

31962

i
20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**MODIFICACION DE LOS RECEPTORES α_1 Y α_2
EN DIFERENTES AREAS DEL CEREBRO DE
RATA POR DROGAS NORADRENERGICAS Y
POR UN APRENDIZAJE ESPACIAL**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACOLOGIA
CONDUCTUAL**

P R E S E N T A :

ILHUICAMINA DANIEL LIMON PEREZ DE LEON

Asesor Interno: Dra. Guadalupe Ortega
Asesor Externo: Dr. Víctor Alemán Alemán



Los Reyes Iztacala, 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

**ESTA TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DEL DR. VICTOR
ALEMAN ALEMAN PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE
FISIOLOGIA, BIOFISICA Y NEUROCIENCIAS DEL CENTRO DE
INVESTIGACION Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO
POLITECNICO NACIONAL.**

a Olga Villegas.

I N D I C E

I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION:	
-Aspectos generales de las catecolaminas	2
-Distribución de las fibras noradrenérgicas	5
-Funciones fisiológicas de las neuronas noradrenérgicas	9
-Los receptores adrenérgicos	10
-Regulación de los receptores noradrenérgicos	16
-Participación noradrenérgica en el aprendizaje	19
-Aprendizaje	25
III- HIPOTESIS	32
IV.- OBJETIVOS	33
V.- MATERIAL Y METODOS	
-Sujetos	34
-Drogas	34
-Aparatos	35
-Grupos de experimentación	35
-Procedimiento.	36
-Adaptación	36
-Programa de aprendizaje optimizado	36
-Secuencia de administración y aprendizaje optimizado	37

-Aprendizaje limitado en su velocidad de adquisición.	38
dosis agudas	38
grupos de experimentación	38
dosis semicrónica.	39
-Sacrificio y disección	40
-Obtención de la muestra biológica para receptores α_1	41
-Determinación de los receptores noradrenérgicos α_1	42
-Obtención de la muestra biológica para receptores α_2 .	44
-Determinación de los receptores noradrenérgicos α_2	44
VI.- RESULTADOS	
-Efecto de drogas noradrenérgicas en el aprendizaje espacial	46
-Cambios en la densidad de los receptores α_1 .	60
-Cambios en la densidad de los receptores α_2 .	66
VII.- DISCUSION	
-Efecto de las drogas agonistas y antagonistas del receptor noradrenérgico α_1 sobre el aprendizaje espacial.	73
-Efecto de las drogas agonistas y antagonistas del receptor noradrenérgico α_2 sobre el aprendizaje espacial.	75
-Efecto del aprendizaje y drogas noradrenérgicas sobre la población de receptores α_1 .	78

-Efecto del aprendizaje y drogas noradrenérgicas
sobre la población de receptores α_2 .

85

VII- CONCLUSIONES

91

VIII.- REFERENCIAS

93

IX. - AGRADECIMIENTOS

109

R E S U M E N

Este trabajo tuvo como objetivos determinar el efecto de diferentes sustancias noradrenérgicas sobre el aprendizaje espacial y además determinar el efecto del aprendizaje, de la administración de drogas noradrenérgicas o ambas condiciones sobre la población de receptores α_1 y α_2 -noradrenérgicos en diferentes áreas del cerebro de rata. El estudio del aprendizaje espacial se llevó a cabo en un laberinto radial de ocho brazos, bajo un programa de aprendizaje optimizado o bien limitado en su velocidad de adquisición. Solo después de la última sesión de aprendizaje optimizado, se determinó la densidad de receptores α_1 y α_2 noradrenérgicos por el método de "binding o de unión".

Los resultados del aprendizaje indican, que la anfetamina, un agonista indirecto α_1 , el idazoxan y el atipamazole que son drogas antagonistas α_2 administrados en forma semicrónica y aguda produjeron un incremento tanto en la velocidad de adquisición como en el número máximo de aciertos. Esto solo sucedió en un aprendizaje bajo condiciones limitadas en su velocidad de adquisición. El efecto de la administración semicrónica de estas mismas drogas en un aprendizaje optimizado, no produjo cambios significativos. La administración del antagonista α_1 prazosina y del agonista α_2 aminoclonidina, produjeron un bloqueo en la adquisición del aprendizaje.

Los hallazgos en los cambios de la densidad de receptores α_1 y α_2 -noradrenérgicos, en la mayor parte de los casos, estuvieron de acuerdo a lo esperado. Por un lado el efecto del aprendizaje espacial optimizado disminuyó la población de receptores α_1 y aumentó la de los receptores α_2 , y por otro la administración semicrónica de agonistas α_1 y antagonistas α_2 -noradrenérgicos disminuyeron la población de receptores α_1 y α_2 respectivamente. Por último la administración semicrónica de antagonistas α_1 y agonistas α_2 aumentaron la población de receptores α_1 y α_2 respectivamente.

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

ASPECTOS GENERALES DE LAS CATECOLAMINAS.

Actualmente, en el sistema nervioso central (SNC) se ha encontrado un gran número de sustancias que han sido identificadas como neurotransmisores y como neuromoduladores. En el primer caso uno de los más estudiados es la acetilcolina. Otros aminoácidos como el ácido glutámico y el α -cetoglutárico, son considerados también como neurotransmisores. En el segundo caso existe entre otros, una familia de neuromoduladores llamados catecolaminas (CA): adrenalina (AD), noradrenalina (NA) y la dopamina (DA).

Las catecolaminas (CA) son sintetizadas a partir de la tirosina proveniente de los alimentos. Las CA son compuestos que poseen un grupo catecol y una etanolamina o uno de sus derivados. La tirosina es un aminoácido esencial que cruza la barrera hematoencefálica y es capturado por un mecanismo de transporte activo por los somas de las terminales neuronales catecolaminérgicas (Moore, 1982).

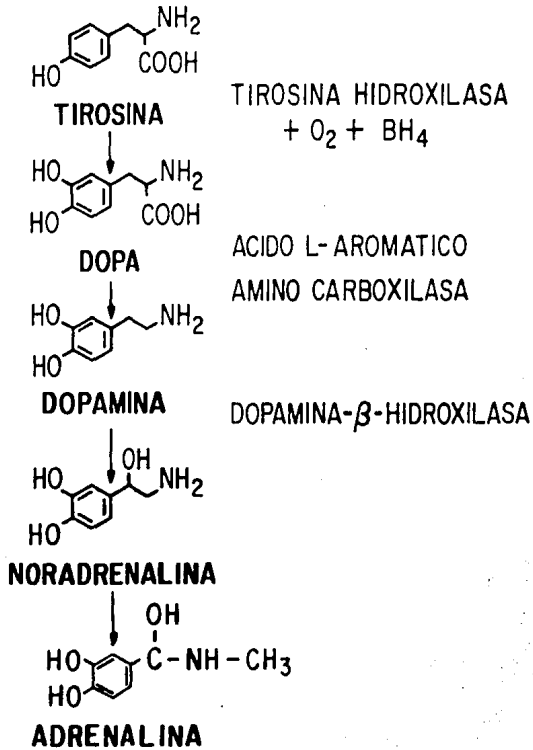
Estas aminas son sintetizadas en las terminales nerviosas tanto la NA como la AD y DA son almacenadas en las vesículas del botón sináptico, donde son protegidas de enzimas que las degradan. Existen dos caminos para el catabolismo de la NA, uno es por una reacción de desaminación por medio de la enzima monoamino-oxidasa (MAO) y el otro es por medio de una reacción de metilación en el

átomo del C₃ del anillo aromático por medio de la enzima catecol-orto metiltransferasa (COMT) figura 1 (Fillenz, 1990).

Concentraciones relativamente grandes de NA se encuentran en el hipotálamo y en ciertas zonas del sistema límbico (Brownstein, 1974), así como en el núcleo central de la amígdala (Lindvall, 1978) y en la circonvolución dentada del hipocampo (Koda, 1977). Pero esta CA también está presente en cantidades significativas pero menores en casi todas las regiones del encéfalo.

Figura 1

SINTESIS DE NORADRENALINA



DISTRIBUCION DE LAS FIBRAS NORADRENERGICAS.

El conocimiento de la localización y función de las neuronas y vías noradrenérgicas ha progresado rápidamente, gracias al desarrollo de procedimientos de histofluorescencia con vapor de formaldehído (Dahlstrom, 1964; Lindvall, 1978; Falk, 1962), técnicas inmunohistoquímicas (Geffen, 1969) y por medio de técnicas de inmunocitoquímica (Sternberger, 1979; Granna, 1978).

Estudios que han desarrollado mapas detallados indican, que casi todas las neuronas noradrenérgicas surgen de un núcleo localizado en la protuberancia, el "*locus coeruleus*" (Amaral, 1977) o bien en neuronas de la porción tegmental lateral de la formación reticular (Moore, 1982). Desde este conglomerado de neuronas, múltiples proyecciones muy ramificadas inervan células efectoras específicas en gran número de campos corticales, subcorticales y espinomédulares (Foote, 1983).

Las neuronas del *locus coeruleus* se proyectan de la protuberancia al cerebelo, a la medula espinal, al tálamo y a varias zonas corticales, pero la función propia de estas regiones efectoras, no se interrumpe cuando las fibras noradrenérgicas se destruyen experimentalmente indicando que estas neuronas forman una estructura funcionalmente paralela, pero no jerárquica (Thoenen, 1973; Hobson, 1975; Cash, 1986).

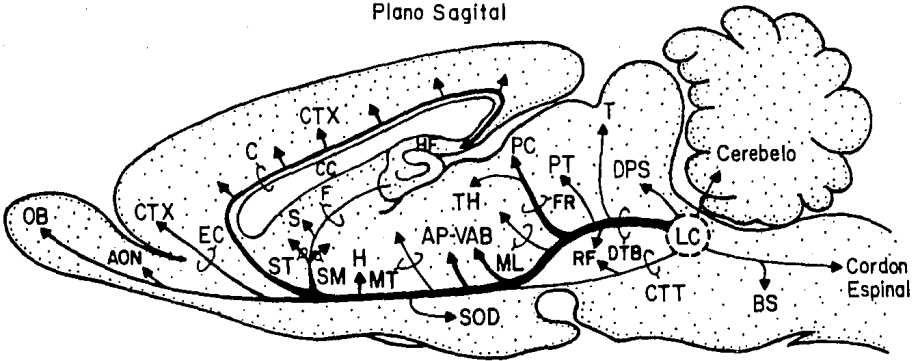
El *locus coeruleus* contiene el 43% de todas las neuronas productoras de NA en el cerebro de rata y ellas envían proyecciones

especialmente a las estructuras neocorticales (Savaki, 1982). Entre las regiones que se encuentran inervadas están, la neocorteza, el hipocampo, el tálamo y el cerebelo (Lindvall, 1978). También el núcleo intersticial de la estría terminal recibe una densa inervación noradrenérgica y tiene conexiones con los núcleos del septum preóptico, hipotalámico, los núcleos amigdalinos y el núcleo del tractus solitario, ya que toda esta región del encefalo es rica en cuerpos celulares y terminales nerviosas que contienen NA, figuras 2 y 3 (Savaki,1982).

Fig 2

PRINCIPALES VIAS NORADRENERGICAS DEL LOCUS COERULEUS

Plano Sagital



AP-VAB,Asa penduncularis-sistema
amigdalóide ventral.

BS, Tallo cerebral

C, Cingulun

CC, Cuerpo calloso

CER,Cerebelo

CTT,Tracto tegmental central

CTX,Corteza cerebral

DPS,Sistema dorsal periventricular

DTB,Haz dorsal tegmental

EC,Capsula externa

F, Fornix

FR,Retroflexo fascículo

H, Hipotálamo

HF, Formación hipocampal

LC,Locus ceruleus

ML,Lemnisco medial

MT, Tracto mamilotálamico

OB,Bulbo olfatorio

PC, Comisura posterior

PT, Área pretecal

RF, Formación reticular

S, Área septal

SC, Cordon espinal

SM, Estria medular

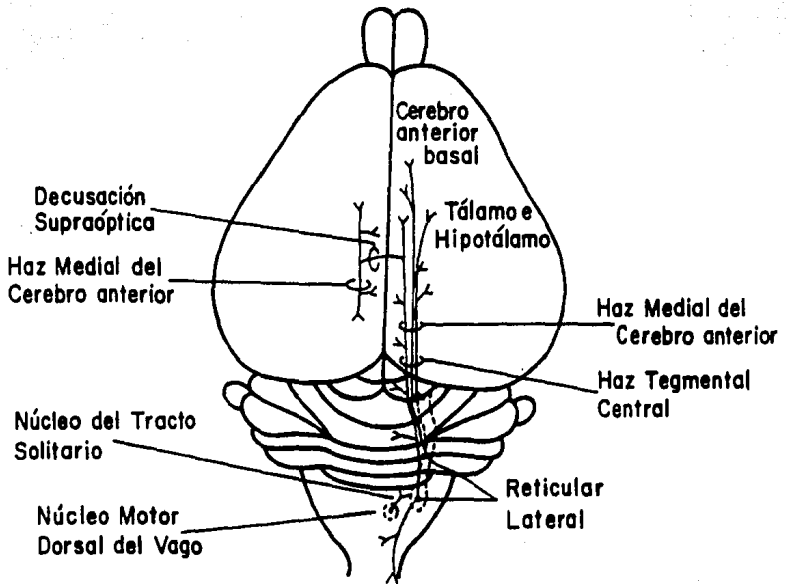
ST, Estria terminal

T, Tactun

TH, Tálamo

MOORE AND BLOOM, 1979.

Fig 3



Localización y proyecciones de las neuronas noradrenérgicas del tálamo lateral en plano horizontal

FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LAS NEURONAS NORADRENERGICAS.

Las CA son compuestos reguladores importantes y producen una variedad de efectos fisiológicos. Entre las funciones que regula este sistema están las funciones cardiovasculares (Snyder, 1975), la actividad motora y el ciclo sueño-vigilia. Además, se ha sugerido que las neuronas noradrenérgicas están involucradas en una variedad de funciones conductuales: incluyendo la atención (Mason y Iversen, 1979), el aprendizaje, (Quartermain, 1983; Archer, 1986a), los cambios motivacionales (Ahlskog, 1973), el estrés (Cassens, 1980), la memoria (Archer, 1986a; Flood y Jarvaik, 1976; McGaugh, 1989; Sara, 1991), la ansiedad (Gray, 1982; Redmond, 1979) y la nociocepción (Millan, 1992). Las mismas CA tienen un efecto periférico definido con respecto al estrés y la conducta emocional. Una de las hipótesis de la acción de las CA es en los trastornos afectivos, señala que la depresión puede relacionarse con la deficiencia de CA en los adrenoreceptores. En tanto que en la manía, probablemente se deba a un exceso de CA (Hollister, 1987).

Por otra parte, se ha encontrado deficiencia de NA en algunas áreas del cerebro de roedores de edad avanzada (Estes y Simpkins, 1980). Esto se le atribuye en parte a la pérdida de las neuronas del tallo cerebral que contienen NA y al decremento en el contenido de este neuromodulador en dichas neuronas (Estes, 1980). También se ha evidenciado deficiencia de NA en pacientes con mal de Parkinson (Farley y Hornykiewicz, 1976; Cash, Ruberg y Raisman, 1984; Mason, 1984), en pacientes con enfermedad de Alzheimer (Tomilson,

Irving y Blessed, 1981) y en pacientes en estado depresivo (Hollister, 1987; Siever, 1987). En algunos casos esta deficiencia se acompaña de una pérdida de un 80 % en el número total de células del *locus coeruleus*.

LOS RECEPTORES ADRENERGICOS.

Ahlquist en 1948 estudió el efecto de una serie de aminas simpaticomiméticas sobre una variedad de tejidos *in vivo* e *in vitro* y encontró que las sustancias presentaron dos distintos rangos de potencia. Debido a esas diferencias en la potencia propuso que existen dos tipos de adrenoreceptores (AR) a los que se les llamó receptores α y β , los cuales tienen diferente afinidad para la AD y para la NA en varios tejidos tanto *in vitro*, como en *in vivo*, y que pueden ser caracterizados farmacológicamente por el uso de sustancias agonistas y antagonistas.

Posteriormente Lands y col., en 1967 clasificaron a los AR beta en: β_1 , encontrados predominantemente en corazón y que regulan los efectos inotrópico y el cronotrópico positivo de las CA en estas estructuras y los receptores β_2 encontrados principalmente en tejidos periféricos.

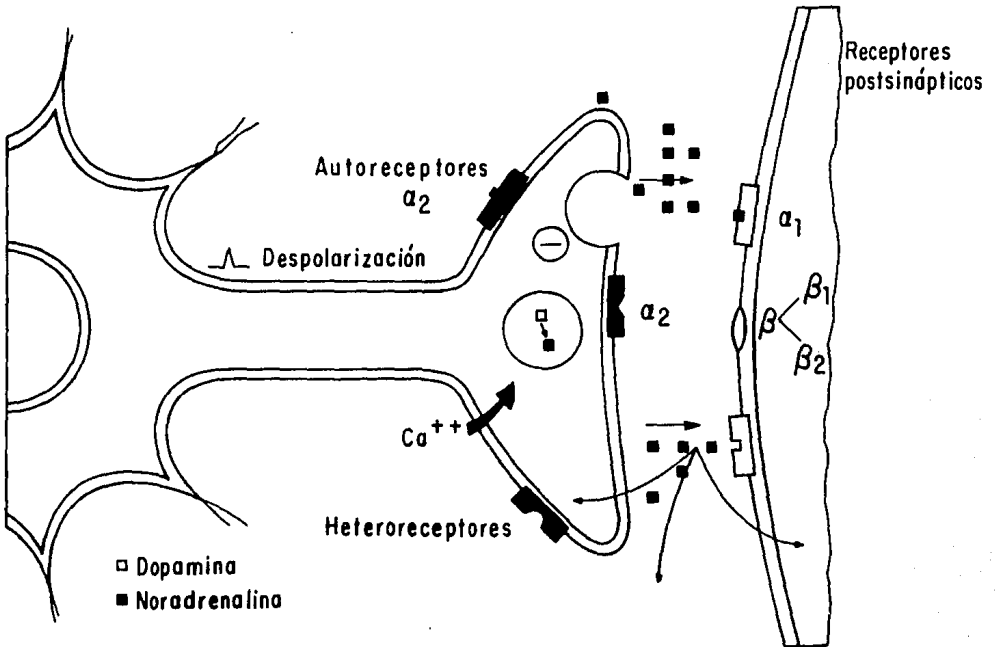
Los AR α fueron clasificados en receptores α_1 y α_2 (Langer, 1974). Los receptores α_1 se encuentran primordialmente en la parte postsináptica y median la respuesta del órgano efector. Mientras que los receptores α_2 se encuentran predominantemente en la parte presináptica y regulan la respuesta de la liberación del

neurotransmisor (figura 4). Sin embargo recientemente este receptor se ha encontrado tanto en la porción pre como en la postsináptica (Mc Grath, 1983).

