérgico, fueron debidos a una interferencia con los procesos de memoria.

La posibilidad de que el mejoramiento en la ejecución visto en el grupo que fué tratado con 40 ug de atropina más 6 ug de colina (evidenciado como un incremento en la latencia para poder pasar al compartimiento de castigo), pudiera estar dado por alguna disminución en la actividad motora se puede descartar, puesto que tiempos bajos de la latencia fueron observados en todos los otros grupos estriatales inyectados con la misma dosis de atropina, pero con 3 ó 15 ug de colina, y en los animales que recibieron 6 ug de colina más 80 ug de atropina.

Se ha podido demostrar que la inyección de atropina, poco antes de la prueba de retención, induce un estado de amnesia (Prado-Alcalá y col., 1985); este descubrimiento sugiere que la actividad colinérgica estriatal, también está involucrada en la

memoria. Evidencias adicionales para esta propuesta, fueron dadas en experimentos en donde la aplicación de colina dentro del estriado, antes de probar la ejecución de prevención pasiva (Fernández y col., 1977) y prevención activa (Prado-Alcalá y col., 1984) da por resultado un incremento en la ejecución.

En el caso de una conducta reforzada apetitivamente (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiain 1979), dosis bajas de este precursor de acetilcolina (5.0 y 7.5 ug) induce un mejoramiento, y dosis altas (15.0 ug) induce un déficit en la ejecución.

Administraciones intravenosas de colina, inducen la síntesis de acetilcolina de una manera lineal con respecto al tiempo; el promedio de síntesis, es por lo menos tres veces más grande en el cuerpo estriado que la corteza, y llega a ser evidente en menos de dos minutos. Haubrich y col., (1975) encontraron que la síntesis de acetilcolina en el estriado se incrementa de una manera dosis-dependiente después de las inyecciones de colina dentro de los ventrículos cerebrales. Estas investigaciones, también reportaron que el incremento en la concentración de colina libre en vivo es bajo, ya que ésta, es necesaria para un máximo promedio de síntesis de acetilcolina en diferentes estructuras del organismo.

Diferentes autores, recientemente han establecido que los incrementos de la colina, son preferentemente usados por las terminaciones nerviosas colinérgicas para la síntesis de un agregado (pool) de acetilcolina, el cual, es más fácilmente liberado que la acetilcolina preformada y almacenada en el tejido (Haubrich y col., 1975; Ritcher y Marchbanks, 1971; Molenaar y col., 1973).

Estos datos, permiten postular que los efectos vistos en este experimento, fueron debido a la síntesis nueva de acetilcolina, como lo expreso a continuación.

En el presente experimento, la dosis baja de colina (3.0 ug), no pudo revertir el estado amnésico inducido por la atropina. Se postula que semejante dosis baja, fracasó para aumentar la síntesis de acetilcolina a un nivel suficiente para contrarrestar el efecto de las alteraciones producido por la atropina.

El efecto protector de la colina contra la amnesia inducida por la atropina, fué claramente visto en el grupo que recibió 6 ug del precursor. Este hallazgo sugiere que con esta dosis se produjo más acetilcolina y un número mayor de receptores de acetilcolina llegó a ser activado. Así, contrarrestando los efectos de la atropina, se indujo una buena ejecución en este grupo. Esta idea es congruente con los resultados vistos después con la misma dosis de colina inyectada al grupo que había recibido la dosis más alta de atropina (80 ug). En este caso, los efectos de la amnesia fueron evidentes. Se propone que esto fué debido porque una gran población de receptores de acetilcolina estuvo bloqueada, y la cantidad de colina que indujo la síntesis de acetilcolina, fué insuficiente para contrarrestar los efectos de semejante bloqueo.

Con la dosis alta de colina y el correspondiente incremento de síntesis y liberación de acetilcolina, pudo haber ocurrido una despolarización sostenida de neuronas colinoceptivas similarmente a la activación producida en la unión neuromuscular (Barret y

6

Magleby, 1976) produciéndose así un decremento en la ejecución. Alternativamente, como la síntesis y liberación de acetilcolina están aumentadas, diferentes poblaciones de neuronas llegan a ser afectadas, algunas de las cuales son inhibidas y algunas de ellas activadas, produciéndose en este caso,, alteraciones en las funciones de la memoria (McLennan y York, 1966).

Los presentes resultados llevan a la conclusión de que las interneuronas colinérgicas estriatales juegan un papel en los procesos de memoria; sin embargo, se necesitan más investigaciones para dilucidar la manera en la cual se juega este papel.

La aportación de los hallazgos en el trabajo experimental efectuado, contribuye a fortalecer la tesis de la importancia de la actividad colinérgica en la región anterodorsal del núcleo caudado en los procesos de memoria y además contribuye a la posible aplicación del precursor de la acetilcolina (colina) para corregir los desordenes funcionales que se encuentran en las patologías que involucran a dicha estructura. Y por otra parte contribuye a entender el mecanismo neurofisiológico que se presenta en los fenómenos de conducta animal y/o humana.

R E F E R E N C I A S

- Adinolfi, A.M. and Pappas, G.D. 1968: The fine structure of caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 133: 167-184.
- Adrian, T.E., Allen, J.M., Bloom, S.R., Ghatei, M.A., Rossor, M.N., Roberts, G.W., Crow, T.J., Tatemoto, K. and Polok, J.M. 1983: Neuropeptide y distribution in human brain, *Nature* 306: 584-585.
- Alpern, H.P. and McGaug, J.L. 1968: Retrograde amnesia as a function of duration of electroshock stimulation. *J. Comp. physiol. Psychol.* 65: 265-269.
- Armstrong, D.M., Saper, C.B., Levey, A.I.; Wainer, B.H. and Terry, R.D. 1983: Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.* 216: 53-68.
- Bachelard, H.S. 1976: *Bioquímica del encéfalo*. Editorial El Manual Moderno, S.A., México.
- Bak, I.J., Choi, W.B., Hassler, R., Usunoff, K.G. and Wagner, A. 1975: Fine structural synaptic organization of the corpus striatum and substantia nigra in rat and cat, págs. 25-41. En *Advances in neurology*. Vol. 9, Calne, Chase and Barbeau (eds), New York, Raven Press.
- Barker, L.A., Glick, S.D., Green, J.P. and Khandelwal, J. 1982: Acetylcholine metabolism in rat hippocampus and striatum following one-trial passive training. *Neuropharmacology* 21: 183-185.
- Barnes, D. and Altman, J. 1973: Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.* 38: 406-419.
- Barr, M.L. 1975: *El Sistema Nervioso Humano*. 2ª edic., Edit. Harla, S.A. de C.V., México.
- Barret, E.F. and Magleby, K.L. 1976: Physiology of Cholinergic transmission. In Golderberg, A.M. and Hanin I. (Eds). *Biology of Cholinergic Function*. Raven Press, New York. pp 29-100.
- Beach, T.G. and McGeer, E.G. 1984: The distribution of substance P in the primate basal ganglia: and immunohistochemical study of baboon and human brain. *Neuroscience* 3: 29-52.
- Beani, L., Ledda, F., Bianchi, C. and Baldi, V. 1966: Reversal by 3,4-dihydroxyphenilalanine of reserpine-induced regional changes in acetylcholine content in guinea pig brain. *Biochem. Pharmac.* 15: 779-784.

- Beckstead, R.M., Domesick, V.B. and Nauta, W.J.H. 1979: Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *Brain Res.* 175: 191-217.
- Benites-Díaz, L. Principios de Fisiología Sensorial. cap. 2 en Ninomiya, 1991: Fisiología Humana; Neurofisiología. Edit. El Manual Moderno. México.
- Bermudez-Rattoni, F. and Prado-Alcalá, R.A. 1979: Cholinergic blockade of the caudate nucleus and autoshaping in rats. *Soc. Neurosci. Astr.* 5: 314.
- Best y Taylor. 1987: Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. 11ª, edición. Editorial Panamericana. Argentina.
- Borst, A., Delacour, J. and Linbonban, S. 1970: Effects of lesions of caudate nucleus and conditioning of alternation responses in rats. *Neuropsychol* 8: 89-101.
- Bouras, C., Taban, C.H. and Constantinidis, J. 1984: Mapping of enkephalins in human brain: an immunohistofluorescence study on brains from patients with senile and presenile dementia. *Neuroscience* 12: 179-190.
- Bradshaw, R.A., Hogue, R.A. and Frazier W.A. 1974: Nerve growth factor and insulin: evidence of similarities in structure, function, and mechanism of action. *Recent. Prog. Horm. Res.* 30: 575-596.
- Brust-Carmona, H., Prado-Alcalá, R.A., Grinberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, J. and Zarco-Coronado, I. 1974: Modulatory effects of acetylcholine and catecholamines in the caudate nucleus during motor conditioning. In: *Neurohumoral Coding on Brain function*, edited by R.D. Myers and R.R. Druker-Collin. New York: Plenum Press. pp. 171-187.
- Burgen, A.S.V. and Chipman, L.M. 1951: Cholinesterase and succinic dehydrogenase in the central nervous system of the dog. *J. Physiol.* 114: 296-305.
- Burt, A.M. 1970: A histochemical procedure for the localization of choline acetyltransferase activity. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 408-415.
- Butcher, L.L. and Bilezikjian, L. 1975: Acetylcholinesterase-containing neurons in the neostriatum and substantia nigra revealed after punctate intracerebral injection of diisopropylfluorophosphate. *Eur. J. Pharmac.* 34: 115-125.
- Butcher, L.L. and Talbot, K. 1978: Acetylcholinesterase in rat nigrostriatal neurons: experimental verification and evidence for cholinergic-dopaminergic in the substantia nigra and caudate putamen complex. In: *Cholinergic-Monoaminergic interaction in the Brain*. pp. 25-45- Ed- L.L. Butcher Academic Press. New York.

- Butcher, L.L., Talbot, K. and Bilezikjian, L. 1975: Acetylcholinesterase neurons in dopaminic-containing regions of the brain J. Neural Transm. 37: 127-153.
- Butcher, S.G. and Butcher L.L. 1974: Origen and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. Brain Res. 71: 167-171.
- Chace, T.E. 1967: De purposive Behavior in Animales and Men. New York-Appleton-Century-Crafts.
- Chase, H.P., Lindsley, W.F.B., Jr. and O'Brien, D. 1969: Undernutrition and cerebellar development. Nature (Lond.) 221: 554-555.
- Cherkin, A. 1969: Kinectics of memory consolidation: Role of amnesic treatment parameters. Proc. Nat. Acad. Sci. 63: 1094-1101.
- Chorover, S.L. and Schiler, P.H. 1965: Short-term retrograde amnesia in rats. J. Comp. Phsysiol. Psychol. 59: 73-78.
- Clarck, P.B.S., Pert, C.B. and Pert, A. 1984: Autoradiographic distribution of nicotine receptors in rat brain. Brain Res. 323: 390-395.
- Cobos-Zapiain, G. 1978: Déficit del aprendizaje inducido por el bloqueo colinérgico del núcleo caudado. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina. UNAM. México. 33.- Cohen, E.L. and Wurtman, R.J. 1976: Brain acetylcholine; increase after systemic choline administration. Life Sci. 16: 1095-1102.
- Collier, B. Poon, P. and Salah-Moghaddam, M. 1972: The formation of choline and of acetylcholine by brain in vitro. J. Neurochem. 19: 59-60.
- Cooper, P.E., Fernstrom, M.H., Rorstad, O.P., Leeman, S.E. and Martin, J.B. 1981: The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain. Brain Res. 218: 219-232.
- Coté, L.J. and Fahn, S. 1968: Some aspects of the biochemistry of the substantia nigra of the rhesus monkeys. págs. 331-317. In Baubeau, A. and Brunette, J.R. (eds) Proc. Second Int. Cong. Neurogenetics and Neuropathology. Excerpta Medica. Amsterdam.
- Cozzari, C. and Hartman, B.K. 1980: Preparation of antibodies specific to choline acetyltransferase from bovine caudate nucleus and immunohistochemical localization of the enzyme. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 77: 7453-7457.
- Culley, W.J. and Lineberger, R.O. 1968: Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. J. Nutr. 96: 375-381.