Figura 4

RECEPTORES α -NORADRENERGICOS

CLASIFICACION ACTUAL



Posteriormente se ha sugerido que los AR no deberían ser caracterizados por su distribución anatómica en la sinápsis, sino por su especificidad farmacológica. Así por ejemplo, los AR α_1 tienen una alta afinidad a sustancias agonistas como a la fenilefrina, metoxamina y 6-fluoronorepinefrina. Entre los antagonistas a los AR α_1 se han descrito algunos como: prazosina, WB-4101, fenoxibenzamina, benoxatán y benetramina. Los agonistas α_2 tienen alta afinidad a la clonidina, para-aminoclonidina, UK 14304, BT933 y BHT920 (Tabla 1). Finalmente los antagonistas de los receptores α_2 descritos son: rauwolsina, yohimbina, idazoxán y RX821002 (Ruffolo, 1990).

Por otra parte, se han detectado subtipos de los sitios de unión de los receptores α_1 , los de alta afinidad y los de baja afinidad, en diferentes tejidos y se sugiere que son los subtipos de receptor α_{1a} y α_{1b} , respectivamente (Lomasney, 1991). Recientemente se ha propuesto cuatro subtipos de AR α_2 en base a la afinidad a diferentes ligandos (Ruffolo, 1990; Lomasney, 1991).

Estudios de "unión" *in vitro* han identificado a los AR en el SNC, tanto en humanos como en roedores (Cash, 1986). Los receptores α_1 y los α_2 se han detectado en diferentes regiones del SNC tales como: el hipocampo, la corteza frontal, la corteza temporo-parietal, los ganglios basales (núcleo caudado, putamen y globus pallidus), el diencéfalo, el mesencéfalo y el cerebelo en el cerebro de rata (Biegon, 1992; Bylund y U'Prichard, 1983; Jones y Gauger, 1984; Jones, Miller, Gauger y Davis, 1985; Ortega, 1987), en el cerebro de becerros (U'Prichard, Greenberg, Sheehan y Snyder, 1977), en los

primates y los humanos (Bylund y U'Prichard, 1983; Cash, Raisman, Lanfumey, Ploska y Agid, 1986; Cash Ruberg y Raisman, 1984; Palacios, Hoyer y Cortés, 1987; Wamsley, 1984). Así, los sitios de unión de estos receptores se encuentran en regiones involucradas en la regulación e integración somatosensorial (Foote, Bloom y Aston-Jones, 1983), conductas de evitación condicionada (Robson, Antonaccio, Saelens y Liebman 1978), autoestimulación (Franklin y Herberg, 1977), etc. Además algunas drogas que actúan sobre estos receptores modifican tanto el aprendizaje como la memoria (Quartermain, 1983; McGaugh, 1989).

TABLA 1
CLASIFICACION DE LOS AR α Y SU AFINIDAD POR AGONISTAS Y
ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES α_1 O α_2 *

RECEPTOR	AGONISTAS	ANTAGONISTAS
α_1	Fenilefrina Metoxamina 6-Fluornorepinefrina	Prasozina WB-4101 Fenoxibenzamina Benoxatian Benextramina
α_2	Clonidina p-aminoclonidina UK 14304 B-HT933 B-HT920	Rauwolscina Yohimbina Idazoxan Efaroxan RX 821002 Atipamazole

* (Ruffolo, 1990; Biegon, 1992)

REGULACION DE LOS RECEPTORES ADRENERGICOS

La regulación fisiológica y farmacológica de la densidad de los AR es comunmente medida por medio de agonistas o antagonistas marcados que nos permiten determinar el valor de la unión máxima a los mismos AR (Bylund, 1987; Bylund y U'Prichard, 1983). Cambios de los receptores al parecer estan implicados en los procesos de supersensibilidad y subsensibilidad en respuesta a sus neurotransmisores (Bylund y U'Prichard, 1983). Es el caso, que estos receptores se encuentran inversamente relacionados con la concentración efectiva de NA (Bylund y U'Prichard, 1983). Por otro lado, la regulación "hacia arriba" del número de receptores esta frecuentemente asociado con la supersensibilidad (Bylund y U'Prichard, 1983), ello es el resultado del decremento en los niveles de NA o del bloqueo crónico del receptor por antagonistas adecuados. También se da el caso de un incremento de la densidad del receptor α_1 , después de una denervación (Sutin y Minneman, 1985). Igualmente observamos incremento de los α_1 después del tratamiento con 6-hidroxidopamina (6OHDA). En suma, el incremento en la densidad de estos receptores es debido a la baja concentración de NA en la sinápsis, inducido por esta neurotoxina. También se da el caso de que con tratamientos crónicos de sustancias antagonistas de los receptores α_1 noradrenérgicos aumenta la densidad de los mismos (Swann, 1981).

Contrariamente, el proceso de regulacion "hacia abajo" en el número de receptores esta asociado con una subsensibilidad de los

receptores y ambos están relacionados con un incremento en la concentración de NA, o con la administración crónica de agonistas de la NA (Bylund y U'Prichard, 1983). Sin embargo, cambios opuestos suceden con la densidad de los receptores presinápticos y los procesos de síntesis de esos receptores, ya que en este caso la NA funciona como antagonista.

La densidad de los receptores α_1 sufre cambios en el curso de la vida, como en el caso de roedores que durante las primeras tres semanas después de nacidos el número de receptores gradualmente se incrementa hasta un nivel máximo y después disminuye hasta el nivel característico del adulto (Bylund y U'Prichard, 1983; Hartley Seeman, 1983).

Se ha observado un decremento de los receptores α_1 en el cerebro de animales viejos (Greenberg y Wiess, 1984). También la densidad de los receptores α_1 parece estar sujeta a variaciones estacionales y ciclos circádicos (Insel y Harvey, 1988; Kafka y col. 1981). Los cambios hormonales también modifican a este receptore por ejemplo en el caso de un hipertiroidismo hay un decremento en la densidad de este receptor (Gross, 1981). Las denervaciones producidas por las lesiones electrolíticas o por sustancias químicas como con la 6-OHDA o la reserpina, pueden producir un incremento en la densidad de los receptores α_1 (Bylund y U'Prichard, 1983). Se ha observado que el tratamiento con sustancias antagonistas incrementa los receptores α_1 a nivel del SNC (Insel y Harvey, 1988; Swann, 1981).

Existe poca información concerniente a los cambios centrales

de los receptores α_1 , en condiciones patológicas; un incremento de estos se ha observado en hipotálamo y en tallo cerebral en ratas hipertensas (Huchet y col., 1983; Gheyouché y col., 1980) y en la corteza prefrontal de pacientes que sufren la enfermedad de Parkinson (Cash, 1984 y 1986).

Los receptores α_2 noradrenérgicos han sido implicados en la autoregulación de la transmisión de NA (Langer, 1974) y algunos agonistas inducen depresión conductual (Drew, Gower y Marriot, 1979).

Por otro lado, estudios recientes indican que con la edad se presenta un patrón de comportamiento bifásico en la expresión de los receptores α_2 en el cerebro. Se tiene un decremento en animales de 7 a 14 días, pero hay un incremento en animales de 45 a 60 días de edad (Dausse, 1982). Los procesos normales de la edad parecen estar relacionados con los cambios de algunas funciones del SNC, incluyendo la expresión de los receptores α_1 y α_2 (Roberts y Steinberg, 1986). Poco se sabe de los cambios de los receptores α_2 por la edad. Greenberg en 1986, presentó evidencias que demuestran que la densidad y síntesis de los receptores α_2 disminuye en cerebros de rata viejas, lo mismo que sucede con los α_1 y los β -AR. También se ha observado cambio en los AR en desórdenes afectivos y en males de tipo psiquiátrico (Elliot, 1984; Insel y Cohen, 1987) etc.

PARTICIPACION NORADRENERGICA EN EL APRENDIZAJE.

En el aprendizaje de los mamíferos existen claras evidencias de la participación de diferentes sistemas de neurotransmisión y neuromodulación: tales como el sistema colinérgico (Deutsch, 1983), el catecolaminérgico (Quartermain, 1983), el glutamatérgico (Smith, 1987), y las neurohormonas pituitarias (Dunn, 1980). Además, existen evidencias de una interrelación entre distintos sistemas de transmisión y sus efectos sobre diferentes paradigmas (Decker y McGaugh, 1991). El interés específico de que los receptores de las CA participen en el proceso de aprendizaje es un objetivo por alcanzar.

En general, los estudios que se han realizado sobre el aprendizaje son en el sentido de producir un efecto en la actividad noradrenérgica ya sea aumentando o reduciendo su actividad. Existen estudios que han demostrado que el aprendizaje y la memoria se ven afectados por tratamientos que afectan a las CA (Gorelick, 1975; McGaugh, 1989; Quartermain, 1983; Sara, 1991).

Drogas que aumentan la actividad de la NA.

El incremento de la actividad de la NA y en general de las CA, se produce por el efecto de los siguientes tipos de drogas:

- a.- Drogas que estimulan la liberación de CA.
- b.- Drogas que bloquean la recaptura de CA.
- c.- Drogas que bloquean la inactivación de CA.
- d.- Drogas que estimulan el receptor postsináptico.

a.- La anfetamina es una sustancia que se ha utilizado en numerosos estudios de la memoria y aprendizaje liberando CA.

El aprendizaje y la retención se incrementan por la administración de drogas como la anfetamina (McGaugh, 1973). Los efectos farmacológicos de la anfetamina en el SNC, parecen ser ejercidos por la liberación de aminas biógenas de sus sitios de almacenamiento en las terminales nerviosas (Hoffman y Lefkowitz, 1991). También se ha visto que esta sustancia produce una interrupción en la adquisición de la respuesta de evitación pasiva (Mason, 1984). En los programas de evitación activa, las anfetaminas parecen facilitar el aprendizaje tanto en la adquisición de esta tarea como en la latencia de retención (Mason, 1984; Sara, 1982). La administración pre y postensayo de anfetamina, también aumenta la prueba de retención (Castellano, 1974). La administración periférica de d-anfetamina a bajas dosis, es bien conocido que libera NA en el cerebro (Boakes y Candy, 1972; Creese y Iversen, 1975).

La administración de esta sustancia inmediatamente después de un entrenamiento se ha observado que previene la amnesia inducida por inhibidores de la síntesis de proteína (Serota y Flexner, 1972; Quartermain, 1975).

b.- Los agentes que bloquean la recaptura potencian los efectos de las CA. Como es el caso de la administración de desimipramina, una sustancia que bloquea la recaptura de NA y administrada después del entrenamiento de evitación discriminativa

de un choque mejora la prueba de retención (Flood, 1979).

c.- La actividad de las CA puede ser potenciada por la inhibición de la acción de la COMT y la MAO, que son enzimas metabólicas de las CA. Los agentes ampliamente usados como inhibidores de la MAO son feniprazina, pargilina e iproniazida, y aumentan los niveles intraneurales de la NA. Se ha encontrado que la feniprazina mejora la prueba de retención en un aprendizaje de hábito (Flood, 1979).

d.- Hay evidencia de que la retención es afectada por la administración central de diferentes agonistas y antagonistas de las CA. Se observó que en el aprendizaje de evitación pasiva, la retención fue mejor cuando a bajas dosis se administró NA intracerebroventricularmente (i.c.v.) después del entrenamiento en ratón (Haycock, 1977). También hay evidencias de que la administración de antagonistas α_2 noradrenérgicos producen incremento en determinadas tareas (Sanger, 1989; Sara, 1991).

Drogas que decrementan la actividad de la NA

- a.- Bloqueadores de la síntesis de CA
- b.- Bloqueadores del almacenamiento de NA
- c.- Disminución crónica de CA por la administración de neurotoxinas.
- d.- Bloqueadores de los receptores de la NA.

a.- La inhibición de las enzimas biosintéticas de las CA como la tirosina hidroxilasa (TH) y la dopamina- β -hidroxilasa (DBH), pueden producir marcada obstrucción del sistema neuronal catecolaminérgico. La inhibición de estas enzimas cambia la concentración de NA y DA y trae como consecuencia un decremento en la nueva síntesis de CA y una subsecuente disminución de la NA y DA almacenadas en los diferentes tejidos. La TH la cuál cataliza el paso de tirosina a dopa, puede ser inhibida por la α -metil-p-tirosina (AMPT). La DBH la cuál cataliza la conversión de DOPA a NA en las terminales nerviosas puede ser inhibida por una variedad de drogas como el dietildítiocarbamato (DEDTC). Quartermain, 1983; Mason, 1984).

Se han realizado estudios en donde el bloqueo de la síntesis de CA daña o interrumpe las pruebas de retención en ratón. Por ejemplo el AMPT administrado antes del entrenamiento en un programa de discriminación espacial produce amnesia (Quartermain y Botwinick, 1975a), y mas específicamente en el cerebro después del entrenamiento (Flood, 1979).

Sucede una situación similar cuando se inhibe la DBH con el DEDTC ya que inducen una alteración en el programa de evitación pasiva cuando es administrado postentrenamiento (Haycok, Van Buskirk y McGaugh, 1978)

b.- También la actividad noradrenérgica se reduce cuando se bloquea el almacenamiento de NA, como es el caso si se administra reserpina, una droga que disminuye la cantidad de NA almacenada. Se ha encontrado que esta droga produce una disminución en la capacidad de retención de un aprendizaje discriminativo (Kurt y Palfai, 1978).

c.- Por otra parte se ha reportado que lesiones de las neuronas del núcleo del *Locus coeruleus* y de la porción lateral tegmental de la formación reticular producidas por neurotoxinas impiden la adquisición de un aprendizaje (Ogren, 1980), mientras que en otros estudios no reportan efecto alguno (Fibiger, 1975). Otros estudios demuestran que por medio de la aplicación de 6-OHDA, una sustancia que lesiona las neuronas noradrenérgicas y disminuye las concentraciones de NA y DA, se deteriora la adquisición de un aprendizaje de evitación activa (Lenard y Beer, 1975a), la adquisición de un respuesta emocional (Cole y Trevor, 1987), y lesiones con este neurotóxico específico deterioran el aprendizaje en un laberinto (Laconte y Hennevin, 1981), etc.

Con la neurotoxina N-2-cloroetil-n-etil-2-bromobencilamina (DSP4), se altera el aprendizaje de evitación activa con una mayor

intensidad que con la 6OHDA (Orgren, 1980; Archer, 1985).

Las lesiones de tipo electrolítico de las vías o núcleos de DA en el sistema nigroestriado, causan amnesia del aprendizaje de evitación pasiva (Mitchaman, 1972; Prado-Alcalá, 1975).

d.- Si los niveles normales del flujo de la transmisión en la ruta noradrenérgica son necesarios para el procesamiento de la memoria y el aprendizaje, el bloqueo de los receptores postsinápticos con fármacos antagonistas deberá producir una deficiencia de las conductas que de ellos se derivan. La administración central de antagonistas de NA como la fenoxibenzamina, un leve antagonista de los receptores α_1 , atenúa la amnesia retrograda producida por un choque electroconvulsivo en un aprendizaje de evitación pasiva (Gold y Zornetzer, 1981).

Sin embargo también se ha encontrado una disminución de la amnesia retrógrada cuando se administró periféricamente fenoxibenzamina (Gold y Sternberg, 1978). Se ha encontrado que antagonistas α -noradrenérgicos modifican el aprendizaje del desarrollo de la actividad visual (Ridley, 1981).

APRENDIZAJE.

Sabemos que para que un animal sobreviva necesita conocer las relaciones predictivas existentes entre los hechos o estímulos que ocurren a su alrededor. Este conocimiento puede proceder de dos fuentes distintas, es decir: Por un lado, la información genéticamente programada en el SNC del animal, y por el otro el aprendizaje (Dickinson, 1980). El primero es suficiente en un ambiente limitado y relativamenmte invariable pero el aprendizaje entra en juego cuando el animal enfrenta situaciones nuevas y complejas, y para que un animal se comporte de una forma adaptativa ha de ser capaz de detectar y almacenar información acerca de la organización causal de su entorno.

Cambios duraderos en la conducta como consecuencia de experiencias previas pueden ser caracterizados como el resultado del aprendizaje y de la memoria. El aprendizaje se refiere a la adquisición de información medidos estos en forma indirecta como cambios en la conducta durante el curso de un entrenamiento (Thompson y Donegan, 1989) y la memoria se refiere a esa información almacenada y valorada por alguna prueba de retención (Thompson y Donegan, 1989).

En general consideramos dos tipos de aprendizaje, asociativo y no asociativo:

El aprendizaje **no asociativo**: resulta de cuando un animal es expuesto una o repetidas veces a un mismo tipo de estímulo.

Este procedimiento da oportunidad al animal de aprender acerca

de las propiedades del estímulo. Existen dos formas de este tipo de aprendizaje, habituación y la sensibilización. La habituación es el decremento de una respuesta conductual a repetidos estímulos no nocivos (Kupferman, 1991) y las características comunes a ella son; recuperación rápida de la respuesta después del reposo, habituación más rápida con estímulos similares al estímulo cuando se repite, deshabituación es decir, la recuperación de una respuesta normal ante la presentación de otro estímulo (Thompson y Donegan, 1989). La sensibilización es el incremento de una respuesta ante una variedad de estímulos semejantes, después de un estímulo intenso que resulta desagradable ó nocivo, es decir se fortalecen los reflejos defensivos y las respuestas vigorosas a una variedad de estímulos antes neutros o indiferentes (Kandel y Scharwartz, 1982).

El Aprendizaje Asociativo: Se ha postulado que este es el único tipo de aprendizaje verdadero. La característica fundamental de este es que ocurre un cambio en el comportamiento del sujeto, solo si dos eventos (un estímulo condicionado o una respuesta y un reforzador o estímulo incondicionado) ocurren en una secuencia temporal específica (Mackintosh, 1974). Dos tipos de paradigmas experimentales han sido frecuentemente estudiados, ellos son: el condicionamiento clásico y el operante.

El condicionamiento clásico fue introducido a las ciencias conductuales por I. Pavlov a principios de siglo. El reconoció que el aprendizaje frecuentemente consiste en la adquisición de sensibilidad a estímulos que originalmente eran inefectivos. Su esencia radica en la asociación de dos estímulos, el estímulo

condicionado (EC), tal como una luz o un tono, que inicialmente no produce respuesta alguna y el estímulo incondicionado (EI) algunas veces llamado reforzador, tal como alimento, o un choque en la pierna, que siempre va a producir la misma respuesta, la respuesta incondicionada (RIC), tal como la salivación o la retirada de la pierna. La razón de llamar así a esta respuesta es debido a que es innata. Después de que el EC ha sido repetido frecuentemente y es seguido del estímulo incondicionado. El EC evocará respuestas llamadas "respuestas condicionadas" (RC). En el caso de que el EI sea una recompensa (agua o comida), o bien un castigo, el condicionamiento clásico se llamará apetitivo y aversivo respectivamente (Kupferman,1981).