- Dawbarn, D. Hunt, S.P. and Emson P.C. 1984: Neuropeptide Y: regional distribution chromatographic characterization and immunohistochemical demonstration in post-mortem human brain. *Brain Res.* 296: 168-173.
- Defeudis, F.V., Delgado, J.M.R. and Roth, R.H. 1970: Content, synthesis and collectability of amino acids in various structures of the brains of rhesus monkeys. *Brain Res.* 18: 15-23.
- DiFiglia, M., Aronin, N. and Martin, J.B. 1982: Light and electron microscopic localization of immunoreactive met-enkephalin in the monkey basal ganglia. *J. Neurosci.* 2: 303-320.
- Domino, E.F., Krause, R.R. and Bowers, J. 1973: Various enzymes involved with putative neurotransmitters. *Archs. gen. Psychiat.* 29: 195-201.
- Dorfman, I. and Jarvik, M.I. 1968b: A parametric study of electroshock-induced retrograde amnesia in mice. *Neuropsychologia.* 6:373-380.
- Dorn, A. Schmidt, K., Schmidt, W., Bernstein H.G., Rinne, A. and Rose, I. 1985: Localization of cholecystokinin immunoreactivity in the human brain with special reference to ontogeny. *J. Hirnforsch* 26: 167-171.
- Eng, L.F., Uyeda, C.T., Chao, L.P. and Wolfgram, F. 1974: Antibody to bovine choline acetyltransferase and immunofluorescent localization of the enzyme in neurones. *Nature* 250: 243-245.
- Fahn, S. and Cote, L.J. 1986: Regional distribution of gamma-aminobutyric acid (GABA) in brain of the rhesus monkey. *J. Neurochem.* 15: 209-213.
- Fahn, S., Libsch, L.R. and Cutler, R.W. 1971: Monoamines in the human neostriatum: topographic distribution in normals and Parkinson's disease and their role in akinesia, vigidity, chorea, and tremor. *J. Neurol. Sci.* 14: 427-455.
- Fernández, S.M., Soledkin, M.H. and Prado-Alcalá, R.A. 1977: Blockade and activation of caudate cholinergic activity. *Soc. Neurosc. Abstr.* 3: 232.
- Finner-Moore, J. and Stroud, R.M. 1983: Amphipathic analysis and possible formation of the channel in acetylcholine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (vol. 81. N° 1.2).
- Freedman, S.D. and Lentz, T.L. 1980: Binding of horseradish peroxidase-L- α -bungarotoxin to axonal membranes at the node of Ranvier. *J. Comp. Neurol.* 193: 179-185.

- Gash, D.M. and Thomas, G.J. 1983: What is importance of vasopressin in memory processe?. *Tends in NeuroSciens.* 6: 197-198.
- Fuxé, K. 1965: Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV: Distribution of monoamine nerve terminal in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.* 64: 39-85.
- Gazit, H., Silman, I. and Dudai, Y. 1979: Administration of an organophosphate causes a decrease in muscarinic receptor levels in rat brain. *Brain Res.* 174: 351-356.
- Gerfen, C.R. 1985: The neostriatal mosaic. I. Compart mental organization of projection from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 236: 454-476.
- Glick, S.D. and Greentein, S. 1973: Comparative learning and memory deficits following hippocampal and caudate lesions in mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 82: 188-194.
- Glick, S.D., Marsanico, R.G. and Greenstein, S. 1974: Differerecovery of function following caudate, hippocampal and septal lesions in mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86: 787-792.
- Gold, P.E. 1984: Memory modulation: neurobiological contexts. In Lynch, G., McGaugh, J.L. and Weinberger, N.M. (Eds.), *Neurobiology of learning and memory* (pp. 374-382). New York: Guilford Press.
- Gold, P.E. 1986: The Use of Avoidance Training in Studies of Modulation of Memory Storage. *Behavio. and Neural Biology.* 46: 87-89. 54.- Gold, P.E. and McGaugh, J.L. 1975: A single-trace, two process view of memory storage process. In Deutsch, D. and Deutsch, J.A. (Eds), *Short-term memory* (pp.355-390). New York: Academic Press.
- Gold, P.E. and McGaugh, J.L. 1978: Neurobiology an memory: modulators, correlates and assumptions. In T. Teyler (Ed), *Brain and learning* (pp. 93-103). Stanford, CT:Greylock.
- Goldman, P.S. and Nauta, W.J.H. 1977: An intricacately patterned prefrontcaudate projection in the rhesus monkey. *J. Comp. Neuronal.* 171: 369-386.
- Gramsch, C., Holtt, V., Mehraein, P., Pasi, A. and Herz, A. 1979: Regional distribution of methionine-enkephalin-and beta-endorphin-like immunoreactivity in human brain and pituitary. *Brain Res.* 171: 261-270.
- Graybiel, A.M. and Radsdale, c.w. 1983: Bichemical anatomy of the striatum. In: Emson PC (ed) *Chemical anatomy*. Raven Press, New York.

Haber, S.N. 1986: Neurotransmitters in the human and nonhuman primate basal ganglia. *Human Neurobiol.* 5: 159-168.

Haber, S.N. 1984: Striatal input to a basal forebrain ACh-positive cell group sets it apart from the rest of the forebrain cholinergic neurons. *Society for Neuroscience (Abstract)*.

Haber, S.N. and Elde, R. 1981: Correlation between met-enkephalin and substance P immunoreactivity in the primate globus pallidus, *Neuroscience* 6: 1291-1298.

Haber, S.N. and Elde, R. 1982a: The distribution of enkephalin immunoreactive fibers and terminals in the monkey central nervous system: an immunohistochemical study. *Neuroscience* 7: 1049-1095.

Haber, S.N. and Elde, R. 1982b: The distribution of enkephalin immunoreactive cell bodies in monkey brain: Preliminary observations. *Neurosci. Lett* 5: 247-252.

Haber, S.N.; Groenewegen, H.J., Grove, E.A. and Nauta, W.J.H. 1985: Efferent connections of the ventral pallidum: evidence of a dual striato pallidofugal pathway. *J. Comp. Neurol.* 235: 322-335.

Haber, S.N. and Nauta, W.J.H. 1983: Ramifications of the globus pallidus in the rat as indicated by patterns of immunohistochemistry. *Neuroscience* 9: 245-260.

Haber, S.N. and Watson, S.J. 1985: The comparative distribution of enkephalin, dynorphin and substance P in the human globus pallidus and basal forebrain. 70.- Hall, J.F. 1966: the psychology of learning. Lippincott. Philadelphia.

Haubrich, R., Wang, P.F.L., Clody, D.E. and Wedeking, P.W. 1975: Increase in rat brain acetylcholine induced by choline or deanol. *Life Sci.* 17: 975-980.

Haycock, J.W., Deadwyler, S.A., Sideroff, S.I. and McLaugh. 1973: Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Exp. Neurol.* 41: 201-213.

Heise, G.A. 1981: Learning and memory facilitators-experimental definition and current status. *Trends in Pharmacological Science.* 2: 158-160.

Heimer, L., Switzer, R.D. and Van Hoesen, G.W. 1982: Ventral Striatum and ventral pallidum. Components of the motor system? *Trends Neurosci.* 5: 83-87.

Herkenham, M. and Pert, C.B. 1981: Mosaic distribution of opiate receptors, parafascicular projections as acetylcholinesterase in rat striatum. *Nature* 291: 418.

- Hokfelt, T., Skirboll, L., Rehfeld, J.F., Goldstein, M., Markey, K. and Dann, O. 1980: A subpopulation of mesencephalic dopamine neurons projecting to limbic areas contains a cholecystokinin-like peptide: Evidence from immunohistochemistry combined with retrograde tracing. *Brain Res Bull.* 13: 785-800.
- Hudspeth, W.J., McGaugh, J.L. and Thompson, C.W. 1964: Aversive and amnesic effects of electroconvulsive shock. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 57: 61-64.
- Hughes, R.A., Barret, R.J. and Ray, O.S. 1970a: Retrograde amnesia in rats increases as a function of ECS-test interval and ECS intensity. *Physiol. Behav.* 5: 27-30.
- Hull, C.L. 1943: *Principles of Behavior: An introduction to Behavior Theory.* New York: Appleton-Century-Crofts. pp. 381-398.
- Jarvik, M.E. and Kopp, R. 1967b: Transcorneal electroconvulsive shock and retrograde amnesia in mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 64: 431-433.
- Kása, P. 1978b: Distribution of cholinergic neurones within the nervous system revealed by histochemical methods. In: *synaptic transmission.* pp. 45-55. Ed. Biesold. Karl-Marx University Press. Leipzig.
- Kása, P. 1986: The cholinergic systems in brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology.* Vol. 26: 211-272.
- Kása, P., Mann, S.P. and Hebb, C.O. 1970a: Localization of cholineacetyltransferase. *Histochemimistry at the light microscope level.* *Nature* 26: 812-814.
- Kása, P., Mann, S.P. and Hebb, C.O. 1970b: Localization of cholineacetyltransferase. *Ultrastructural localization in spinal neurones.* *Nature* 226: 814-816.
- Kawashima, K., Ishikawa, H. and Mochizuki, M. 1980: Radioimmunoassay for acetylcholine in the rat brain. *J. Pharmac. Meth.* 3: 115-123.
- Kemp, J.M. 1968b: Observation on the caudate nucleus of the cat impregnated with the golgy method. *Brain Res.* 11: 468-470.
- Kemp, J.M. and Powell, T.P.S. 1971b: The synaptic organization of the caudate nucleus. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. (B)* 262: 403-412.
- Kety, S.S. 1970: The biogenic amines in the central nervous system. In F.O. Schmitt (Ed), *The Neurosciences* pp. 324-336. New York: Rockefeller Univ. Press.