El condicionamiento operante fue estudiado sistemáticamente por Skinner y otros investigadores, y es consecuencia de la formación de una relación predictiva entre el estímulo y la respuesta, como en el condicionamiento clásico, pero en el primer caso el estímulo condicionado involucra conductas llamadas operantes, que aparentemente aparecen espontáneamente o sin un estímulo reconocible. Sin embargo la conducta operante se dice ser emitida y no provocada y cuando esas conductas producen cambios favorables en el medio ambiente el animal se inclina por repetir las (Kupferman, 1981).

Muchos tipo de tareas y procedimientos de entrenamiento son usados en el estudio del aprendizaje y la memoria. Algunos paradigmas requieren de diferentes tipos de conductas: apetitivas (alimento y agua), aversivas (choque eléctrico, inmersión en

agua) de motivación y como consecuencia de ello se obtienen diferentes tipos de respuestas en tareas discriminatorias, laberintos y de evitación pasiva o activa (tabla 2).

Tabla 2

Descripción de algunas de las tareas usadas para evaluar el aprendizaje y memoria en animales de experimentación.*

Tipo de Aprendizaje	Condiciones para que la tarea se ejecute.
Evitación Activa	Los animales aprenden a evitar un estímulo nocivo. Como un choque eléctrico en la subsecuentes respuestas motoras, como el de moverse al compartimiento más seguro al presionar una palanca.
Evitación Pasiva	Los animales aprenden a evitar o inhibir, con altas posibilidades la conducta que esta emparentada con el estímulo nocivo.
Aprendizaje Espacial (Laberinto radial)	Un laberinto con varios brazos que se extienden de una plataforma central y que tiene como carnada alimento al final de los brazos pero sin regresar al brazo que previamente entraron.
Laberinto de Morris	El laberinto en una tina con agua, en la cual hay una plataforma invisible de escape, localizada justo abajo del nivel de agua. Esta tiene un posición constante durante los ensayos. El animal aprende a que nadando puede llegar a esta plataforma, orientandose por las señales ambientales.

<p>Modelo de equivalencia a la muestra</p>	<p>Esta tarea típicamente involucra, una fase de estudio, en la cual un estímulo es presentado, por un período discreto de tiempo y una subsecuente fase de prueba en la cual el estímulo es presentado paralelamente con otro estímulo. Durante la fase de prueba el animal es recompensado por la respuesta al estímulo que ha sido presentado previamente en la fase de estudio.</p>
<p>Modelo de no equivalencia a la muestra</p>	<p>Esta tarea es similar a la prueba anterior, pero el animal es reforzado para responder al nuevo estímulo.</p>

* Decker y McGaugh, 1991

Podemos considerar algunas situaciones relevantes acerca del sistema noradrenérgico: que este sistema participa en diferentes procesos cognocitivos (Ahlskog, 1973; Mason y Iversen, 1979; McGaugh, 1989; Quartermain, 1983; Sara, 1991), además de que este sistema se altera por efecto de la edad (Estes y Simpkins, 1980), por lesiones con sustancias neurotóxicas (Lenard y Beer, 1975a) y por determinadas patologías como en el mal del Parkinson (Cash, 1986) o la enfermedad de Alzheimer (Tomilson, 1981). La administración de agonistas o antagonistas α -noradrenérgicos modifican procesos tales como el aprendizaje o la memoria (Cole y Trevor, 1987; Dickinson, 1989; Mason 1984; Quartermain, 1983; Sara y Devauges, 1989; McGaugh, 1989).

Por otra parte, se ha reportado que la población de receptores α_1 y α_2 cambian su densidad: en áreas del SNC como en el hipocampo, la corteza frontal, el núcleo caudado y la amígdala como consecuencia de patologías como la enfermedad de Parkinson o la demencia senil de tipo Alzheimer (Tomilson, 1981; Francis, 1991), por la administración de diferentes drogas agonistas o antagonistas noradrenérgicos (Bylund y U'Prichard, 1983; Giralt y Garcia, 1989; Hamilton, 1987).

En un tipo de aprendizaje instrumental se encontró un incremento en la síntesis proteica, en algunas áreas del cerebro de rata (Aleman, 1982) y probablemente estas proteínas sean canales iónicos o receptores a neurotransmisores involucrados en el proceso de aprendizaje, tal como se ha descrito un incremento en el número de receptores muscarínicos en corteza frontal después de la

adquisición de un aprendizaje de evitación pasiva (Rose, 1980) o en un aprendizaje instrumental (Ortega, 1987).

Considerando como base los datos enunciados, sería posible producir cambios en un aprendizaje diferente al instrumental por medio de la administración de drogas noradrenérgicas. En ese sentido también sería posible producir cambios en la población de los α -adrenoreceptores en diferentes áreas del SNC, por la adquisición de un determinado aprendizaje, por la administración de drogas noradrenérgicas o por una combinación de ambas condiciones. En este contexto nosotros pretendemos demostrar las siguientes puntos:

H I P O T E S I S

- 1.- Proponemos que: drogas agonistas α_1 ó antagonistas α_2 - noradrenérgicas, administrados semicrónicamente, deben de disminuir la población de receptores α_1 y α_2 en diferentes áreas del cerebro de rata, y facilitar la adquisición del aprendizaje espacial.
- 2.- Drogas antagonistas α_1 y agonistas α_2 -noradrenérgicas administrados semicrónicamente deben de aumentar la población de receptores α_1 y α_2 en diferentes áreas del cerebro y de inducir in déficit en la adquisición del aprendizaje espacial.
- 3.- Teóricamente el aprendizaje espacial debe de disminuir la población de receptores α_1 y aumentar la de los α_2 en diferentes áreas del cerebro.

O B J E T I V O S

- 1.- a.- Determinar si la administración semicrónica y aguda de sustancias noradrenérgicas agonistas α_1 y antagonistas α_2 , afectan tanto el aprendizaje espacial optimizado en laberinto radial, como el aprendizaje espacial limitado en su velocidad de adquisición.
b.- Además pretendemos determinar si la administración semicrónica de antagonistas α_1 y agonistas α_2 afectan el aprendizaje espacial optimizado en su velocidad de adquisición.
- 2.- Determinar los cambios sobre la densidad de los receptores noradrenérgicos α_1 y α_2 , producidos por la administración semicrónica de sustancias agonistas o antagonistas noradrenérgicos en diferentes áreas del cerebro de rata.
- 3.- Determinar los cambios que produce el aprendizaje espacial sobre la población de receptores α_1 y α_2 , en diferentes áreas del cerebro de rata.
- 4.- Determinar si existe una correlación entre: Los efectos producidos por las drogas, sobre el aprendizaje y los cambios de la población de receptores noradrenérgicos producidos tanto por sustancias noradrenérgicas como por el propio aprendizaje, en las diferentes áreas del cerebro.

M A T E R I A L Y M E T O D O S.

Sujetos.- Se emplearon 7 lotes de ratas, los primeros cinco lotes de 28 ratas cada uno, los siguientes dos lotes de 42 y 28 ratas, respectivamente. Todas las ratas fueron machos de la cepa Wistar-Porton de 90 días de nacidos procedentes del Bioterio del CINVESTAV IPN. Los sujetos se mantuvieron en cajas individuales y cada uno de ellos se le controló su peso al 85%, durante el tiempo que duró el experimento. A todos los animales se les mantuvo el ciclo luz oscuridad de 12 x 12 hrs/día.

Drogas.- Las drogas que se emplearon fueron para: el lote 1 anfetamina, que es un agonista indirecto α_1 -noradrenérgico; lote 2 prazosina (1-4-Amino-6,6 dimetoxi-2-Quinazolinil 4-2-furanilcarbonil, piperazina) que es un antagonista de los receptores α_1 (Sigma); el lote 3 p-aminoclonidina (RBI) que es un agonista de los receptores α_2 ; el lote 4 idazoxan que es un antagonista de los receptores α_2 (Sigma); y el lote 5 atipamazole, un nuevo antagonistas α_2 . Las dosis que se aplicaron fueron: prazosina 1.0 mg/kg, idazoxan 6 mg/kg (Sanger, 1989), p-aminoclonidina 0.12 mg /kg (Giralt,1989; Arnsten, 1985) y anfetamina 1.5 mg /kg (Quatermain,1983). y el atipamazole 2,5 mg/kg. Para el lote 6 ocupamos anfetamina 1.25 mg/kg, idazoxan 4 mg/Kg y atipamazole 5 mg/kg y el lote 7 idazoxan 6 mg/kg y atipamazole 2.5 mg/kg. Cada fármaco fue diluido en solución salina isotónica (SSI).

Aparatos: El proceso de aprendizaje se realizó en un laberinto radial con ocho brazos, con características similares al reportado por Olton (1976), pero más discriminativo, ya que solo en tres brazos hubo alimento. Todos los brazos tienen las mismas dimensiones. El centro de la plataforma mide 30 cm de diámetro, cada brazo mide 60 cm de largo por 11 cm de ancho y 5 cm de altura al final de cada brazo pero de 15 cm de altura al inicio. Al final de cada brazo se encuentra un comedero de 2 cm de diámetro. El laberinto se encuentra a 50 cm del piso.

Grupos de Experimentación.- Cada uno de los primeros cinco lotes de experimentación se dividió en 4 grupos de 7 animales cada uno. A dos grupos de cada uno de estos lotes se les administró una droga diferente.

GRUPO A: A este grupo se le administro únicamente SSI y no se le sometió al aprendizaje espacial pero si al laberinto.

GRUPO B: A este grupo se les administró SSI y se le sometió a un proceso de aprendizaje espacial en el laberinto radial, ésto se especifica ampliamente en el procedimiento de aprendizaje.

GRUPO C: A este grupo de animales se les administró el fármaco cada 12 hs, durante 10 días por vía intraperitoneal (IP), pero no se le sometió a ningún aprendizaje.

GRUPO D: A estos animales se les administró el fármaco cada 12 hrs, durante 10 días por vía I.P. y 24 hs. después de la última administración se le sometió al proceso de aprendizaje espacial (Tabla 3).

PROCEDIMIENTO

ADAPTACION.

En el caso de las administraciones semicrónicas al décimo día de administración de la droga, y para el caso de las administraciones agudas un día previ6 al aprendizaje, se coloc6 libremente a cada animal en el centro del laberinto durante 15 minutos, 6sto con el fin de que los animales se adapten al mismo, lo que se repiti6 dos veces m6s en forma sucesiva el mismo d6a, esto para cada animal, registrando cada vez el n6mero total de visitas a cada uno de los brazos.

PROGRAMA DE APRENDIZAJE OPTIMIZADO.

Al siguiente d6a de la adaptaci6n se inici6 el proceso de adquisici6n del aprendizaje, que consiste en aprender en forma eficiente en que brazos del laberinto se encuentra el alimento (brazos 2, 5 y 6) y comerlo. Cada animal realiz6 un total de 28 ensayos, divididos en dos d6as, 14 por d6a. Comenzando con cuatro ensayos de ocho oportunidades cada uno, cuatro de siete oportunidades, cuatro de seis y dos de cinco. El segundo d6a, cada animal realiz6 dos ensayos de cinco oportunidades, cuatro de cuatro y ocho de tres oportunidades.

Consideramos como una oportunidad a la entrada del animal a cualquier brazo. Los p6rametros que se midieron fueron:

Aciertos: entrada del animal a un brazo donde hay alimento y lo come.

Error: entrada del animal a cualquier brazo sin alimento.

Error Relativo: entrada del animal a los brazos donde anteriormente entró y se comió el alimento (brazos 2, 5 y 6).

TABLA 3

SECUENCIA DE ADMINISTRACION Y APRENDIZAJE OPTIMIZADO

SUBGRUPO	(SSI)	APRENDIZAJE _o	DROGA* (mg/kg)	DROGA MAS APRENDIZAJE
A	+			
B	+	+		
C			+	
D				+

- * Aprendizaje Optimizado en la Velocidad de Adquisición, para los grupos B y D, de los lotes 1 al 5.
- * Esta secuencia se siguió para cada uno de los lotes, con la correspondiente droga a analizar. anfetamina 1.5 mg/kg, prazosina 1.0 mg/kg, p-aminoclonidina 0.12 mg/kg y atipamazole 2.5 mg/Kg.

APRENDIZAJE LIMITADO EN SU VELOCIDAD DE ADQUISICION

Debido a que en el aprendizaje optimizado no encontramos diferencias significativas en el porcentaje de aciertos en las ratas tratadas con la administración de anfetamina, atipamazole e idazaxan, con respecto a sus respectivos controles. Decidimos por ello modificar el aprendizaje haciendolo más limitado en su velocidad de adquisición. Esto último se logró reduciendo o bien el número de oportunidades por ensayo, o bien el tiempo máximo de su estancia en el laberinto. Bajo estas condiciones probamos las drogas antes mencionadas con dosis tanto agudas como semicrónicas.

Dosis Aguda

Grupos de Experimentación.- Se utilizó el lote No. 6 de 42 ratas, las que se mantuvieron bajo las mismas condiciones experimentales que los lotes anteriores. Estos animales fueron divididos en tres grupos de 14 animales cada uno. Cada grupo se dividió en dos subgrupos A y B, de 7 animales cada uno. A los subgrupos B de cada uno de estos tres grupos se les administró una droga diferente: en esta ocasión fueron, anfetamina 1,25 mg/kg, idazoxan 4 mg/kg y atipamazole 5 mg/kg.

Subgrupo A.- A éste grupo se le suministró SSI y se le sometió a este tipo de aprendizaje limitado en su velocidad de adquisición.

Subgrupo B.- A éste subgrupo de animales se les administró el fármaco por vía IP, 30 minutos antes de iniciar el entrenamiento una vez al día durante los dos días que duró el aprendizaje.

Aprendizaje Limitado en la Velocidad de Adquisición.- El aprendizaje limitado consiste en reducir la velocidad de adquisición, se logró reduciendo el número de oportunidades por ensayo o el tiempo máximo de estancia en el laberinto que fue de 160 segundos. Con cada animal de los diferentes subgrupos, el primer día del aprendizaje se siguió la siguiente secuencia de entrenamiento: 3 ensayos de 8 oportunidades, luego 5 ensayos de/5 oportunidades y 4 de/4. El segundo día se le dieron a cada animal 4 ensayos de 4 oportunidades y 8 de/3. Se midieron los mismos parámetros conductuales que en el aprendizaje optimizado.

Dosis Semicrónica

Grupos de Experimentación.- En este caso se utilizó el lote No. 7. Estos animales fueron divididos en dos grupos de 14 animales cada uno. Cada grupo se dividió en dos subgrupos A y B ambos de 7 animales cada uno. A los subgrupos A se les administró SSI y al subgrupo B de cada uno de estos dos grupos se les administró una droga diferente, en ambos casos la administración fue cada 12 hrs durante 10 días. Las drogas que en esta ocasión utilizamos fueron: idazoxan 6 mg/kg y atipamazole 2.5 mg/kg.

Subgrupo A.- A éste grupo se le suministró únicamente SSI y se le sometió a este tipo de aprendizaje limitado en su velocidad de adquisición.

Subgrupo B.- A éste subgrupo de animales se les administró el fármaco por vía IP, cada 12 hrs. durante 10 días.

SACRIFICIO Y DISECCION

Después de la última sesión de aprendizaje optimizado se sacrificaron a todos los animales por decapitación y las cabezas se sumergieron 4 segundos en nitrógeno líquido. Se extrajeron los cerebros y se colocaron en SSI fría. Los cerebros fueron disecados en una caja petri con papel absorbente y SSI fría en un cuarto frío a 4°C.

Las áreas que se disecaron fueron: núcleo caudado (NC), corteza frontal (CF), hipocampo (Hp) y corteza tempoparietal (CTP). Los cerebros fueron seccionados con un corte coronal a nivel de la comisura anterior del cerebro.

La cabeza del NC fue disecada después de remover el septum, luego se obtuvo la corteza frontal. Después de quitar el diencéfalo del cerebro posterior se disecó el Hp y de la porción restante removiendo la corteza occipital, la amígdala y el tálamo se obtuvo la CTP.

OBTENCION DE LA MUESTRA BIOLOGICA PARA RECEPTORES α_1 .

Las áreas de cada grupo se homogeneizaron en forma individual en solución de sacarosa 0.32 M conteniendo PMSF 0.5mM (fluouro de fenilmetilsulfonilo) en relación 1:20 Peso/Volumen, en un homogenizador de vidrio con pistón de teflón a una velocidad de 700 rpm. La homogeneización se llevó acabo con cinco movimientos completos del mismo pistón, en un cuarto frio a 4°C. El homogenado fue centrifugado a 900 rpm por 10 minutos. El precipitado fue desechado y el sobrenadante se diluyó 1:20 P/V, con una solución amortiguadora Tris HCl. 50 mM pH=7.4 con PMSF 0.5mM. Se centrifugó a 15,000 rpm durante 20 minutos, en una centrifuga Sorvall RC5-C con el rotor SS34 a 4°C. (Whittaker, 1984). Esta pastilla (fracción sinaptosomal), fue resuspendida en el mismo amortiguador y en una relación de 1:20 P/V y se centrifugó en las mismas condiciones. Finalmente la pastilla se resuspendió en el mismo amortiguador 1:20 P/V, y se tomó una alicuota de 100 μ l de cada muestra para la determinación de proteínas totales (Lowry, Rosenbrough, Lewis y Randall, 1951). Las muestras se conservaron en refrigeración (-20°C), hasta su procesamiento.

DETERMINACION DE LOS RECEPTORES NORADRENERGICOS α_1 .

Ligando. El ligando marcado que se ocupó fue, el 7-metoxi-[^3H]-prazosina, su actividad específica fue de 85 Ci/mmol (Amersham International). El ligando frío que se utilizó fue fentolamina 10 μM (Sigma Co.).

Técnica. La unión del ligando marcado a los receptores noradrenérgicos se determinó mediante la técnica de "unión" (Perry y U'Prichard, 1981), que consiste en emplear 600 μg de proteína de cada muestra utilizando la misma cantidad para cada una de las áreas por analizar. A continuación se le adicionó el volumen del amortiguador (Tris HCl 50 mM pH=7.4), hasta completar 1.0 ml, menos el volumen del ligando. Los tubos se preincubaron 30 minutos a 30°C con intervalos de 20 segundos entre cada muestra. Al cumplirse los 30 min. de preincubación al primer tubo se le adicionó el volumen de ligando a una concentración final de 0.4 nM y así sucesivamente. A todos los tubos se les agitó y se incubaron 45 minutos con agitación continua.

Al término de este período de incubación se resuspendió cada una de las muestras e inmediatamente se tomaron 800 μl , los cuales se filtraron bajo una presión de -200 mmHg a través de discos de papel Whatman GF/B de 26 mm de diámetro. Los discos fueron humedecidos previamente con 4 ml del mismo amortiguador, y después de depositar la muestra se lavaron dos veces con 8 ml del mismo amortiguador frío. Los filtros se secaron con corriente de aire

caliente durante 30 minutos y se pasaron a viales precontados, con 8 ml de líquido de centelleo (PPO 3 gr/lt y POPOP 0.3 gr/lt disueltos en tolueno). Posteriormente se cuantificaron por diez minutos en un contador de Centelleo Beckman LS-7800 con una eficiencia para el tritio del 59 %. Para la determinación de la unión inespecífica se ocupó fentolamina que se adicionó a una concentración de 10 μ M antes de la preincubación. Este volúmen se restó al del amortiguador Tris HCl y se siguió el mismo procedimiento antes descrito para la unión total.

OBTENCION DE LA MUESTRA BIOLÓGICA PARA RECEPTORES α_2 .

Las áreas del cerebro por estudiar se homogeneizaron con una solución amortiguadora de fosfatos 50mM a pH=7.5 que contiene 0.5 mM de PMSF a razón de 1:20 P/V, con cinco movimientos del piston en un homogeneizador de émbolo de teflón. Para romper membranas se usó un homogeneizador Polytron en la posición 6 por 30 segundos para cada muestra. Posteriormente se centrifugó a 15 rpm durante 20 minutos en una centrifuga Sorvall. Se desechó el sobrenadante y las membranas se resuspendieron en el mismo amortiguador centrifugandose bajo las mismas condiciones. La pastilla final se resuspendió en 30 volúmenes del amortiguador. Se tomó una alícuota de 100 μ l de la misma muestra para la determinación de proteínas totales (Lowry, 1951).

DETERMINACION DE LOS RECEPTORES NORADRENERGICOS α_2 .

Ligandos. El ligando marcado que se utilizó fue el [3 H]RX781094, con una actividad específica 51 Ci/mmol y [3 H]RX821002 con 57 Ci/mmol. El ligando frío que se ocupó fue la fentolamina 10 μ M.

Técnica. La cantidad de proteína que se ocupó fue siempre de 1.0 mg para cada muestra, a continuación se adicionó el volumen del amortiguador de fosfatos 50 mM pH 7.5, que contenía 0.5 mM de PMSF hasta completar 1 ml, menos el volumen del ligando. La reacción se

inicio añadiendo el ligando en una concentración final de 10 nM. El volumen final de 1 ml fue ajustado con la solución amortiguadora. Las muestras se incubaron 60 minutos a 25°C en baño de agitación continua con un intervalo de 20 segundos entre cada muestra.

Al termino de este período de incubación, la muestra se agitó y se tomaron 800 μ l con los cuales se filtraron bajo una presión de -200 mmHg en discos de papel Whatman GF/B de 26 mm de diámetro previamente tratados con PEI (polietilenimina 0.2 % por dos horas). Se lavaron dos veces con 5 ml de una solución amortiguadora fría a 4°C. Los filtros se secaron con una corriente de aire caliente y se colocaron en viales "precontados" con 8 ml de líquido de centelleo. Se cuantificaron 10 minutos en un Contador de Centelleo Beckman LS7800 con una eficiencia para el tritio de 59%. Para el caso de la unión específica se ocupó fentolamina en una concentración de 10 μ M antes de la incubación y se conservaron las mismas condiciones de la unión total, previamente descritas (Perry y U'Prichard, 1981).

RESULTADOS

El análisis de los resultados del aprendizaje espacial tanto para el aprendizaje optimizado como para el limitado, se realizó graficando en el eje de las ordenadas la respuesta en porcentaje (aciertos, errores y errores relativos) y en las abscisas el número de cada ensayo realizado. La respuesta en porcentaje se obtuvo determinando el porcentaje de un tipo de respuesta para cada animal en cada ensayo. Posteriormente se promedió el porcentaje de respuesta del grupo en cada ensayo. Este mismo procedimiento se realizó tanto para el grupo control como para cada grupo experimental bajo el efecto de las diferentes drogas.

Para conocer si las diferencias que se encontraron en el aprendizaje entre el grupo control y el grupo tratado fueron significativas, se comprobó por medio de el análisis de la prueba *t* student comparando los resultados del porcentaje de aciertos del grupo control y del grupo tratado, considerando como diferencia significativa a los que presentan ($p < 0.05$).

EFFECTO DE DROGAS NORADRENERGICAS EN EL APRENDIZAJE ESPACIAL

Agonistas del receptor α_1 .

La administración semicrónica de anfetamina (1.5 mg/kg) una droga que indirectamente actúa como agonista α , en las condiciones

en este modelo de aprendizaje en relación a su grupo control. Sin embargo cuando se modificaron las condiciones de aprendizaje, haciendo limitante el número de oportunidades para visitar los brazos del laberinto y usando dosis agudas de anfetamina a razón de 1.25 mg/kg se encontró que en estas condiciones la droga aumentó significativamente tanto la velocidad de adquisición como el número máximo de aciertos (gráfica 2).

Antagonistas del receptor α_1 .

La administración semicrónica de prazosina un antagonista de los receptores α_1 a razón de 1 mg/kg retardó significativamente el aprendizaje espacial en el laberinto radial. Con esta droga tanto la velocidad como el número máximo de aciertos fueron significativamente menores (gráfica 3). Así mientras que el grupo control en el ensayo No.28 alcanzó un 95 % de los aciertos en el grupo con droga alcanzó solo un 70% (gráfica 3).

Agonista del receptor α_2 .

Con la administración semicrónica de aminoclonidina, una droga que se considera un agonista α_2 a dosis de 0.12 mg/kg se observó que en particular al inicio de la adquisición del aprendizaje la velocidad de adquisición de las respuestas correctas fue menor con respecto al grupo control, así como el porcentaje máximo de aciertos que fue menor en aproximadamente un 20 % durante gran parte del experimento, pero en el último tercio de este se alcanzaron valores de aciertos por arriba del 90 % (gráfica 4).

Antagonistas del receptor α_2 .

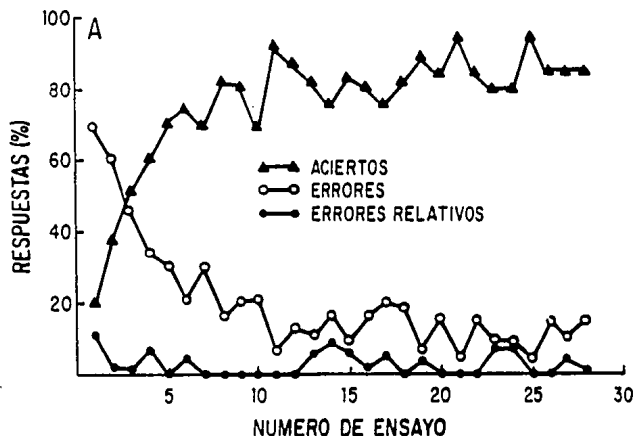
Para el caso de la administración semicrónica de idazoxan, un antagonista α_2 a dosis de 6 mg/kg al parecer no produjo cambios en la adquisición del aprendizaje optimizado ya que no se observaron diferencias significativas entre los aciertos del grupo tratado con esta droga y su grupo control en las condiciones experimentales aquí usadas (gráfica 5).

Sin embargo cuando se modificaron las condiciones de aprendizaje haciendo limitante el número de oportunidades y el tiempo de permanencia para visitar los brazos del laberinto y a dosis agudas de idazoxan de 4 mg/kg se encontró que en estas condiciones la droga aumentó tanto la velocidad de adquisición como el número máximo de aciertos (gráfica 6). Sucedió una situación similar cuando se utilizaron estas nuevas condiciones de aprendizaje limitado y a dosis semicrónicas de idazoxan de 6 mg/kg se encontró un aumento también en la velocidad de adquisición y en el número máximo de aciertos (gráfica 7). Por otra parte cuando administramos el atipamazole un antagonista α_2 a dosis de 2.5 mg/kg no produjo ningún incremento en la adquisición del aprendizaje optimizado por el contrario se observó una tendencia a disminuir (gráfica 8).

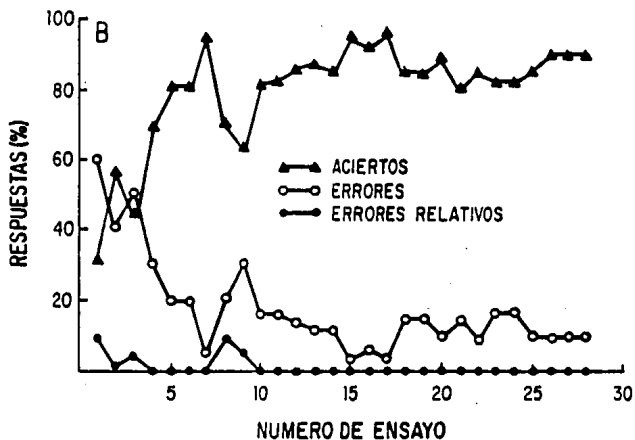
Cuando utilizamos condiciones de aprendizaje limitado disminuyendo el número de oportunidades o el tiempo de permanencia para visitar los brazos y administrando el atipamazole en foma aguda a razón de 5 mg/kg, se encontró que esta droga aumentó tanto

la velocidad de adquisición como su efecto máximo (gráfica 9). Cuando en este mismo aprendizaje limitado administramos nuevamente el atipamazole en forma semicrónica a dosis de 6 mg/kg se encontró que se produjo un aumento de la velocidad de adquisición y del número máximo de aciertos (gráfica 10).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

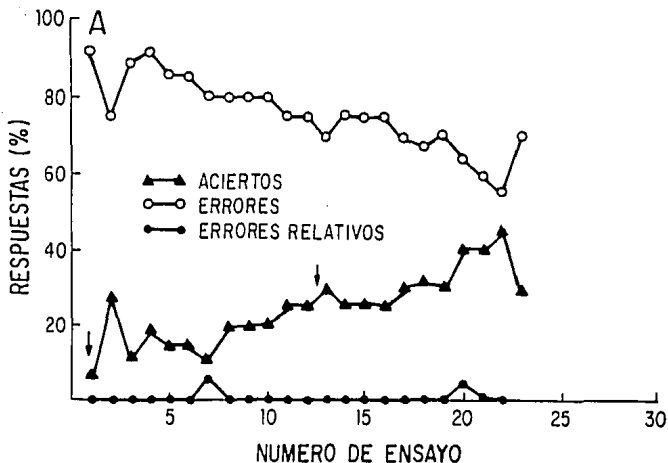


EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ANFETAMINA SOBRE EL APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL

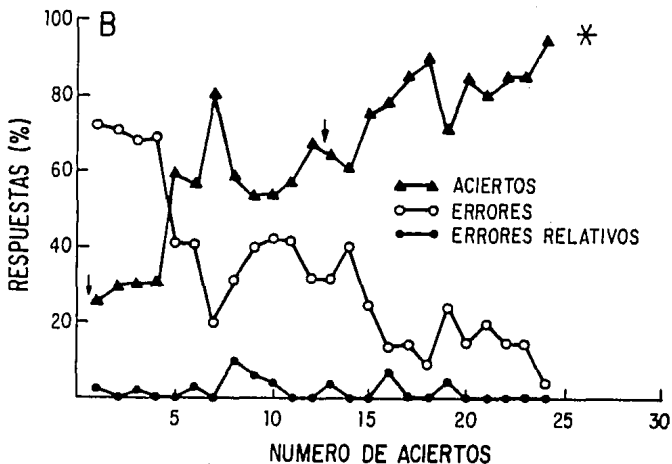


Gráfica 1.- Programa de Aprendizaje Espacial Optimizado (1er día: ensayos/ oportunidad; 4/8, 4/7, 4/6 y 2/5, 2do día 2/5, 4/4 y 8/3). Gráfica A grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 1.5 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días.

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

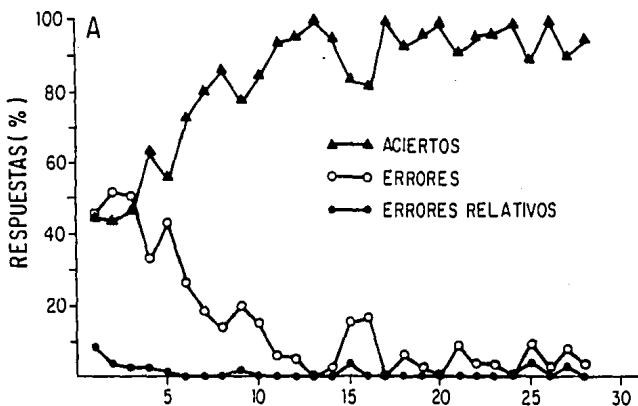


EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ANFETAMINA EN RATAS CON APRENDIZAJE ESPACIAL

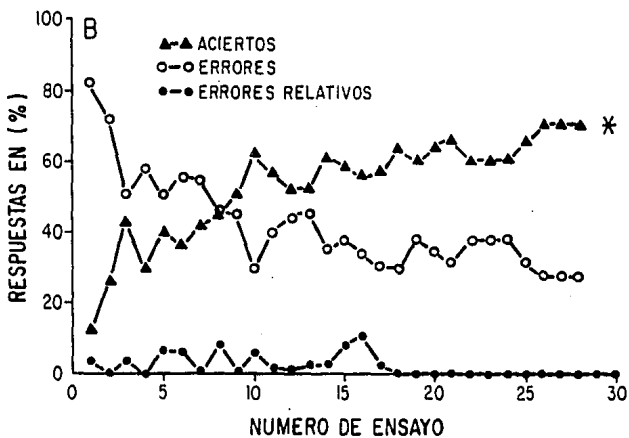


Gráfica 2.-º Programa de Aprendizaje Espacial Limitado en la Velocidad de Adquisición (1 er día ensayos/oportunidades; 3/8, 5/5 y 4/4. 2do día: 4/4 y 8/3). Gráfica A, ↓ grupo control con SSI. Gráfica B, ↓ administración 1.25 mg/kg, 30 minutos antes del 1er ensayo de cada uno de los dos días que duró el aprendizaje. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

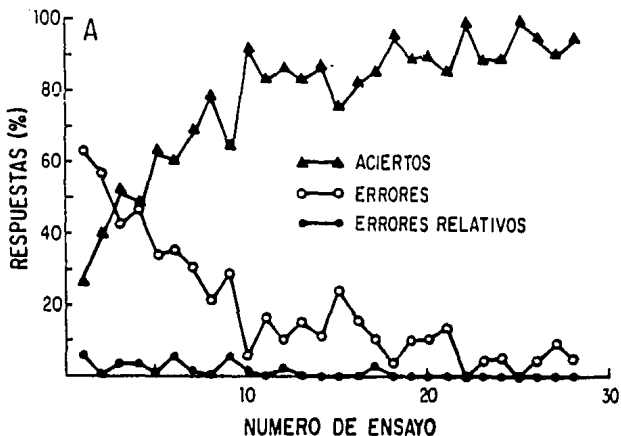


EFECTO DE LA PRAZOSINA SOBRE EL APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL

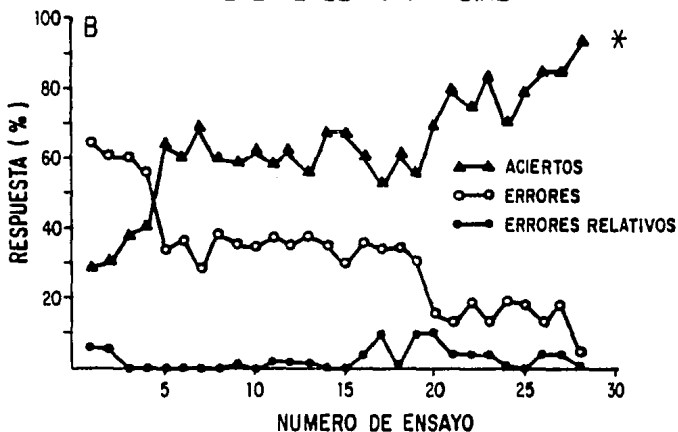


Gráfica 3.- Programa de Aprendizaje Espacial Optimizado. Gráfica A grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 1.0 mg/kg cada 12 hrs durante 10 días. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL
CON RATAS CONTROL

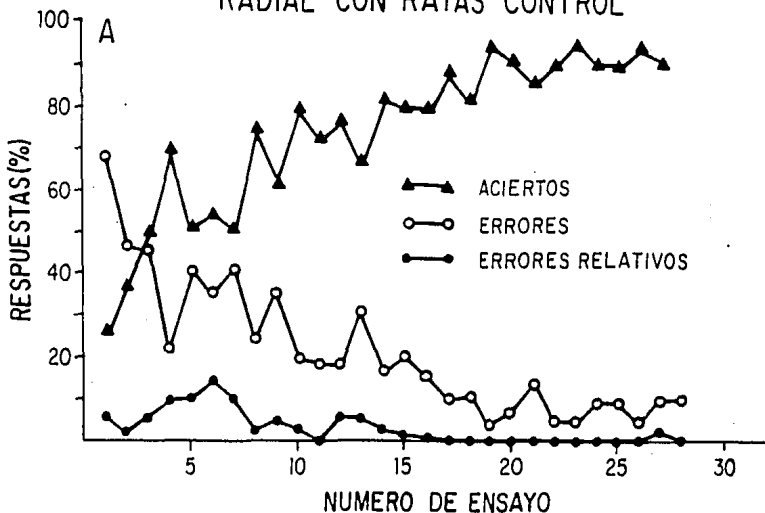


EFFECTO DE AMINOCLONIDINA SOBRE EL APRENDIZAJE
ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL

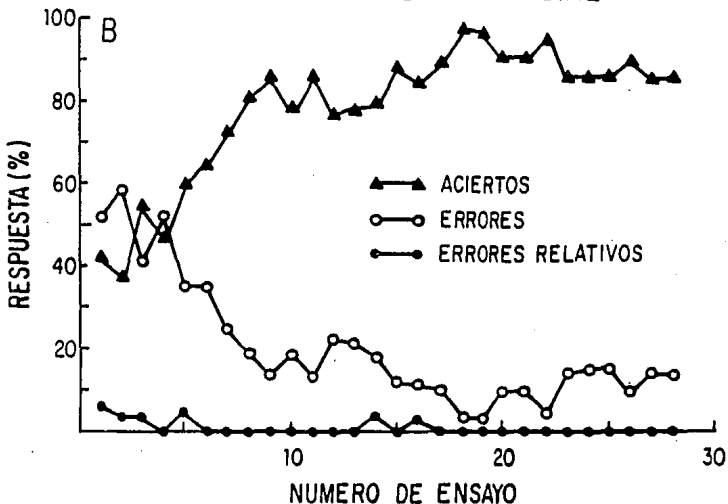


Gráfica 4.- ° Programa de Aprendizaje Espacial Optimizado. Gráfica A grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 0.12 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$)

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

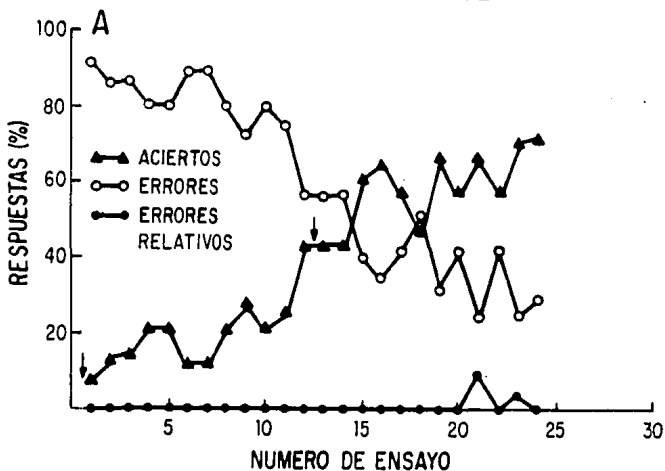


EFECTO DEL IDAZOXAN SOBRE EL APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL

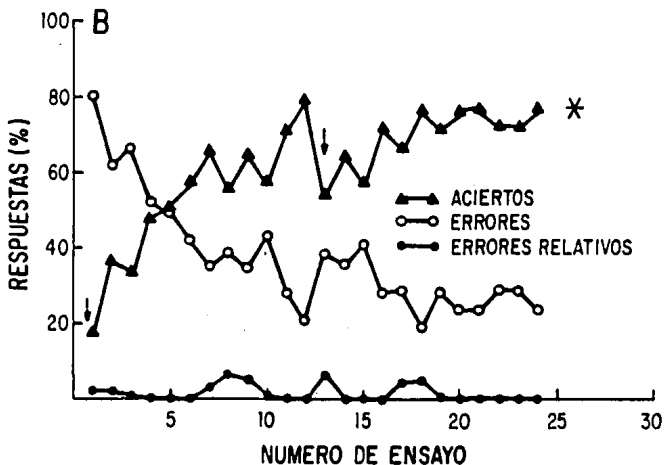


Gráfica 5.- Programa de Aprendizaje Espacial Optimizado. Gráfica A grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 6.0 mg/kg, cada 12 hrs durante, 10 días.