- Khachaturian, H. Lewis, M.E., Haber, S.N., Akil, H and Watson, S. 1984: Proopiomelanocortin peptide immunocytochemistry in rhesus monkey brain. *Brain Res Bull* 13: 785-800.
- King, R.A. 1965: Consolidation of the neural trace in memory: investigation with one-trial avoidance conditioning and ECS. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 59: 283-284.
- King, R.A. 1967: Consolidation of the neural trace in memory: ECS produced retrograde amnesia is not an artifact of conditioning. *Psychon. Sci.* 9: 409-410.
- Kirby, R.J. 1973: Caudate nucleus and arousal in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 85: 82-96.
- Kirby, R.J. and Kimble, P. 1968: Avoidance and escape behavior following striatal lesions in the rat. *Exp. Neurol.* 20: 215-227.
- Koelle, G.B. and Friedenwald, J.S. 1949: A histochemical method for localizing cholinesterase activity. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 70: 617-622.
- Krasne, F.B. 1978. Extrinsic control of intrinsic neuronal plasticity: An hypothesis from work on simple systems. *Brain Research.* 140: 197-216.
- Kuhar, M.J., DeHaven, R.N. Yamamura, H.I., Rommelspacher, H. and Somon, J.R. 1975: Further evidence for cholinergic habenulo-interpenduncular neurons: Pharmacologic and functional characteristics. *Brain Res.* 97: 265-275.
- Kuhar, M.J., Pert, G.B. and Snyder, S.H. 1973: Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain. *Nature* 245: 447-450.
- Kuhar, M.J., and Yamamura, H.I. 1976: Localization of cholinergic muscarinic receptors in rat brain by light microscope radioautography. *Brain Res.* 110: 229-243.
- Kunzle, H. 1975: Bilateral projection from precentral motor cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in macaca fascicularis. *Brain Res.* 88: 195-209.
- Landinsky, H. and Consolo, S. 1974: Determination of acetylcholine and choline by enzymatic radioassay. Págs. 1-17. In choline and acetylcholine. Handbook of chemical radioassay methods. Hanin (Ed), New York. Raven Press.
- Lebidinets, N.G. y Pino-Nuñez, H.R. 1970: Terminología anatómica española e internacional. La Habana, Instituto del Libro.

- Lee-Teng, E. 1967: Retrograde amnesia in relation to current intensity and seizure pattern in chicks. Proc. 75 th Ann. Conv. Amer. Psychol. Assoc. 2: 87-88.
- León Díaz del Guante, M.A. 1982: Efectos del bloqueo colinérgico del núcleo caudado, dependientes del tiempo sobre la memoria. Tesis de Maestría. Facultad de Psicología, UNAM. México.
- Levey, A.I., Armstrong, D.M., Atweh, S.F., Terry, R.D. and Wainer, B.H. 1983a: Monoclonal antioide to choline acetyltransferase: production specificity and immunohistochemistry. J. Neurosci. 3: 1-9.
- Levey, A.I., and Wainer, B.H. 1982: Cross-species and intraspecies reactivities of monoclonal antibodies against choline acetyltransferase. Brain Res. 234: 469-473.
- Levey, A.I., Wainer, B.H., Mufson, E.J. and Mensulman, M.N. 1983b: Co-localization of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase in the rat cerebrum. Neuroscience 9: 9-22.
- Levey, A.I., Wainer, B.H., Rye, D.B., Mufson, E.J. and Mesulam, M.M. 1984: choline acetyltransferase-immunoreactive neurons intrinsic to rodent cortex and distinction from acetylcholinesterase positive neurons Neuroscience 13: 341-353.
- Levi-Montalcini, R. and Angeletti, V. 1968: Nerve growth factor. Physiol. Rev. 45: 553-569.
- Lewis, C.A. and Stevens, C.F. 1979: In: membrane transport processes, edited by C.F. Stevens and R.W. Tsien. New York; Raven Press Vol. 3: 133-157.
- Lewis, P.R. and Shute, C.C.D. 1967: The cholinergic limbic system: projection to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system and the subfornical organ supraoptic crest. Brain 90: 521-540.
- Lloyd, K.G. 1975: Special chemistry of the basal ganglia 2. Distribution of acetylcholine, acetyltransferase and acetylcholinesterase. Pharmac. Therap. B. 1: 63-67.
- Luria, A.R. 1984: Atención y memoria. Edit. Martínez Roca S.A. España.
- Lynch, G.S., Lucas, P.A. and Deawyer, S.A. 1972: The demonstration of acetylcholinesterase containing neurons within the caudate nucleus of the rat. Brain Res. 45: 617-621.
- Lynch G.S., McGaugh, J.L. and Weinberger, N.M. (Eds). 1984: Neurobiology of learning and memory. New York: Guilford Press.

- MacIntosh, F.C. 1941: The distribution of acetylcholine in the peripheral and central nervous system. *J. Physiol.* 99: 936-942.
- Madsen, M.C. and McGeugh, J.L. 1961: The effects of ECS on one-trial avoidance learning. *J. Comp. Psychol.* 54: 522-523.
- Mantione, C.R.; Fisher, A. and Hanin, I. 1981: The AF64A-treated mouse: possible model for central cholinergic hypofunction. *Science* 213: 579-580.
- Mantione, C.R.; Zigmond, M.J.; Fisher, A. and Hanin, I. 1983: Selective presynaptic cholinergic neurotoxicity following intrahippocampal AF64A injection in rats. *J. Neurochem.* 41: 251-255.
- McGeugh, J.L. 1973: Drug facilitation of learning and memory. *Annual Review of Pharmacology* 13: 229-241.
- McGeugh, J.L. and Gold, P.E. 1986: Hormonal modulation of memory. In R. Brush y S. Levine (Eds.), *Psychoendocrinology*, in press. New York: Academic Press.
- McGeugh, J.L. and Herz M.J. 1972: *Memory Consolidation*. Edit. Albion Publishing Company. San Francisco California.
- McGeugh, J.L. and Madsen, M.C. 1964: Amnesic and punishing effects of electroconvulsive shock. *Science* 144: 182-183.
- McGeer, P.L., McGeer, E.G., Fibiger, H.C. and Wickson 1971c: Nucleostriatal choline acetylase and cholinesterase following selective brain lesions. *Brain Res.*
- McGeer, E.G., McGeer, P.L., Grewaal, D.S. and Singh, V.K. 1975: Striatal cholinergic interneurons and their relation to dopaminergic nerve endings *J. Pharmacol. (Paris)*, 6: 143-152.
- McGeer, P.L., Grewaal, D.S. and McGeer, E.G. 1974: Influence of cholinergic drugs on rat striatal acetylcholine levels *Brain Res.* 80: 211-217.
- McLennan, H. and York, D.H. 1966: Cholinergic mechanisms in the caudate nucleus. *J. Physiol. (Lond)*. 187: 163-175.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. and Levey, A.I. 1983a: Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alterantive nomenclature (ch1-ch6). *Neuroscience* 10, 1185-1201.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I. ad Wainer, B.H. 1983b: Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata) and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 214: 170-197.

- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I. and Wainer, B.H. 1984: Atlas of cholinergic neurons in the forebrain and upper brainstem of the macaque based on monoclonal choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetylcholinesterase histochemistry. *Neuroscience* 12: 669-686.
- Miller, A.J. 1968: Variations in retrograde amnesia with parameters or electroconvulsive shock and time of testing. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 66:40-47.
- Meyer, D.K., Beinfeld, M.C. Oertel, W.H. and Brownstein, M.J. 1982: The origin of the cholecystokinin-containing fibers in the rat caudatoputamen. *Science* 215: 187-188.
- Mitchan, J.C. and Thomas, R.K. 1972: Effects of substantia nigra and caudate nucleus lesions on avoidance learning in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 81: 101-107.
- Molenaar, P.C., Nickolson, V.D. and Polak, R.I. 1973: Preferential release of newly synthesized 3H-acetylcholine from rat cerebral cortex slices in vitro. *Brit. J. Pharmacol.* 47: 97-108.
- Müller, G.E. and Pilzecker, A. 1900: Experimentelle beitraege zur lehre vom gedaechtnis. 2. *Psychol. Physiol. Sinnersorg. (Suppl.1):* 1-300.
- Neill, D.B. and Grossman, S.P. 1970: Behavioural effects of lesions or cholinergic blockade of dorsal and ventral caudate of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 71: 311-317.
- Neill, D.B. Ross, J.F. and Grossman, S.P. 1974: Comparison of the effects of frontal, strial, and septal lesions in paradigms through to measure incentive motivation or behavioral inhibition, *Physiol. Behav.* 13: 297-305.
- Ninomiya, J.G. 1991: *Fisiología Humana; Neurofisiología.* Edit. El Manual Moderno. México.
- Nonaka, R. and Moroji, T. 1984: Quantitative autoradiography of muscarinic cholinergic receptors in the rat brain. *Brain Res.* 296: 295-303.
- Oberg, G.E. and Divac, I. 1975: Dissociative effects of selective lesions in the caudate nucleus of cats and rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 35: 647-659.
- Oertel, W.H. and Mugnaini, E. 1984: immunocytochemical studies of GABAergic neurons in rat basal ganglia and their relationship to other neuronal systems. *Neurosci. Lett.* 47: 233-238.
- Olmsted, C.E. Villablanca, J.R., Narcus, R.J. and Avery, D.L. 1976: Effects of caudate nuclei or frontal cortex ablations in cats. IV. Bar Pressing, maze learning, and performance. *Exp. Neurol.* 53: 670-695.

- Packard, M.G., Hirsh, R. and White, N.M. 1989: Differential effects of fornix and caudate nucleus lesions on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. *J. Neurosci.* 9 (5): 1465-1472.
- Pasik, P., Pasik, T., Holstein, G.R. and Saavedra, J.P. 1984a: Serotonergic innervation of the monkey basal ganglia: an immunocytochemical, light and electron microscopy study. In: Mckenzie, J.S., Kemm, R.E. and Wilcock, L.N. (eds). *The basal ganglia*. Plenum Press, New York. pp. 115-129.
- Paxinos, G., and Watson, C. 1982: *The rat brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press. pp. 162.
- Pearlman, C.A. Jr., Sharpless, S.K. and Jarvik, M.E. 1959: Effects of ether-pentobarbital, and pentylenetetrazol upon one-trial learning of an avoidance response. *Fed. Proc.* 18: 432 (abstract).
- Peng, J.H., McGeer, P.L., Kimura, H., Sung, S.C. and McGeer, E.G. 1980: Purification and immunochemical properties of choline acetyltransferase for human brain. *Neurochem. Res.* 5: 943-962.
- Perry, T.L., Berry, K., Hansen, S., Diamond, S. and Mok, C. 1971: Regional distribution of aminoacids in human brain obtained at autopsy. *J. Neurochem.* 18: 513-519.
- Piolo, E.P.J., Hughes, J.T., Cuello, A.C. 1984: Loss of substance P and enkephalin immunoreactivity in the human sub-tantia nigra after striato-pallidal infarction. *Brain. Res.* 292: 339-347.
- Polgar, S., Sanberg, R. and Kirby, R.J. 1981: Is the striatum involved in passive avoidance behavior?. A commentary. *Physiol. Psychol.* 9: 354-358.
- Potter, L.T. 1970: Acetylcholine, choline acetylase and acetylcholinesterase. In A. Lajtha (Ed.), *Handbook of Neurochemistry*, vol. IV. New York: Plenum, 1970. pp. 263-284.
- Prado-Alcalá, R.A. *Fisiología del aprendizaje y la memoria*, cap. 15 en *Ninomiya 1991: Fisiología Humana.*, Neurofisiología. Edit. El Manual Moderno. México.
- Prado-Alcalá, R.A. 1985: Minireview: is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory?. *Life Sciences* Vol. 37. pp. 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R.A., Bermúdez-Rattoni, T., Velázquez-Martínez, D.N. and Bacha, M.G. 1978: Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining-induced protection against behavioral deficits. *Life Sci.* 23: 889-896.