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

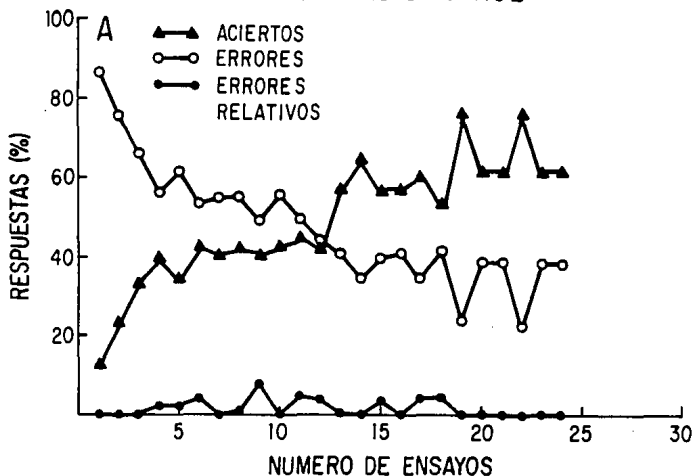


EFECTO DE LA ADMINISTRACION AGUDA DE IDAZOXAN EN RATAS CON APRENDIZAJE ESPACIAL

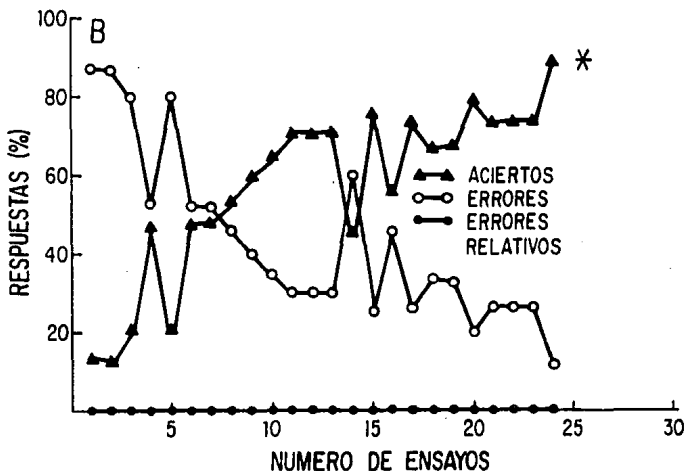


Gráfica 6.- Programa de Aprendizaje Espacial Limitado en la Velocidad de Adquisición. Gráfica A, ↓ Grupo control con SSI. Gráfica B, ↓ administración de 4.0 mg/kg, 30 minutos antes del 1er ensayo de cada uno de los dos días que duró el aprendizaje. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

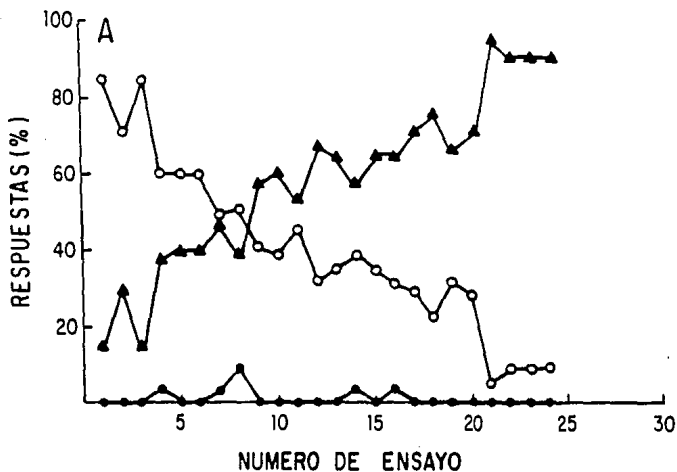


EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE IDAZOXAN SOBRE EL APRENDIZAJE EN EL LABERINTO RADIAL

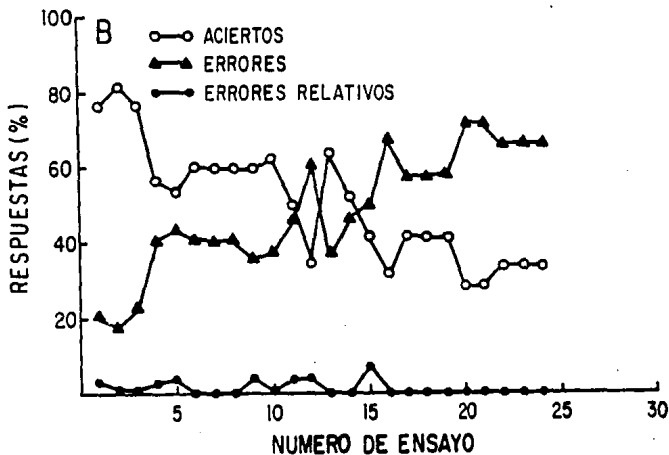


Gráfica 7.- Programa de Aprendizaje Espacial Limitado en la Velocidad de Adquisición. Gráfica A, grupo control con SSI. Gráfica B, administración 6.0 mg/kg, cada 12 hrs por 10 días. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

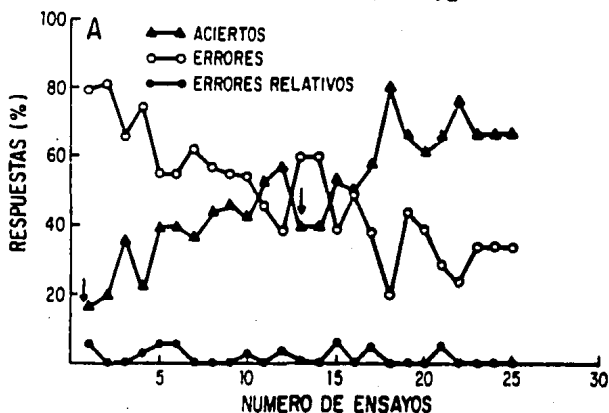


EFECTO DE LA ADMINISTRACION CRONICA DE ATIPAMAZOLE EN RATAS CON APRENDIZAJE ESPACIAL

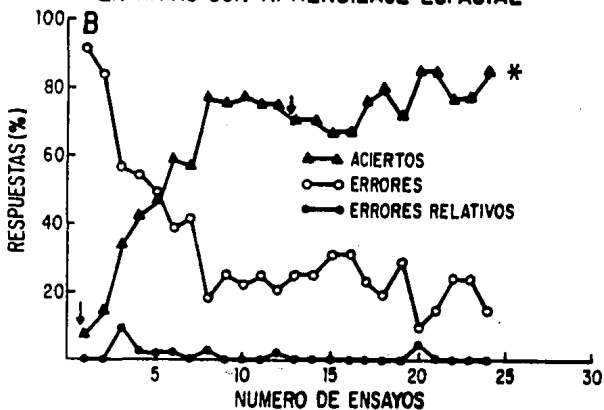


Gráfica 8.- ° Programa de Aprendizaje Espacial Optimizado. Gráfica A grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 2.5 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días.

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL

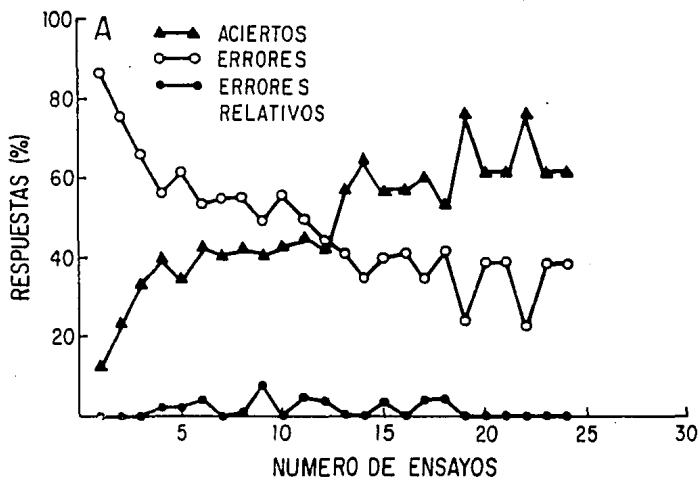


EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ATIPAMAZOLE EN RATAS CON APRENDIZAJE ESPACIAL

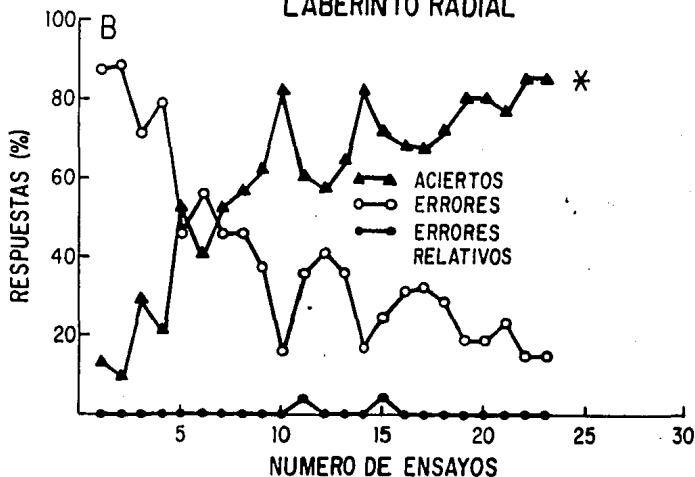


Gráfica 9.- ° Programa de Aprendizaje Espacial Limitado en la Velocidad de Adquisición. Gráfica A, † Grupo control con SSI. Gráfica B, ‡ administración 5.0 mg/kg, 30 minutos antes del 1er ensayo de cada uno de los dos días que duró el aprendizaje. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

APRENDIZAJE ESPACIAL EN LABERINTO RADIAL CON RATAS CONTROL



EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ATIPAMAZOLE SOBRE EL APRENDIZAJE ESPACIAL EN EL LABERINTO RADIAL



Gráfica 10.- Programa de Aprendizaje Espacial Limitado en la Velocidad de Adquisición. Gráfica A, grupo control con SSI. Gráfica B, administración de 2.5 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días. * indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

Para analizar los cambios en la densidad de los receptores α_1 y α_2 en cada lote: Inicialmente se cuantificó la cantidad de receptores α_1 ó α_2 para cada área por animal, por cuadruplicado. Posteriormente se promediaron los resultados para cada grupo obteniéndose luego el porcentaje de "unión" del ligando correspondiente, respecto al grupo control. Los datos se presentan como el porcentaje de unión específica para el ligando respectivo +/- el error estandar medio.

Finalmente se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA de una cola, en un programa de tipo Graphoaddinstat 1.14) para determinar si hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores promedio de los diferentes grupos experimentales de cada uno de los diferentes lotes.

CAMBIOS EN LA DENSIDAD DE LOS RECEPTORES α_1 .

La unión específica del ligando [^3H]-prazosina a receptores noradrenérgicos α_1 , permitió determinar la densidad o población de estos receptores en membranas de diferentes áreas del cerebro de rata (Hp, CTP, CF y NC) a una concentración saturante de 0.4 nM de éste ligando, se determinó la densidad de los receptores α_1 , por el método de "unión" (Binding), lo que permitió hacer determinaciones no a una sino a un grupo de 7 ratas. La unión específica se determinó como la diferencia de la unión total y la unión inespecífica, que ocurre en-presencia de un exceso de concentración

de ligando no marcado, que en este caso fue de 10 μM de fentolamina.

LOTE 1

Grupo Control

A este grupo no se le administró fármaco ni se le sometió a la adquisición de aprendizaje, únicamente se le administró SSI a razón de 1 ml/kg y exceptuando las condiciones experimentales que se variaron, se mantuvo bajo las mismas condiciones que los demás grupos. La densidad de los sitios de unión específica para [^3H]prazosina sirvieron de comparación para los otros grupos.

Efecto del Aprendizaje Espacial Optimizado

Con la adquisición del aprendizaje espacial optimizado, los sitios de unión específica para [^3H]-prazosina (receptores α_1) aumentaron en un 52 % en CTP y disminuyeron en un 45 % en Hp, no se encontraron cambios significativos en CF ni NC (grafica 11)

Administración Semicrónica de Anfetamina.

La administración semicrónica de anfetamina a razón de 1.5 mg/kg cada doce horas por diez días, produjo aumentos de estos sitios de unión en un 25 % tanto en CTP como en CF y una disminución aproximada del 75 % en NC. No se detectaron cambios significativos en Hp (gráfica 11).

Aprendizaje Espacial Optimizado más Anfetamina

En el grupo con anfetamina y aprendizaje optimizado estos sitios de unión aumentaron un 20 % en CF y disminuyeron un 80 % en NC. No se observaron cambios significativos en Hp y CTP (gráfica 11).

LOTE 2

Grupo Control

A este grupo no se le administró fármaco, ni se le sometió a la adquisición de aprendizaje optimizado únicamente se le administró SSI se mantuvo bajo las mismas condiciones que los demás grupos. Los sitios de unión específica para [³H]-prazosina sirven de comparación para lo otros grupos de este lote.

Efecto del Aprendizaje Espacial Optimizado.

Con la adquisición del aprendizaje optimizado, los sitios de unión específica de la [³H]-prazosina los receptores α_1 aumentarán 100 % en Hp y en CTP aumentaron 113 %. No se produjeron cambios significativos en CF ni en NC (gráfica 12)

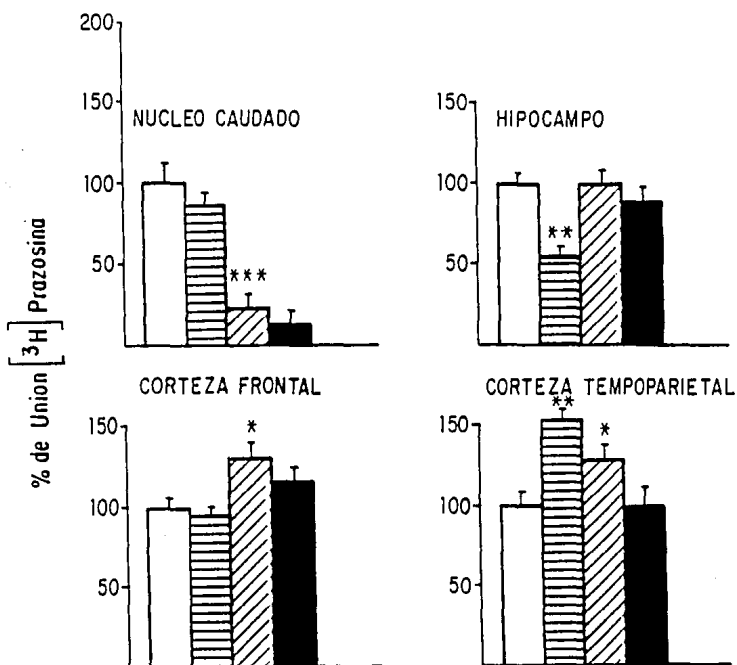
Administración Semicrónica de Prazosina

La administración semicrónica de prazosina a dosis de 1 mg/kg cada 12 hrs durante 10 días, aumentó 300% los sitios de unión específica en Hp, los aumentó 40 % en CTP y un 113 % en CF. No se detectarán cambios significativos en NC (gráfica 12).

Aprendizaje Espacial Optimizado más Prazosina

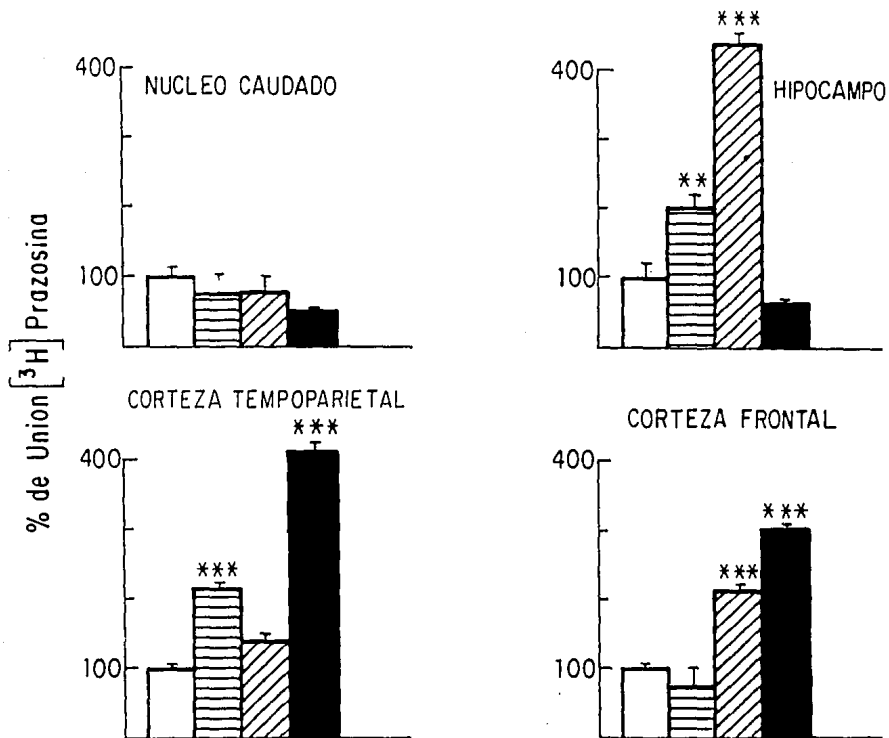
En el subgrupo con prazosina y aprendizaje optimizado, dichos sitios aumentaron en un 306 % en CTP y un 206 % en CF. Disminuyeron aproximadamente en un 34 % en Hp y en un 48 % en NC (gráfica 12).

EFECTO DE LA ADMINISTRACION SEMICRONICA DE ANFETAMINA EN RATAS CON Y SIN APRENDIZAJE ESPACIAL



Gráfica 11.- Unión específica de [^3H]prazosina en diferentes áreas del cerebro de rata. Grupo control con SSI. Grupo con aprendizaje optimizado. Grupo tratado con 1.5 mg/kg de anfetamina cada 12 hrs por 10 días. Grupo con anfetamina más aprendizaje optimizado. * indica una diferencia significativa de ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) y *** ($p < 0.001$).

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION SEMICRONICA DE PRAZOSINA EN RATAS CON Y SIN APRENDIZAJE ESPACIAL



Gráfica 12.- Unión específica de $[^3\text{H}]$ prazosina en diferentes áreas del cerebro de rata. Grupo Control con SSI. Grupo con aprendizaje optimizado. Grupo tratado con prazosina 1 mg/kg cada 12 hrs por 10 días. Grupo con prazosina más aprendizaje optimizado. * indica una diferencia significativa ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) y *** ($p < 0.001$).

CAMBIOS EN LA DENSIDAD DE LOS RECEPTORES α_2

Para la unión específica de los receptores α_2 se utilizó alguno de los ligandos [^3H]-RX781094 o [^3H]-RX821002, a una concentración saturante de de 10 nM para ambos ligandos y como ligando frío se empleo 10 μM de fentolamina.

LOTE 3

Grupo Control

A este subgrupo no se le administró fármaco, ni se le sometió a la adquisición de aprendizaje, únicamente se le administró SSI a razón de 1 ml/kg exceptuando a los otras condiciones experimentales, se mantuvo bajo las mismas condiciones que los demás subgrupos de este lote. La densidad de los sitios de unión específica del ligando [^3H]-RX821002 en este grupo sirven de comparación para los otros subgrupos.

Efecto del Aprendizaje Espacial Optimizado

Con la adquisición de este aprendizaje, los sitios de unión para los receptores α_2 aumentaron 35% en Hp, 110% en CF y un 50 % en NC (gráfica 13)

Administración Semicrónica de Aminoclonidina

En el subgrupo tratado con la administración semicrónica de aminoclonidina a dosis de 0.12 mg/kg cada doce horas durante diez días, dichos sitios aumentaron en un 75 % en Hp, un 50 % en CF y

160 % en NC. (gráfica 13)

Aprendizaje Espacial Optimizado más Aminoclonidina

Por último el grupo con aminoclonidina más aprendizaje optimizado, dichos sitios aumentaron aproximadamente en 140 % en Hp, 120 % en CF y 130 % en NC (gráfica 13).

LOTE 4

Grupo Control

A este grupo no se le administró fármaco ni se le sometió a la adquisición de aprendizaje, únicamente se le administró SSI a razón de 1 ml/kg y exceptuando los demás condiciones experimentales, se mantuvo bajo las mismas condiciones que los demás subgrupos de este lote. La densidad de los sitios de unión específica del ligando [³H]-RX781094 en este grupo sirvieron de comparación para los otros subgrupos.

Efecto del Aprendizaje Espacial Optimizado

El aprendizaje espacial aumentó los sitios de unión específica de [³H]RX781094 (receptores α_2), en 78 % en Hp y no se observó cambio alguno en CF pero disminuyó un 50 % en NC (gráfica 14)

Administración Semicrónica de Idazoxan

La administración de idazoxan a dosis de 6 mg /kg cada 12 hrs por diez días, disminuyó en un 24 % los sitios de unión específica en Hp, 56 % en CF y un 76 % aproximadamente en NC (gráfica 14)

Aprendizaje Espacial Optimizado más Idazoxan

Por último en el grupo con idazoxan y aprendizaje espacial optimizado, dichos sitios aumentaron en un poco más del 68 % en Hp y disminuyeron alrededor de un 35 % en CF y en un 53 % en NC (gráfica 14).

LOTE 5

Grupo Control

A éste subgrupo no se le administró fármaco ni se le sometió a la adquisición de aprendizaje, únicamente se le administró SSI a razón de 1 ml/kg y exceptuando las demás condiciones experimentales, se mantuvo bajo las mismas condiciones que los demás subgrupos de este lote. La densidad de los sitios de unión específica del ligando [³H]RX821002, de éste grupo sirvieron de comparación para los otros subgrupos (gráfica 15).

Efecto del Aprendizaje Espacial Optimizado

Con la adquisición de este aprendizaje, los sitios de unión para los receptores α_2 aumentaron 25 % en Hp, 57 % en NC y no se encontraron cambios significativos en CF.

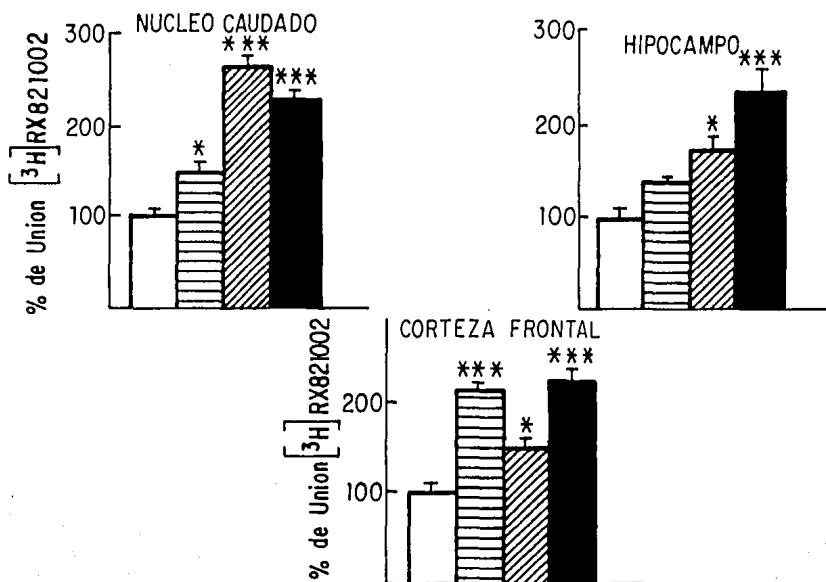
Administración Semicrónica de Atipamazole.

La administración semicrónica de atipamazole a dosis de 2.5 mg/kg, en Hp, CF y NC, no produjo cambios significativos.

Aprendizaje Optimizado y Atipamazole.

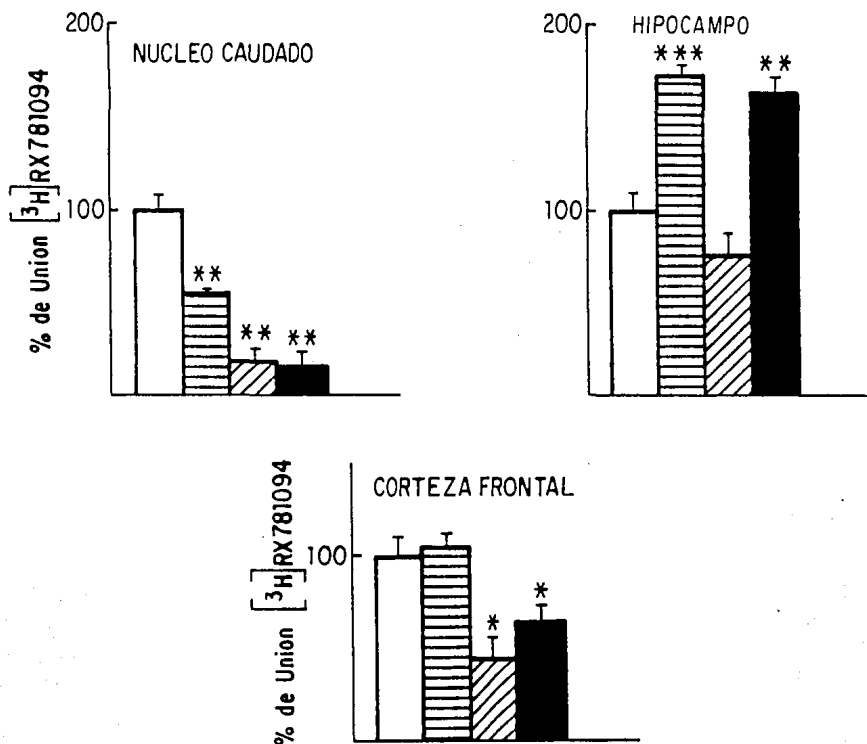
Por último, la administración de atipamazole más aprendizaje optimizado, no produjeron cambios significativos en HP, CF ni en NC.

EFECTO DE LA ADMINISTRACION SEMICRONICA DE AMINOCLONIDINA EN RATAS CON Y SIN APRENDIZAJE ESPACIAL



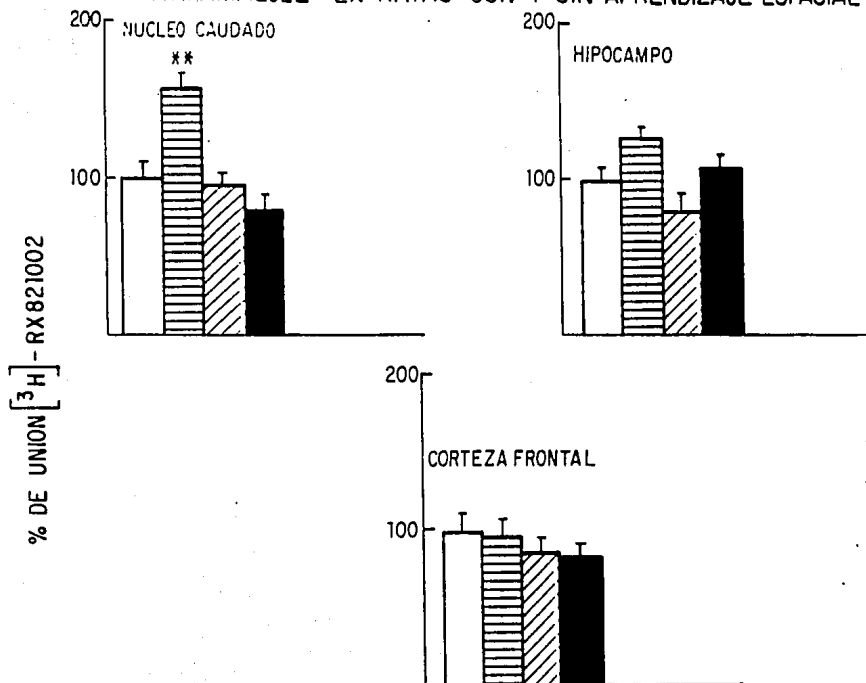
Gráfica 13.- Unión específica de $[^3\text{H}]$ RX821002 en diferentes áreas del cerebro de rata. Grupo control con SSI. Grupo con aprendizaje optimizado. Grupo tratado con p-aminoclonidina 0.12 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días. Grupo con aminoclonidina más aprendizaje optimizado. * indica una diferencia significativa de ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) y *** ($p < 0.001$).

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION SEMICRONICA DE IDAZOXAN EN RATAS CON Y SIN APRENDIZAJE ESPACIAL



Gráfica 14.- Unión específica de [³H]RX781094 en diferentes áreas del cerebro de rata. □ Grupo control con SSI. ▨ Grupo con aprendizaje optimizado. ▩ Grupo tratado con idazoxan 6.0 mg/kg cada 12 hrs durante 10 días. ■ Grupo con idazoxan más aprendizaje optimizado.* indica una diferencia significativa de (p<0.05), ** (p<0.01) y *** (p<0.001).

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION SEMICRONICA DE
ATIPAMAZOLE* EN RATAS CON Y SIN APRENDIZAJE ESPACIAL



Gráfica 15.- Unión específica de $[^3\text{H}]$ RX821002 en diferentes áreas del cerebro de rata. Grupo control con SSI. Grupo con aprendizaje optimizado. Grupo tratado con atipamazole 2.5 mg/kg, cada 12 hrs durante 10 días. Grupo con atipamazole más aprendizaje optimizado. * indica una diferencia significativa de ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) y *** ($p < 0.001$).

D I S C U S I O N

EFFECTO DE LAS DROGAS AGONISTAS Y ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR NORADRENERGICO α_1 EN EL APRENDIZAJE ESPACIAL

Efecto de la Administración de Anfetamina

La administración semicrónica de anfetamina a dosis de 1.5 mg/kg, cada 12 horas por 10 días, no produjo cambios significativos sobre el aprendizaje espacial optimizado. Esto no concuerda con lo esperado, pues la anfetamina es un agonista noradrenérgico indirecto, ya que facilita la liberación de NA y DA de las terminales nerviosas y con ello facilita el aprendizaje. Así, desde hace algunos años se ha reportado que la anfetamina aumenta el aprendizaje y la memoria (McGaugh, 1973; Sara y Deweer, 1988). Ya que existía la posibilidad de que bajo estas condiciones el aprendizaje espacial este optimizado al máximo, decimos probar esta droga bajo condiciones limitantes en la velocidad de adquisición de dicho aprendizaje. Así encontramos que la anfetamina a dosis de 1.25 mg/kg y, administrada cada 24 horas durante los dos días que duró la adquisición del aprendizaje y bajo las condiciones que limitan la velocidad de adquisición del mismo. Esto es cuando se disminuye el número de oportunidades de entrada o el tiempo de estancia en los brazos del laberinto. La anfetamina incrementó considerablemente la velocidad de adquisición del aprendizaje,

respecto a su grupo control (gráfica 2). También se ha reportado que la administración previa de anfetamina, antes de la prueba de retención, mejora la retención de la respuesta (Sara y Deweer, 1982). Dichos resultados nos hacen suponer, que el efecto de la activación sobre el aprendizaje por la administración de anfetamina se observa solo cuando las condiciones del aprendizaje no son las óptimas.

Efecto de la Administración de Prazosina

La administración semicrónica de esta droga, produjo un efecto inhibitorio desde el inicio de la adquisición del aprendizaje, efecto que esta de acuerdo con lo esperado ya que es de suponerse que los antagonistas α_1 , al bloquear este receptor postsináptico disminuyen la adquisición del aprendizaje, así pues, esta droga antagoniza los efectos noradrenérgicos en forma significativa.

**EFEECTO DE DROGAS AGONISTAS Y ANTAGONISTAS
DEL RECEPTOR NORADRENERGICO α_2 EN EL APRENDIZAJE ESPACIAL**

Efecto de la administración de p-aminoclonidina

El efecto de la administración semicrónica de aminoclonidina sobre el aprendizaje optimizado es de tipo inhibitorio o de bloqueo, ya que la droga bloquea la liberación de NA de sus terminales. La clonidina un agonista noradrenérgico α_2 que solo difiere de la aminoclonidina por no tener un grupo amino, se ha demostrado que mejora el desempeño de la rata en un programa de respuestas retardadas. Esta facilitación solo ocurre a dosis altas de clonidina de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que a dosis bajas <10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bloquean la memoria (Arnsten y Golman-Racik, 1985), se ha propuesto que la clonidina a altas dosis podría reemplazar la pérdida de NA en la corteza frontal y así restaurar la función mnemónica.

Efecto de la administración de idazoxan.

Con la administración semicrónica del idazoxan de 6 mg/kg cada 12 horas durante 10 días encontramos que bajo nuestras condiciones experimentales, no hubo cambios significativos en el aprendizaje espacial optimizado. Esto no concuerda con lo esperado ya que la acción de los antagonistas de los receptores α_2 es incrementar la actividad noradrenérgica (Aghajanian, Cedarbaum y Wang, 1977). El

presente hallazgo probablemente se deba a que el modelo de aprendizaje espacial esta optimizado a un máximo. Por ello cuando previo a la sesión de aprendizaje administramos idazoxan a razón de 4 mg/kg en dosis aguda, una vez cada 24 hrs y en condiciones en que la velocidad de adquisición del aprendizaje esta limitada, encontramos un incremento tanto en la velocidad de adquisición como en el efecto máximo del porcentaje de aciertos. Algo similar se encontró con la administración semicrónica de idazoxan de 6 mg/kg pero, bajo las condiciones del aprendizaje limitado encontramos un aumento tanto en la velocidad de adquisición como en el efecto máximo. Esto concuerda con estudios recientes en los que el idazoxan a dosis de 2 mg/kg induce un incremento cuantificable y significativo en la actividad noradrenérgica en diferentes áreas del cerebro. Por otra parte, algunos autores han encontrado que el idazoxan aumenta la conducta discriminativa (Sanger, 1989) y facilita el aprendizaje (Dickinson, 1989).

Efecto de la administración de atipamazole.

Con la administración semicrónica de otro antagonista de los receptores α_2 , el atipamazole a razón de 2.5 mg/kg cada 12 horas durante 10 días y bajo condiciones de aprendizaje óptimo, no encontramos cambios significativos en el aprendizaje espacial. En el caso de la administración de atipamazole previa a la sesión de aprendizaje a dosis agudas de 5 mg/kg cada 24 hrs durante los dos días que duró el aprendizaje, produjo un incremento significativo

tanto en la velocidad de adquisición del aprendizaje como en el número máximo de aciertos (gráfica 9). Esto concuerda con lo esperado ya que un antagonista α_2 facilita la liberación de NA de las terminales nerviosas (Scheinin, 1988) y con ello el aprendizaje.

EFEECTO DEL APRENDIZAJE Y DROGAS NORADRENERGICAS

SOBRE LA POBLACION DE RECEPTORES α_1

Con tecnicas de "unión" de radioligandos noradrenérgicos se han identificado y caracterizado farmacológicamente en forma directa los receptores adrenérgicos α_1 , tanto a nivel periférico como en diferentes estructuras centrales (Bylund, 1987; Unnerstall, 1987)

El paradigma de adquisición del aprendizaje utilizado en esta tesis, presenta la característica de que es altamente reproducible, lo mismo que las tecnicas de cuantificación de los receptores estudiados. Los valores de la población de receptores en los animales controles empleados nos indican el valor de referencia de la población de receptores α con respecto a los datos encontrados en los grupos experimentales y que, los cambios de estos receptores en dichos grupos se deben al fenómeno del aprendizaje, a la acción de las drogas noradrenérgica o bien a ambos respectivamente. La importancia de estudiar cambios neuroquímicos asociados al proceso de aprendizaje radica en el interés de encontrar un correlato molecular, que sea la base necesaria y suficiente del aprendizaje (Rose, 1977). Un posible correlato neuroquímico, se encontró en base a los cambios de la síntesis proteica en diferentes áreas del sistema nervioso central, asociado con el aprendizaje (Aleman, 1982), o en base a cambios en la población de receptores α_2 en diferentes paradigmas de aprendizaje (Ortega, 1987).