- Prado-Alcalá, R.A., Cepeda, G., Verduzco, L., Jiménez, A. and Vargas-Ortega, E. 1984: effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. *Neurosc. Lett.*, 51: 31-36.
- Prado-Alcalá, R.A. and Cobos-Zapiain, G.G. 1979: Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. *Neurosc. Lett.* 253-258.
- Prado-Alcalá, R.A. and Cobos-Zapiain, G.G. 1977: Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Res.* 138: 190-196.
- Prado-Alcalá, R.A., Cruz-Morales, S.E. and López-Miro, F.A: 1980: Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neurosci. Lett.* 18: 338-345.
- Prado-Alcalá, R.A., Fernández-Samblancat, M. and Solodkin-Herrera, M. 1985: Injection of atropine into the caudate nucleus impair the acquisition and the maintenance of passive avoidance. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 22: 243-247.
- Prado-Alcalá, R.A., Grinberg, J.Z., Arditti, L.Z., García, M.M., Prieto, G.H. and Brust Carmona, H. 1975: Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of the corpus striatum in rats. *Physiol. Behav.* 15: 283-287.
- Prado-Alcalá, R.A., Griberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, F.J., Gómez, A.G., Singer, S. and Brust-Carmona, H. 1972: A possible caudate-cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses. *Psychopharmacologia (Berl.)*. 25: 339-246.
- Prado-Alcalá, R.A., Kaufmann, P. and Moscona, R. 1980: Scopolamine and KCl injections into the caudate-putamen. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmac. Biochem. Behav.* 12: 249-253.
- Prado-Alcalá, R.A., Signoret-Edward, L. and Figueroa M. 1981: Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmac. Biochem. Behav.* 15: 633-636.
- Prado-Alcalá, R.A., Signoret-Edward, L., Figueroa, M., Giordano, M. and Barrientos, M.A. 1984: Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term, but not with short-term retention of passive avoidance. *Behav. Neural Biol.* 42: 81-84.
- Ranson, S.E: and Clarck, S.L. 1964: The anatomy of the nervous system. E.B. Saunders Co. (eds.) Philadelphia and London.

- Rinner, U.K., Riekkinen, P., Sonninen, V. and Laaksonen, H. 1973: Brain acetylcholinesterase in Parkinson's disease. *Acta Neurol. Scand.* 49: 215-226.
- Ritcher, J.A. and Marchbanks, R.M. 1971: Synthesis of radioactive acetylcholine from [^3H], choline and its release from cerebral cortex slices in vitro. *J. Neurochem.* 18: 691-703.
- Rossier, J. 1975: Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase: real or artefact?. *Brain Res.* 98: 619-622.
- Rossier, J. 1977: Choline acetyltransferase: a review with special reference to its cellular and subcellular localization. *Int. Rev. Neurobiol.* 20: 283-287.
- Rotter, A., Birdsall, N.J.M., Field, P.M. and Raisman, G. 1979a: Muscarinic receptors in the central nervous system of the rat. II. Distribution of (^3H) propylbenzilycholine mustard in the midbrain and hindbrain. *Brain Res. Rev.* 1. 167-183.
- Rotter, A., Field, P.M. and Raisman, G. 1979b: Muscarinic receptors development of binding of (^3H) propylbenzilycholine mustard. *Brain Res. Rev.* 1, 185-205.
- Sahgal, A. 1984: A critique of the vasopressin-memory hypothesis. *Psychopharmacology.* 83: 215-228.
- Sanberg, P.R., Lehman, J. and Fibiger, H.C. 1978: Impaired learning and memory after kainic acid lesions of the striatum. A behavioral model of Huntington's disease. *Brain Res.* 149: 546-551.
- Sandberg, K., Hanin, I., Fisher, A. and Coyle, J.T. 1984: Selective cholinergic neurotoxin: AF64A'S effects in rat striatum. *Brain Res.* 293, 49-55.
- Salas M., Diaz S., and Nieto, A. 1974: Effects on Neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat., *Brain Research* 73: 139-144.
- Sara, V.R. and Lazarus, L. 1974: Prenatal action of growth hormone on brain and behavior. *Nature*, vol. 250. pp. 257-258.
- Selemon, L.D. and Goldman-Rakic, P.S. 1985: Longitudinal topography and interdigitation of corticostriatal projections in the rhesus monkey. *J. Neurosci.* 5: 776-794.
- Shety, R., Roth, R.H., Kuhar, M.J. and Van Woert, M.H. 1973: Choline and acetylcholine: regional distribution and effect of degeneration of cholinergic nerve terminals in the rat hippocampus. *Neuropharmacology* 12: 819-823.
- Shute, C.C.D. and Lewis, P.R. 1975: cholinergic pathways. *Pharmac. Ther.* 1: 79-87.

- Skinner, B.F. 1983: The behavior of organism. Appleton-Century-Company.
- Spector, S., Félix, A., Semenuk, G. and Finberg, J.P.M. 1978: Development of a specific radioimmunoassay for acetylcholine. *Neurochem.* 30: 685-689.
- Spevack, A., y Suboski, M.D., 1969: Retrograde effects of electroconvulsive shock on learned responses. *Psychologic Bull* 2: 66-76.
- Squire, L.R. 1987: Memory and Brain. Oxford University Press. New York.
- Stroud, R.M. 1983: Acetylcholine receptor structure. *Soc. for Neurosc.* Vol. 1 N° 3: 124-138.
- Studler, J.M., Javoy-Agid F., Cesselin F., Legrand, J.C., Agid, Y. 1982: CCK-8- immunoreactivity distribution in human brain: selective decrease in the substantia nigra from parkinsonian patients. *Brain Res.* 243: 176-179.
- Testut, L. y Latarjet, A. 1940: Núcleo caudado. En anatomía humana, Tomo II. Salvat editores. Barcelona-Buenos Aires.
- Thompson, R.F., 1983: Neuronal Substrates of simple associative learning: classical conditioning. *Trends in Neurosciences.* 6: 270-275.
- Thompson, R.F., Berger, T.V., y Madden, J. 1983: Cellular Processes of learning and memory in the mammalian CNS. *Annual Review of Neuroscience.* 6: 447-491.
- Thompson, R.F., and Dean, W., 1955: A further study of the retroactive effect of the ECS. *J. Comp. Physiol.* 48: 488-491.
- Thompson, R.F., Haravey, F., Pennington, D.F., Smith, J., Jr., Ganon, D., and Stockel, F. 1958: An analysis of the differential effects of ECS on memory in young and adult rats. *Canad. J. Psychol.* 12: 83-96.
- Thorpe, W.H., 1956: Learning and instinct in animals. London-Methven.
- Verduzco, V.L., Cepeda, C.G. and Prado-Alcalá, R.A. 1979: Núcleo Caudado y aprendizaje. XIII. Efectos de la microinyección de la colina y escopolamina sobre una tarea de prevención activa, en ratas. III Natl. Congr. Pharmacol., México.
- Vernadakis, A. 1973: Changes in brain acetylcholinesterase activity of young rats after chronic treatment with tremorine. *Experientia.* 29: 1257-1259.

- Vogel, Z., Towbin, M. and Daniels, M.P. 1979: Alpha-bungarotoxin-horseradish peroxidase conjugate: preparation, properties and utilization for the histochemical detection of acetylcholine receptors. *J. Histochem, Cytochem.* 27: 846-851.
- Wainer, B.H., Bolan, J.P., Clarcke, D.J., Freund, T., Henderson, Z., Smith, A. D. and Totterdell, S. 1983: Ultraestructura evidence of cholinergic sinapses in different regions of the rat brain: Cholinergic pathways. *V. Soc. Neurosci. Abstr.* 9: 963.
- Wainer, B.H., Levey, A.I., Mufson, E.J. and Mesulam, M.M. 1984a: Cholinergic systems in mammalian brain identified with antibodies against choline acetyltransferase. *Neurochem. Int.* 6: 163-182. 197.- Wainer, B.H., Bolan, J.P., Freund, T.F., Henderson, Z., Totterdell, S. and Smith, A.D. 1964b: Cholinergic sinapses in the rat brain: acorrelated light and electromicroscopic immunohistochemical study employing a monoclonal antibody against choline acetyltransferase. *Brain Res.* 308: 69-76.
- Walas, I. and Fonnus, F. 1979: The distribution and origin of glutamate decarboxilase and choline acetyltransferase in ventral palladium and other basal forebrain regions. *Brain Res.* 177: 325-336.
- Wamsley, J.K., Zarbin, M.A., Birdsall, N.J.M. and Kuhar, M.J. 1980: Muscarinic cholinergic receptors: autoradiographic localization of high and low affinity agonist binding sites. *Brain Res.* 200: 1-12.
- Wamsley, J.K., Zarbin, M.A., Young, W.S. and Kuhar, M.J. 1982: Distribution of opiate receptors in monkey brain: an autoradiographic study. *Neuroscience* 7: 597-614.
- Wamsley, J.K., Palacios, J.M., Youngs, W.S. III, and Kuhar, M.J. 1981: Autoradigraphic determination of neurotransmitter receptor distributions in the cerebral and cerebellar cortices. *J. Histochem, Cytochem.*, 29: 125-135.
- Watson, J.B. 1913: Psychology as the behaviorist views it., *Psychol. Rev.* 20: 158-177.
- Williams, M. 1950: Memory studies in electric convulsion therapy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 13: 30-35.
- Winocur, G. 1974: Functional dissociation within the caudate nucleus of rats. *J. Comp. physiol. Psychol.* 86: 432-439.
- Wyers, E.J., Deeke, H.V.S., Elliston, J.S. and Hezz, M.J. 1968: Retroactive impairment of passive avoidance learning by stimulation of the caudate nucleus. *Exp. Neurol.* 22: 350-366.

- Wyers, E.J. and Dedwyler, S.A: 1971: Duration of retrograde amnesia produced by stimulation of caudate nucleus. *Physiol. Behav.*, 6: 97-103.
- Yamura, H.Z., Kuhar, M.J., Greenberg, D. and Snyder, S.H. 1974: Muscarinic cholinergic receptor binding in rat hippocampus. *Brain Res.* 66: 541-546.
- Young, W.S., Penney, J.B., Dauth, G.W., Bromberg, M.B. and Gilmas, S. 1983: Glutamate or aspartate as a possible neurotransmitter of cerebral corticofugal fibers in the monkey. *Neurology* 33: 1513-1516.
- Young, W.S., Alheid, G.F., Heimer, L. 1984: The neutral pallidal projection to the mediodorsal thalamus: a study with fluorescent retrograde tracers and immunohistofluorescence. *J. Neurosci.* 4: 1626-1638.