*Ratas que se les Sometió a la Adquisición de Aprendizaje,
Administración de Anfetamina, o a Ambas Condiciones.*

En relación a los cambios de la población de receptores α_1 , el ligando que se utilizó fue [^3H]-prazosina, ya que se une específicamente y con alta afinidad (menor a 1 nM) a un solo sitio o receptor en forma rápida, reversible y saturable. Esto ocurre en membranas cerebrales de rata (Battaglia, 1983), por otra parte este ligando tiene una baja unión inespecífica (Bylund, 1987).

El efecto del aprendizaje espacial sobre los receptores α_1 .

Analizando nuestros resultados observamos que en el grupo con aprendizaje hay una disminución del 50% de los receptores α_1 en Hp, que concuerda con lo esperado, ya que suponemos que el proceso de aprendizaje aumenta la liberación de NA y en esta situación es de esperarse que disminuyera la población de los receptores α_1 en las áreas analizadas.

Sin embargo hubo un aumento en la población de receptores α_1 en CTP siendo esto contrario a lo esperado. En CF y NC no hubo cambios significativos. El efecto contradictorio en CTP probablemente se deba a un efecto compensatorio o de rebote en la velocidad de síntesis de estos receptores o bien a que los cambios en los receptores α_1 se manifiestan en forma diferente en algunas de

las áreas cerebrales analizadas, esto es que en algunas de las regiones el efecto del aprendizaje afecta poco o nada a estos receptores como es el caso de CF y NC o bien que el efecto contrario a lo esperado como en CTP probablemente se deba a la existencia de un tipo diferente de receptor α_1 (Lomasney, 1991).

El efecto de la administración de anfetamina sobre receptores α_1 .

Por otro lado, en el grupo con administración semicrónica de anfetamina hay una disminución de estos receptores en NC lo que apoya nuestra hipótesis, ya que los antagonistas noradrenérgicos α_1 , incrementan los niveles de NA y como consecuencia producen una "regulación hacia abajo" de estos receptores. Por otra parte encontramos aumentos de estos receptores en CF y CTP siendo esto contrario a lo esperado. Una posible explicación es, que la NA, en estas condiciones de administración semicrónica de anfetamina se una a más de un subtipo diferente del receptor α_1 . Otra posible explicación es que en estas áreas nuestro ligando, no fue lo suficientemente específico para nuestro receptor (Lomasney, 1991).

El efecto del aprendizaje optimizado y la administración de anfetamina sobre los receptores α_1 .

Finalmente en el grupo con anfetamina y aprendizaje se esperaba una suma algebraica de estos dos efectos, esto es que tanto el aprendizaje produce una "regulación hacia abajo" de los receptores α_1 , como la administración de anfetamina también hace lo mismo lo que reforzaría el mismo tipo de respuesta. Esto se observa

solamente en NC, donde hay una disminución severa de estos receptores.

Por otra parte, en Hp era de esperarse una disminución de estos receptores sin embargo, anteriormente observamos que en el grupo de aprendizaje si hay reducción de estos receptores y en el grupo con anfetamina no hubo cambios significativos. En relación a estos resultados era de esperarse una ligera disminución de los receptores como resultado de la suma algebraica de los dos efectos. Sin embargo no hubo cambios significativos en Hp. Ello probablemente se debió a que el efecto de la administración semicrónica de anfetamina predominó sobre el efecto del aprendizaje. En la CTP y CF no hubo cambios significativos, esto no concuerda con lo esperado ni con la suma algebraica de los dos efectos, no tenemos una explicación posible a estos resultados.

*Ratas que se les Sometió a la Adquisición de Aprendizaje,
Administración de Prazosina, o a Ambas Condiciones.*

El efecto del aprendizaje sobre los receptores α_1 .

Al cuantificar los receptores α_1 , en las ratas con aprendizaje observamos aumentos en la población de receptores α_1 en Hp y en CTP, lo que no concuerda con lo esperado ya que un proceso de aprendizaje debería de producir una "regulación hacia abajo" de los receptores α_1 (Bylund, 1987; Bylund y U'Prichard, 1983) Probablemente ello se deba a que en estas áreas existen diferencias de este tipo de receptores (Lomasney, 1991), y en ellas la NA podría actuar como un antagonista. En CF y en NC no hubo cambios significativos, pero si una tendencia a disminuir, esto probablemente se deba a una baja especificidad del ligando hacia un solo tipo de receptor, o quizás nuevamente debido a la presencia de un diferente tipo de receptor α_1 .

El efecto de la administración de prazosina sobre receptores α_1 .

En el grupo con administración de prazosina hay aumentos en la densidad de estos receptores en Hp, CTP y CF, esto apoya nuestra hipótesis y resultados previos (Alvarez y Jiménez, 1993; Bylund, 1987; Bylund y U'Prichard, 1983) ya que un antagonista α_1 produce una "regulación hacia arriba" de estos receptores como consecuencia del bloqueo de la acción de la NA en el receptor postsináptico. Probablemente la prazosina se une preferentemente a un subtipo de

receptor de alta afinidad como el α_1 , presente tanto en Hp como en las cortezas (Lomasney, 1991). No hubo cambios significativos en NC, quizás debido a que la prazosina se unió a un subtipo de receptor presente en esta área o bien al tiempo que transcurrió desde la última administración de esta droga hasta la determinación del receptor, lo que probablemente produjo una compensación en el metabolismo de este receptor.

El efecto del aprendizaje optimizado y la administración de prazosina sobre receptores α_1 .

Finalmente en el grupo con prazosina y aprendizaje se esperaba un efecto equivalente a la suma algebraica entre estos dos efectos teóricamente opuestos y que probablemente predominará el efecto de mayor intensidad. Nuestros resultados concuerdan en CF y en CTP. Una posible explicación, es que en CF el efecto de la combinación del aprendizaje y prazosina predominó el efecto de la droga lo que produjo un aumento de la densidad de receptores. En NC el aprendizaje y la prazosina no produjeron cambios significativos por lo que la combinación de ambos produjo una tendencia de disminución en los receptores α_1 , lo que podría sugerir que esta área no está implicada en este tipo de aprendizaje. Sin embargo los resultados en Hp no concuerdan, ya que observamos que el efecto de la combinación del aprendizaje y prazosina disminuyó la densidad de los receptores α_1 , lo que indica un predominio del efecto del aprendizaje sobre el de la prazosina en esta área.

Sucedió el caso contrario en CTP, en donde encontramos un

aumento excesivo de los receptores α_1 , esperabamos un aumento pero no tan intenso lo que nos dice que probablemente predominó el efecto de la prazosina.

EFFECTO DEL APRENDIZAJE Y DROGAS NORADRENERGICAS

SOBRE LA POBLACION DE RECEPTORES α_2 .

El RX781094 y el RX821002, son ligandos antagonistas especificos a receptores noradrenérgicos α_2 con un mayor coeficiente de selectividad α_2/α_1 , más alto que la yohimbina y rauwolscina (Dettmar, 1981), por lo que hemos utilizado el RX781094 tritiado para el marcaje de los receptores noradrenérgicos α_2 en membranas de varias áreas del cerebro de rata (Regan, 1987).

Ratas que se les Sometió a la Adquisición de Aprendizaje, Administración de p-Aminoclonidina, o a Ambas Condiciones

El efecto del aprendizaje optimizado sobre receptores α_2 .

Los sitios de unión específica a [^3H]-RX821002, bajo la acción del aprendizaje aumentaron los receptores α_2 , en Hp, CF y NC, lo que esta de acuerdo con una mayor actividad noradrenérgica en estas condiciones.

El efecto de p-aminoclonidina sobre receptores α_2

Por otra parte la administración semicrónica de aminoclonidina, aumentó significativamente la población de los receptores α_2 en Hp, CF y NC. Como agonista de estos receptores esperamos que en todas las áreas disminuyera su población, sin embargo los incrementos sugieren que la droga funcionalmente es un antagonista en este AR, ya que inhibe la liberacion de NA lo que

podría producir una regulación "hacia arriba" de estos receptores o bien podría estar actuado en los receptores α_2 postsináptico y que al parecer son un subtipo diferente al receptor α_2 (Lomasney, 1991).

El efecto del aprendizaje optimizado y la administración de p-aminoclonidina sobre receptores α_2 .

Por último en el grupo de ratas que se les sometió a la administración de aminoclonidina y aprendizaje esperabamos cambios de estos receptores en la dirección de la suma algebraica de los dos efectos. La aminoclonidina tendería a aumentarlos, ya que la droga inhibe la liberación de NA de sus terminales y con ello indirectamente una regulación "hacia arriba" de dichos receptores. El aprendizaje aumentaría la liberación de NA, la cual ejercería una función inhibitoria en este receptor, lo que induciría una regulación "hacia arriba". Nuestros resultados muestran un predominio del efecto del agonista α_2 , o sea el de aumentar estos sitios, en Hp, CF y NC.

*Ratas que se les Sometió a la Adquisición de Aprendizaje,
Administración de Idazoxan, o a Ambas Condiciones*

El efecto del aprendizaje optimizado sobre receptores α_2 .

Cuando cuantificamos la población de receptores α_2 con el [^3H]RX781094, en el grupo con aprendizaje se esperaba que producirá aumentos en los receptores α_2 ya que este proceso inhibe la liberación de NA en la presinápsis, pero los resultados solo concuerdan en Hp. En CF no se detectaron cambios significativos pero si una tendencia a bajar, posiblemente debido a que el efecto del aprendizaje no fue lo suficientemente intenso como para producir cambio alguno en la población del receptor α_1 o a la unión del ligando a otro subtipo de receptor α_2 .

El efecto del idazoxan sobre receptores α_2 .

La disminución de la población de receptores α_2 con la administración de idazoxan un supuesto antagonista de este receptor, sin embargo funcionalmente es un agonista ya que facilita la liberación de la NA, por lo tanto debe de inducir un descenso en la población de estos receptores lo que esta de acuerdo con lo que se encontró.

El efecto del aprendizaje optimizado y la administración de idazoxan sobre receptores α_2 .

En el caso del idazoxan más aprendizaje esperabamos que la

población de estos receptores fuera una suma algebraica de ambos efectos, ya que por un lado esta droga produce una "regulación hacia abajo" y por otro el propio aprendizaje los aumenta, los resultados obtenidos concuerdan solo en Hp y en CF. En NC donde disminuyeron quizas de deba a la existencia de un subtipo de receptor α_2 (Lomasney, 1991) en esta área o bien a un efecto predominate de la droga.

*Ratas que se les Sometió a la Adquisición de Aprendizaje,
Administración de Atipamazole, o a Ambas Condiciones.*

El efecto del aprendizaje optimizado sobre receptores α_2 .

Quando cuantificamos la población de receptores α_2 con el [^3H]RX821002, en el grupo de aprendizaje se esperaba que produjera aumentos en estos receptores ya que este proceso inhibe la liberación de NA en la presinapsis, los resultados concuerdan en Hp y NC. En CF no se detectaron cambios significativos ($p > 0.05$).

El efecto de la administración de atipamazole sobre receptores α_2 .

La administración de atipamazole no produjo cambios significativos en dichos sitios de unión pero existe una tendencia que concuerda con lo esperado, ya que esta sustancia como antagonista α_2 pero facilitador de la liberación de NA, debería disminuir su población. Otra posible explicación es la unión del ligando a un diferente tipo de receptor α_2 (Lomasney, 1991). Sin embargo no habría que descartar que la afinidad de nuestro fármaco y de nuestro ligando por este receptor no fue tan alta, para observar cambio alguno.

El efecto del aprendizaje optimizado y la administración de atipamazole sobre receptores α_2 .

En el caso del atipamazole y el aprendizaje esperabamos una suma algebraica de ambos efectos sobre estos receptores, ya que

ambos tienen efectos opuestos sobre estos receptores. Nuestros resultados no presentaron cambios significativos en Hp, CF ni en NC. En el caso de Hp hay una concordancia con los esperado aunque quizá un mayor efecto del aprendizaje.

En general podemos decir que, la mayoría de los resultados obtenidos en la cuantificación de la densidad de los receptores α_1 y α_2 en las áreas analizadas (NC, Hp, CTP y CF), desde un punto de vista teórico concuerdan con los resultados esperados. Aquellos datos que no concuerdan, se deben a algunas de las siguientes posibles causas:

- A la posible existencia de más de un subtipo de receptor, tanto para los AR α_1 como para los α_2 .
- Posiblemente la afinidad del ligando, [^3H]prazosina, [^3H]RX781094 y [^3H]RX821002 no sea de una alta especificidad para el tipo de receptor estudiado.
- Tanto la magnitud como la dirección de los cambios en la densidad de los receptores α , probablemente dependan del tiempo que transcurrió desde la última administración de las drogas hasta su estudio.

C O N C L U S I O N E S

- 1.- a) La administración semicrónica de anfetamina, idazoxan y atipamazole, no afectaron la velocidad de adquisición del aprendizaje optimizado. Sin embargo sucedió una situación contraria en el aprendizaje limitado en su velocidad de adquisición, donde estas drogas si lo incrementaron, tanto con dosis agudas como con dosis semicrónicas.
b) La administración semicrónica de prazosina y p-aminoclonidina, retardan la velocidad de adquisición y el efecto máximo en el aprendizaje optimizado.
- 2.- a) El aprendizaje espacial optimizado aumentó la población de receptores α_1 solo en CTP. No se produjeron cambios significativos en CF ni en NC, y en Hp los resultados se dieron en ambos sentidos.
b) El aprendizaje espacial optimizado en terminos generales aumentó la población de los receptores α_2 en Hp, CF y NC.
- 3.- a) La administración semicrónica de anfetamina produjo una disminución de los receptores α_1 en NC. y un aumentó en CTP y CF. En Hp no hubo cambios significativos.
b) La administración semicrónica de prazosina aumentó los receptores α_1 en Hp, CF y CTP. En NC no hubo cambios.

c) La administración semicrónica de aminoclonidina aumentó la población de receptores α_2 en Hp CF y NC.

d) La administración semicrónica de idazoxan disminuyó la población de receptores α_2 en NC, CF y HP.

e) La administración semicrónica de atipamazole no produjo cambios significativos en la población de receptores en las áreas analizadas.

4.- a) La administración de anfetamina más aprendizaje optimizado, produjo disminución en los receptores α_1 en NC.

b) La administración semicrónica de prazosina más aprendizaje optimizado aumentó la población de los receptores α_1 en CTP y en CF.

c) La administración semicrónica de aminoclonidina más aprendizaje optimizado produjo incremento en los receptores α_2 en Hp, CF y en NC.

d) La administración semicrónica de idazoxan más aprendizaje produjo un aumento de los receptores α_2 en Hp y una disminución en CF y en NC.

5.- En general en la mayoría de los casos los cambios en los receptores α_1 y α_2 en las áreas analizadas concuerdan con los resultados teóricos esperados. Sin embargo los cambios de los receptores α_2 fueron más notorios que en los receptores α_1 en las diferentes áreas ya sea solo por el efecto de la droga o en forma conjunta con el aprendizaje.

REFERENCES

- Aghajanian G.K., Cedarbaum J.M. and Wang R.Y. (1977). Evidence for norepinephrine-mediated collateral inhibition of locus coeruleus neurons. *Brain Research*. 136, 570-577.
- Ahlquist R.P. (1948). A study of the adrenotropic receptors. *American Journal Physiology*. 153, 586-600.
- Ahlskog J.E. (1973). Over-eating and obesity from damage to a noradrenergic system in the brain. *Science* 182, 166-169.
- Alemán A. V., Camacho J.L., Bermudez-Rattoni F. and Prado-Alcala R.A. (1982). Differential ³⁵S-methionine incorporated into protein of different brain areas of the rat during a learning task. *Behavioral and Neural Biology*. 36, 137-195.
- Alvarez C. M.E., Jiménez R.P. (1993). La regulación de receptores cerebrales noradrenérgicos α por fármacos agonistas y antagonistas. Tesis de Licenciatura. FES Cuautitlan. UNAM.
- Amaral D.G. and Sinnamon H.M. (1977). The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Progress in Neurobiology* 9, 147-196.
- Archer T., Arweström E., Jonsson G., Minor B.G. and Prost C. (1985) Complete blockade and attenuation of 5-hydroxytryptamine induced analgesia following NA depletion in rats and mice. *Acta Pharmacology and toxicology*. 57, 255-261.
- Archer T., Cotic T. and Järbe T.U.C (1986a). Noradrenaline and

Neuroscience. 100, 704-711.

- Arnsten A.F.T. and Goldman P.S. (1985). Alpha₂ adrenergic mechanisms in prefrontal cortex associated with cognitive decline in aged non human primates. *Science* 230, 1273-1276.
- Battaglia G., Shannon M., Borgundvaag B and Titeler M. (1983). Properties of [³H] prazosin-labeled α_1 -adrenergic receptors in rats brain and porcine neurointermediate lobe tissue. *Journal of Neurochemistry* 41, 538-542.
- Biegon A., Chester A.M. and Budinger T.F. (1992). Quantitative in vitro and ex vivo autoradiography of the α_2 -adrenoceptor antagonist [³H]atipamazole. *European Journal of Pharmacology*. 224, 27-38.
- Boakes R., Bradley P., and Candy J., (1972) Neuronal basis for the alerting action of (+) amphetamine. *British Journal of Pharmacology*, 45, 391-403.
- Brownstein M., Saavedra J.M. Palkovits (1974). Norepinephrine and dopamine in the limbic system of the rat brain. *Brain research*. 79, 431-436.
- Bucci L. and Bovet D. (1974a) The effects of iproniazid and tranylcypromine studied with a dark-avoidance conditioned schedule. *Psychopharmacologia*. 35, 179-188.
- Bylund B.D. (1987). Biochemistry and Pharmacology of the alpha₁ adrenergic receptor. En: *The alpha₁ adrenergic receptor*. Ruffolo R.R.Jr. (ed). Human Press. 19-71.
- Bylund B.D. and U'Prichard D.C. (1983) Characterization of α_1 and α_2 -adrenergic receptors. *International Review of*

- Neurobiology. 24, 343-431.
- Cash R., Raisman R., Lanfumey L., Ploska A. and Agid Y. (1986) Cellular localization of receptors in rat and human brain. Brain Research. 370, 127-135.
 - Cash R., Ruberg M. and Raisman R. (1984) Adrenergic receptor in Parkinson's disease. Brain Research. 322, 269-275.
 - Cassens G., Roffman M, Kuruc A., Orsulak P.J. and Schildkraut K. (1980). Alterations in brain norepinephrine metabolism induced by environmental stimuli previously paired with inescapable shock. Science 209, 1138-1140.
 - Castellano C (1974). Cocaine, pemoline and amphetamine effects on learning and retention of a discrimination test in mice. Psychopharmacologia. 36 67-76.
 - Cole J.B. and Trevor W. (1987). Dissociable effects of lesions to the dorsal or ventral noradrenergic bundle on the acquisition, performance and extinction of aversive conditioning. Behavioral Neuroscience. 101, (4): 476-488.
 - Creese I., & Iversen S. (1975), The Pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. Brain Research. 83, 419-436.
 - Dahlström A., Fuxe M. (1964) Evidence for the existence of monoamine containing in the central nervous system. Acta Physiological Scandinavian. 62 (sup 232), 1-55.
 - Dausse J-P., Quan-Bui K.H.L., and Meyer, P. (1982). Alpha-1 and alpha-2-adrenoceptor in rat cerebral cortex: Effects of neonatal treatment with 6-hydroxidopamine. European Journal

Pharmacology. 78, 15-20.

- Decker M.W. and MacGaugh (1991). The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory in learning and memory. *Synapse* 7, 151-168.
- Deutsch A-J. The cholinergic synapse and the site of memory. (1983) En: *The Physiological basis of memory*. Deutsch A. (ed), Academic Press, 367-386.
- Dickinson A. (1980). Teóricas del aprendizaje animal. Ed. Debate. 1-35.
- Dickinson S.L., Gadie B. and Tulloch I.F. (1989). Effect idazoxan on passive avoidance behaviour in adult-and in aged rats. *British Journal Pharmacology*. 96 Sup, 14P.
- Drew G.M., Gower A.J. and Marriott A-S. (1979). α_2 -adrenoceptors mediate clonidine-induced sedation in the rat. *British Journal Pharmacology* 67, 133-141.
- Dunn A.J. (1980). Neurochemistry of learning and memory: An evaluation of recent data. *Annual Review of Psychology*. 31, 343-390.
- Elliot J.M. (1984). Platelet receptor binding studies in affective disorders. *Journal Affective Disorders*. 6, 219-239.
- Estes K.S. and Simpkins J.W. (1980). Age-related alterations in catecholamine concentrations in discrete preoptic area and hypothalamic regions in the male rat. *Brain Research*. 194, 556-560.
- Falck B., Hillarp N.A., Thieme G and Torp A. (1962). Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed

- with formaldehyde. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 10, 348-354.
- Farley I.J. and Hornykiewicz O. (1976). Noradrenaline in subcortical brain regions of patients with Parkinson's disease and control subjects. En: Advances in Parkinson. Birkmayer W. and Hornykiewicz (eds). Roche. 178-185.
 - Fibiger, H.C., Roberts D.C. and Phillips A.G. (1975) On the role of telencephalic noradrenaline in learning and memory. En: Chemical tools in catecholamine research, Jonsson G., Malmfors T and Seachs C. (eds). North-Holland Publishing. Amsterdam. 1, 349-356.
 - Fillenz M. (1990). The noradrenergic neuron. En: Noradrenergic neurons. Fillenz M (ed). University Press Cambridge. 6-34.
 - Flood J.F., Smith G.E. and Jarvik M.E. (1979). Catecholamine neurotransmitter receptor interaction and its effects on long term memory processing. 23-56.
 - Flood J.F. and Jarvik M.E. (1976). Drug influences on learning and memory. En: Neural mechanisms of learning and memory. Rosenzweig M.R. and Bennet E. L. (eds). MIT Press Cambridge. 483-507.
 - Foote S.L., Bloom F.E. and Aston-Jones G. (1983). Nucleus locus coeruleus: New evidence of anatomical and physiological specificity. Physiology Review. 63, 844-914.
 - Francis P.T., Pangalos M.N. and Bowen D.M. (1989). Animal and drug modelling for Alzheimer synaptic pathology. Progress in Neurobiology. 39, 517-542.

- Franklin K.B.J. and Herberg L.J. (1977). Presynaptic α adrenoceptors of self-stimulation by clonidine and its restoration by piperoxane but not by phentolamine or phenoxybenzamine. *European Journal Pharmacology*. 43, 33-38.
- Geffen L.B., Livett B.G. and Rush R.A. (1969). Immunohistochemical localization of protein components of catecholamine storage vesicles. *Journal Physiology London*. 204, 593-605.
- Gheyouché R., Le Fur G., Colette O., Burgevin M.C., and Uzan A. (1980). *Journal Pharmacie Pharmacology*. 32, 366-368.
- Giralt M.T. and Garcia S. A. (1989). Acute and lon-term regulation of brain α_2 -adrenoceptor after manipulation of noradrenergic transmission in the rat. *European Journal of Pharmacology*. 164, 455-466.
- Gold P.E. and Sternberg D.B. (1978). Retrograde amnesia produced by several treatments: Evidence for a common neurobiological mechanism. *Science*. 201, 367-368.
- Gold P.E. and Zornetzer S.F. (1983). The mnemon and its juices: Neuromodulation of memory processes. *Behavior Neural Biology*. 38, 151-189.
- Gorelick D.A., Bozewicz T.R. and Bridger W.H. (1975). The role of the catecholamines in animal learning and memory. En: *Catecholamines and behavior* Friedhoff A. J (ed). Pleum. New York. 2, 30-150.
- Gray J.A. (1982). *The neuropsychology of anxiety*. Oxford University Press. Oxford.

- Grzanna R., Molliver M.E. and Coyle J.T. (1978). Visualization of central noradrenergic neurons in thick sections by the unlabeled antibody method: A transmitter specific Golgi image. *Proceedings National Academic Science USA*. 75, 2502-2506.
- Greenberg L.H., (1986). Regulation of brain adrenergic receptors during aging. *Federation Proceedings*. 45, 55-59.
- Gross G., Brodde O-E and Schumann H-J. (1981). Regulation of α_1 -adrenoceptors in the cerebral cortex of the rat by thyroid hormones *Naunyn Schmiedeberg's Archiw Pharmacology*. 316, 45-50.
- Handley S.L. and Mithani S. (1984). Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of "fear" motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiw Pharmacology* 327, 1-5.
- Hamilton C.A., Deighton N.M. and Reid J.L. (1987). Rapid and reversible desensitization of vascular and platelet α_2 adrenoreceptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiw Pharmacology*. 335, 534.
- Hartley E.J. and Seeman P. (1983). Development of receptor for dopamine and noradrenaline in rat brain. *Europe Journal Pharmacology*. 91, 391-397.
- Haycock J.W., Van Buskirk R. and McGaugh J.L. (1977). Effects of catecholaminergic drugs upon memory storage processes in mice. *Behavioral Biology*. 20, 281-310.
- Hollister L.E. (1987). *Principios de la drogas Psicotrópicas*. Panamericana (ed). España. 95-100.

- Hobson J.A., Mc Carley R.W. and Wyzinski P.W. (1975). Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neural groups. *Science*. 189, 55-58.
- Hoffman B.B., Lefkowitz R.J., (1991). Catecolaminas y drogas simpaticomiméticas. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica, Goodman y Gilman (eds) 8a ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. 196-227.
- Huchet A.M., Huguet F., Ostermann G., Bakri Logeais F., Schmitt H., and Narcisse G. (1983). Central α_1 -adrenoceptors and cardiovascular control in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *European Journal Pharmacology* 95, 207-213.
- Insel, P.A., and Harvey J.M. (1988). Regulationn of α_2 adrenergic receptors. En: The alpha₂ adrenergic receptor. Limbird E.L. (ed). The Human Press. 281-308.
- Jones L.S. and Gauger L.L. (1984). Anatomy of brain alpha α_1 -adrenergic receptors. En: In-vitro autoradiography with ¹²⁵I HEAT. *Journal Comparative Neurology*. 231, 190-208.
- Jones L.S., Miller G., Gauger L.L. and Davis L.L. (1985). Regional distribution of rat brain alpha₁ receptors. Correlation between ¹²⁵I-HEAT membrane binding and in vitro autoradiography. *Life Science*. 36, 45-51.
- Kafka M.S. Wirz-Justice A. and Naber D. (1981). Circadian and seasonal rhythms in α - and β -adrenergic receptor in the rat brain. *Brain Research* 207, 409-419.
- Kandel E.R. and Schwartz J.H. (1982). Molecular Biology of Learning: Modulation of transmitter release. *Science* 218, 433-

443.

- Kitsikis A., Roberge A.G., and Frenette G. (1972). Differential effects of L-DOPA on behaviour. *Experimental Brain Research*. 15, 315-321.
- Kupfermann R. (1981). Learning. En Kandel E.R. and Schwartz (eds). *Principles of neural science*. Elsierver North Holland. New York. 570-579.
- Kurt P. and Palfai T. (1978). Effects of reserpine on retention of escape reversal in mice: Absence of state dependent learning. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 91, 393-406.
- Koda L.Y., and Bloom F.E. (1977). A light and electron microscopic study of noradrenergic terminals in the rat dentate. *Brain Research*. 120, 327-355.
- Laconte P., and Hennevin E. (1981). Post-learning paradoxical sleep, reticular activation and noradrenergic activity. *Physiology and Behavior* 26, 587--594.
- Lands A.M., Arnold A., Meltuliff J.P., Luduena F.P. and Brown T. G. (1967). Differentiation of receptor systems activated by simpathomometric amines. *Nature*. 214, 597-598.
- Langer S.Z. (1974). Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochemical Pharmacology*. 23, 1793-1800.
- Lefkowitz R.J. (1978). Identification and regulation of alpha, beta-adrenergic receptor. *Federation Procceding American Experimental Biology*. 37 (21), 123-129.
- Lenard L. G. and Beer B. (1975a). 6-Hidroxidopamina and

- avoidance: Possible role of response suppression. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*. 3, 775-878.
- Lindvall O. and Björklund (1978). Organization of catecholamine neurons in the rat central nervous system. En: *Handbook of Psychopharmacology*. Iversen L.L., Iversen S.D. & Snyder (eds). Plenum New York. 9, 139-231.
 - Lomasney J.W., Cotecchia S, Lefkowitz R, Caron M.G. (1991). Molecular biology of α -adrenergic receptor: Implications for receptor classification and for structure-function relationships. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1095, 127-139.
 - Lowry, O.H., Rosenbrough F.A., Lewis and Randall R.J. (1951). Protein Measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193, 265-275.
 - Mackintosh N.J., (1974). The psychology of animal learning. Academic Press. New York. 127-200.
 - Mason S.T. (1984). Catecholamines and learning behaviour. En: *Catecholamines and behaviour*. Mason (ed) Cambridge University Press. 177-443.
 - Mason S.T. and Iversen S.D. (1979). Theories of the dorsal bundle extinction effect. *Brain Research Reviews*. 1, 107-137.
 - McGaugh J.L. (1989). Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Annual Review Neuroscience* 12, 255-287.
 - McGaugh J.L. (1973). Drug facilitation of learning and memory. *Annual Review of Pharmacology*. 13, 229-241.
 - McGaugh J.L. Gold P.E. (1975). Modulating influences of

- hormones and catecholamines on memory storage. En: Progress in brain research. 42. Hormones Homeostasis and Brain Gispen B. Th. Wimersma G. and (eds). Elsevier. Amsterdam. 151-162.
- Mc Grath J.C. (1983). The variety of vascular alpha-adrenoceptors. Trends in Pharmacological Sciences 4, 14-18.
 - Millan M.J. (1992). Evidence that an α_2 -adrenoceptor subtype mediates antinociception in mice. European Journal of Pharmacology. 215, 355-356.
 - Mitcham J.C. and Thomas R.K. (1972). Effects of sustancia nigra and caudate nucleus lesions on avoidance learning in rats. Journal of Comparative and Psychology. 81, 101-107.
 - Moore R.Y. (1982). Catecholamine neuron system in brain. Annals of Neurology. 12, 321-327.
 - Ogren S.O., Archer T. and Ross S.P. (1980). Evidence for a role of the locus coeruleus noradrenaline system in learning. Neuroscience Letters 20, 351-356.
 - Olton D.S. (1976). Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Process. 2, (2), 97-116.
 - Ortega S.A. (1987). Participación de los sistemas colinérgico-muscarínico y α_2 -noradrenérgico en dos tipos de aprendizaje. Tesis de Maestría. Cinvestav IPN. México.
 - Palacios J.M., Hoyer D. and Cortés R. (1987). α_1 -adrenoreceptors in the mamalian brain: Similar pharmacology but different distribution in rodents and primates. Brain Research. 419, 65-75.

- Perry B.D. and U'Prichard D.C. (1981). [³H]rauwolscine (alpha yohimbine): A specific antagonist radioligand for brain alpha₂ adrenergic receptors. *European Journal Pharmacology*. 76, 461-464.
- Prado-Alcalá. R.A., Grinberg Z.J., Arditti L.L., Garcia M.M., Prieto H.G. and Brust-Carmona H. (1975). Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of its corpus stratum in rats. *Physiology and Behavior*. 15, 283-287.
- Quartermain D. (1983). The role of Catecholamines in memory processing. En: *The physiological basis of memory*. Deutsch J.A. (ed): 387-423.
- Quartermain D., and Botwinick C.Y. (1975a). Role of the biogenic amines in the reversal of cycloheximide-induced amnesia. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 88, 386-401.
- Redmond D.E. Jr. (1979). New and old evidence for the involvement of a brain norepinephine system in anxiety. En: *Phenomenology and treatment of anxiety*. Fann W.G., Karacan I., Pokorny A.D. and Williams R.L. (eds). New York. 153-203.
- Regan W.J. (1988). Characterization of the receptor and its binding site: Biochemistry of alpha₂ adrenergic receptor. En: *The alpha₂ adrenergic receptor*. Limbird E.L. (ed). Human Press. 15-74.
- Ridley R.M., and Haystead A. T., Baker H.F. and Crow T.J. (1981). A new approach to the role of noradrenaline in learning: problem-solving in the marmoset after alpha-

- noradrenergic receptor blockade. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 14, 849-855.
- Roberts J. and Steinberg G.M. (1986). Effects of aging on adrenergic receptors. *simposia, Federation Procceding*. 45, 40-64.
 - Robson, R.D., Antonaccio M.J., Saelens J.K. and Liebman J. (1978). Antagonism by mianserin and classical α -adrenoceptor blocking drugs of some cardiovascular and behavioral effects of clonidine. *European Journal Pharmacology*. 47, 431-442.
 - Rose S.P.R. and Hamley J. (1980). Transcient increase in forbrain muscarinic receptors following passive avoidance learning in the young chick. *Neuroscience* 5, 169-172.
 - Ruffolo R.R. Jr. (1990). α_2 -adrenoreceptor agonists and antagonists. *Neurotransmissions: In Research Biochemicals Incorporated*. VI, (2), 1-8.
 - Sanger D.J. (1989). Discriminative stimuls effects of the α_2 -adrenoreceptor antagonism idazoxan. *Psychopharmacology*. 99, 117-121.
 - Sara S.J. (1991). Noradrenaline and memory neuromodulatory influences on retrainval. En: *Memory-Neurochemical and abnormal perspectives*. Wienman J. and Hunter J. (eds). Harwood Academic Press. 105-127.
 - Sara S.J., Devauges V. (1989). Idazoxan, an α_2 -Antagonist, facilitates memory retrieval in the rat. *Behavioral and Neural Biology*. 51, 401-411.
 - Sara S.J. and Deweer B. (1982). Memory retrieval enhanced by

- amphetamine after a long retention interval. Behavioral and Neural Biology. 36, 146-160.
- Savaki H.E., Kadekaro M., McCulloch J. and Sukoloff L. (1982). The central noradrenergic system in the rat: metabolic mapping with α -adrenergic blocking agents. Brain Research. 234, 65-79.
 - Scheinin H., Mac Donald E. and Sceinin M. (1988). Behavioural and neurochemical effects of atipamazole, a novel α_2 -adrenoceptor antagonist. European Journal of Pharmacology. 151, 35-42.
 - Serota R., Roberts R., and Flexner L., (1972). Acetoxycycloheximide-induced transient amnesia: Protective effects of adrenergic stimulants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 69, 340-342.
 - Siever L. (1987). Role of noradrenergic mechanisms in the etiology of the affective disorder. En: Psychopharmacology. Meltzer H.Y. (ed). Raven Press New York N.Y. 493-504.
 - Smith S.L. (1987). Progress on LPT at hippocampal synapsis post synaptic Ca^{++} trigger for memory storage. Trends in Neuroscience 10, 142-144.
 - Snyder D.W. and Reis D.J. (1975). Sudden death following bilateral lesions of nucleus of the locus coeruleus. Neuroscience Abstracts. 1, 425.
 - Sternberger L.A. (1979). Immunocytochemistry, 2nd Edition John Wiley. New York. 1-23.
 - Sutin T. and Minneman K.P. (1985). α_1 - and β -adrenergic receptors area regulated during both noradrenergic denervation

and hyperinnervation. *Neuroscience* 14, 973-980.

- Swann A.C., Grant S.J., Hattox S.E., and Mass J.W. (1981). Adrenoceptor regulation in rat brain: Chronic effects of α_1 or α_2 receptor blockers. *European Journal of Pharmacology*. 73, 301-305.
- Thoenen H., and Tranzaer J.P. (1973). The pharmacology of 6-hydroxydopamine. *Annual Review Pharmacology*. 13, 169-180.
- Tomlinson B.E., Irving D. and Blessed G. (1981). Cell loss in the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer type. *Journal Neurology Science*. 49, 419-428.
- Thompson R.F. and Donegan N.H. (1989). Learning and Memory. En: Learning and memory. *Encyclopedia Neuroscience*. Birkhauser Boston. 5-8.
- Unnerstall J.R. (1987). Localization the α_1 adrenergic receptor in the central nervous system. En: The α_1 adrenergic receptor. Ruffolo R.R.Jr. (ed). Human Press. 71-109.
- U'Prichard D.S., Greenberg D.A. and Snyder S.H. (1977). Binding characteristic of a radiolabelled agonist at central nervous system α_1 noradrenergic receptors. *Molecular Pharmacology*. 13, 454-473.
- U'Prichard D.S. (1977). Regional distribution of α_1 noradrenergic receptor binding in calf brain. *Brain research*. 138, 151-158.
- Wamsley J.K. (1984). Autoradiographical localization of cortical amine receptors. En: Monoamine innervation of

cerebral cortex. Descarries L. Reader T.R. and Jasper (eds).
Liss New York.

- Whittaker V.P. (1984). The synaptosomas. En: Handbook of
Neurochemistry, 2nd ed. Lajtha A. (ed). Plenum Press. New
York. 7

AGRADECIMIENTOS

- AL DR. VICTOR ALEMAN ALEMAN DIRECTOR DE ESTA TESIS POR SU APOYO Y ESTIMULO.
- A LA COMISION REVISORA DE ESTE TRABAJO Y A LOS PROFESORES-INVESTIGADORES DE LA MAESTRIA EN FARMACOLOGIA CONDUCTUAL DE LA ENEP-IZTACALA.
- A TODO EL PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA BIOFISICA Y NEUROCIENCIAS DEL CINVESTAV DEL IPN Y EN ESPECIAL A EL PERSONAL DEL LABORATORIO 38 DEL DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS, QUE PARTICIPARON DE ALGUNA FORMA EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.
- A LA BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA.