

46

27



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

RECUPERACION DE INFORMACION ESPACIAL:  
COMPARACION ENTRE EL EFECTO DE LA  
MICROINFUSION AGUDA DE ESCOPOLAMINA  
Y DE LA LESION ELECTROLITICA EN EL  
HIPOCAMPO DORSAL DE RATAS.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
LICENCIADO EN PSICOLOGIA

**P R E S E N T A**

**CESAR CASASOLA CASTRO**

DIRECTOR DE TESIS: DR. DAVID N. VELAZQUEZ MARTINEZ



MEXICO, D. F.

1998

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**  
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

*EN MEMORIA DE*

**CHARLES DARWIN**  
**(1809-1882)**

**LOUIS PASTEUR**  
**(1822-1895)**

## AGRADECIMIENTOS

A

Mi madre Estela Castro por su cariño, fortaleza y sus propios logros.  
Mi padre Oscar Casasola por su cariño, principios y resguardo.

Mis hermanos: Oscar por su cariño (y por aguantarme).  
Heriberto por ser un modelo implícito.  
Clara por sus cuidados.  
Mi abuela: Teresa por sus cuidados y cariño.  
Mis Abuelos Aurora y Honorato por su cariño.

Al Dr. David N. Velázquez M. por su apoyo, sus conocimientos y su amistad.

A la Dra. Marcela López C. por su apoyo y orientación.

Al Mtro. Gustavo Bacha M. por su metodología y por su excelente docencia.

Al Dr. Miguel Luján E. por su confianza, apoyo y acertadas indicaciones.

A la Mtra. Julieta Ramos L. por la atención a la presente tesis y su profesionalismo.

Al Mtro. Sergio Meneses O. por la revisión inicial a la presente tesis y por su orientación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.  
A la Fundación UNAM por el apoyo a la presente.

A

Antonio Trejo	(hermano enfados).
Rocio Ayala	(pillina hel!).
Elí Paredes	(un guerrero).
Raúl Reducindo	(Redu).
J. Carlos Pantoja	(¡Joven!).
Heriberto Martínez	(R. Steel).
Adela Mendoza	(racionalidad rusa).
Lilia Botello	(arriesga el físico!).
Antonio Paredes	(entre la filosofía y la fisicocultura).
Alberto Jiménez	(pequeño Larousse ilustrado).
Edith Rivera	(x la no soledad en los 40's).
Lourdes Arenas.	
Oscar Zamora.	
Yolanda del Río.	

Patricia Martínez. Que a pesar de la fuerza en sus decisiones es mi colega preferida.

A ustedes por enriquecer mi vida y por su relevancia en ella.

A mis entrañables amigos:

Elizabeth Durán, Armando Arvide, L. Flavio Romero, Yolanda Velázquez, Claudia Jiménez y Antonio Jiménez.

A

Sheyla Mejía. por el cúmulo de experiencias.

A mis queridas compañeras y amigas:

Gabriela Orozco y Alicia Vélez.

Y especialmente a Sandra Márquez, con todo cariño.

## INDICE.

RESUMEN.	
I. INTRODUCCIÓN.	3
II. HIPOCAMPO.	5
III. HIPOCAMPO Y MEMORIA EN HUMANOS.	7
III.I. Hipocampo y memoria: sistema colinérgico.	8
IV. HIPOCAMPO Y MEMORIA EN PRIMATES NO HUMANOS.	10
V. HIPOCAMPO Y MEMORIA EN ROEDORES.	12
V.I. Hipocampo y memoria espacial.	12
V.II. Hipocampo y memoria: sistema colinérgico.	13
V.III. Hipocampo y memoria: estudios con escopolamina.	14
VI. RECEPTOR MUSCARÍNICO Y ESCOPOLAMINA.	16
VII. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.	19
VIII. EXPERIMENTO 1.	22
Objetivo.	22
Hipótesis.	22
Método.	22
Procedimiento.	23
Resultados.	26
Discusión.	32
IX. EXPERIMENTO 2.	34
Antecedentes.	34
Objetivo.	34
Hipótesis.	34
Método.	34
Procedimiento.	35
Resultados.	38
Discusión.	43
X. CONCLUSIONES.	45
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	46

## RESUMEN.

La memoria es un proceso vital, de orden adaptativo. Los animales reciben, almacenan y recuperan información sobre sí mismos y sobre el medio ambiente en que existen, lo cual les permite desarrollarse e interactuar con dicho medio ambiente, posibilitando su adaptación y por tanto, su sobrevivencia.

La investigación neurofisiológica sobre la memoria ha documentado ampliamente la importancia de la integridad del hipocampo y la participación del sistema colinérgico en esta área, sobre la ejecución en tareas de memoria espacial. El presente estudio tiene como objetivo evaluar y comparar el efecto de la lesión con el de la administración de un antagonista colinérgico muscarínico (escopolamina) en el hipocampo dorsal, sobre la ejecución en una tarea que requiere la localización de fuentes constantes de alimento previamente aprendidas.

Se utilizaron 35 ratas macho Wistar, de 250-300 g. Los sujetos (ratas) fueron entrenados en una tarea que requería que se localizaran, de entre 20 opciones (tubos), a 3 que contenían leche azucarada (2.0 ml). Los tubos se encontraban distribuidos en las paredes de la cámara de registro y la ubicación de los 3 tubos con el reforzador fue siempre constante. Dos observadores independientes realizaron registros conductuales de los sujetos (Ss) durante las sesiones de entrenamiento y las sesiones prueba. Se recolectaron datos respecto al tiempo requerido para localizar los 3 tubos que contenían el reforzador. Una vez que los Ss aprendieron la tarea, fueron asignados a 5 grupos de 7 Ss cada uno: a) un grupo íntegro, b) un grupo con lesión falsa en el hipocampo dorsal, c) un grupo con lesión en esta área, d) un grupo al cual se le inyectó el vehículo de la droga (2.0 µl de solución salina) en el hipocampo dorsal y e) un grupo que recibió una microinfusión de escopolamina (15 µg/2.0 µl de solución salina) en este mismo sitio.

Después de que los Ss se recuperaron de las manipulaciones quirúrgicas, se realizaron sesiones prueba para evaluar el efecto de la lesión y del bloqueo del sistema colinérgico en el hipocampo dorsal, sobre la ejecución en la tarea. Los resultados obtenidos, demuestran que el grupo en el cual se llevó a cabo la lesión y el grupo que recibió la microinfusión de escopolamina, presentaron una deficiencia en la ejecución de la tarea. En el grupo con lesión se observó un incremento respecto a sus grupos control (lesión falsa e íntegro) de alrededor de 25 seg (5 veces mayor) en el tiempo requerido para localizar los bebederos (latencia) durante la primera sesión prueba.

Para el grupo con administración de escopolamina el incremento en la latencia, respecto al grupo con infusión control, fue de alrededor de 23 seg. (aproximadamente 3 veces mayor) durante la primera sesión prueba. En ambos grupos la comparación estadística (Duncan) con sus respectivos grupos control presenta diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En las sesiones prueba subsecuentes los grupos con lesión y microinfusión de escopolamina continuaron presentando alteraciones en la ejecución de la tarea, no obstante se observó en ellos una recuperación funcional parcial, probablemente asociada a procesos de plasticidad cerebral.

Las observaciones obtenidas en el presente experimento concuerdan con los estudios que reportan la participación del hipocampo en memoria espacial (Goodlett et al., 1989; Hagan y Beaughard, 1990) y con los estudios que sugieren la participación del sistema colinérgico metabotrópico en esta región como sustrato neuroquímico en la recuperación de información espacial (Piercey et al., 1987; Givens y Olton, 1990).

Finalmente, la deficiencia en la recuperación de información observada con el bloqueo muscarínico en el hipocampo dorsal es similar al déficit producido por la lesión de tejido hipocampal. Esto señala que el bloqueo de la actividad colinérgica muscarínica, tiene repercusiones de una importancia comparable a la destrucción global de tejido en esta área sobre la recuperación de información espacial.



## I. INTRODUCCIÓN.

Los organismos están constituidos de manera particular para lograr su adaptación y sobrevivir dentro del medio ambiente en que existen. Las características del medio prácticamente han determinado el éxito y la conservación de la estructura y organización funcional de los sistemas que los conforman; desde la delgada membrana que protege el contenido intracelular en una bacteria, pasando por el complejo sistema homeostático que le asegura al individuo conservar sus niveles vitales, hasta las modalidades sensoriales y motoras con las que un organismo se desarrolla. Incluso los llamados procesos superiores, que comparten los organismos filogenéticamente más avanzados, responden a las restricciones del medio e interactúan con él en función de las necesidades del organismo. Con la ayuda de estos procesos los individuos localizan un lugar seguro para vivir, escapan de sus depredadores, obtienen los alimentos, encuentran una pareja, se reproducen y aseguran la continuidad de su especie.

En particular, a lo largo de su vida, los organismos se enfrentan con un medio ambiente complejo, lleno de eventos y relaciones entre eventos, por lo cual deben de contar con la posibilidad de lograr cambios en sus respuestas a tales eventos y relaciones. Debido a esta capacidad, las experiencias que un animal tenga pueden modificar su sistema nervioso y, posteriormente, como resultado de tal modificación comportarse de manera diferente. Esta capacidad adaptativa requiere del organismo las habilidades de aprendizaje y memoria (Squire, 1987).

La memoria, por su parte, es un proceso amplio y complejo, que involucra la persistencia de información en el organismo; como señala Squire (1987): "El aprendizaje es el proceso de adquirir nueva información, mientras que la memoria se refiere a la persistencia del aprendizaje en un estado en el cual puede ser revelado en un tiempo posterior". John (1977), define memoria como el proceso de almacenamiento de información con la recuperación deliberada de la misma, involucrando el recuerdo de experiencias pasadas. Luria (1980), considera a la memoria humana como una actividad cognoscitiva compleja que transcurre en una serie de etapas sucesivas y que consiste en la inclusión progresiva del material en un sistema complejo de relaciones, involucrando procesos de conservación y de reproducción o evocación del material. Estas definiciones sostienen, entre otros puntos comunes, que la información adquirida se encuentra almacenada a lo largo de cierto tiempo, de hecho Atkinson y Shiffrin, en 1968, proponen un modelo de la memoria que se basa, entre otras cosas, en el tiempo de permanencia de la información, es decir: 1) memoria sensorial (icónica y ecónica) con una duración de alrededor de un segundo, dependiendo de la intensidad del estímulo y su duración; 2) memoria a corto plazo en donde la duración de la información es aproximadamente de 15 a 20 segundos y 3) memoria a largo plazo en la cual la información almacenada

es relativamente permanente (De Vega, 1986). La idea de persistencia de la información, forzosamente nos conduce entre otras preguntas a: ¿En dónde se almacena tal información? y ¿Qué mecanismos intervienen en el proceso?, el intento de solución para estas interrogantes ha sido abordado por diversas aproximaciones teóricas junto con sus respectivas técnicas. A pesar del amplio aporte de conocimientos que estas aproximaciones han arrojado sobre el tema, no se cuenta aún con una solución completa y definitiva sobre el lugar donde se almacena tal información y aún menos sobre los mecanismos involucrados.

Sin embargo, considerando la naturaleza adaptativa de la memoria, resulta adecuado recurrir a una aproximación biológica sobre la materia. Así, la neurofisiología como ciencia biológica y como aproximación física, debe considerar los substratos celulares y moleculares sobre los cuales la memoria se basa y cómo estos substratos conciernen a nuestra habilidad de recordar (Woody, 1982). En este sentido, la incursión que la neurofisiología ha realizado sobre el estudio de la memoria, ofrece una perspectiva bastante prometedora para el conocimiento de las estructuras y mecanismos que le subyacen.

El estudio neurofisiológico de la memoria, en su interés por la búsqueda de las bases neuroanatómicas y neuroquímicas de este proceso, ha centrado una gran cantidad de investigación en una estructura cerebral que recibe el nombre de hipocampo.

En la literatura sobre el área se ha descrito ampliamente la participación del hipocampo en procesos cognitivos, particularmente en procesos como el aprendizaje y la memoria. La documentación sobre la participación del hipocampo en procesos de memoria abarca a varias especies, entre otras a humanos, monos y ratas, además, comprende varios niveles de análisis: neuroanatómico, electrofisiológico y neuroquímico. En este último, la investigación se centra en la influencia de los sistemas de neurotransmisión sobre el hipocampo en su relación con procesos mnémicos y, de acuerdo con lo reportado en varios estudios, la acetilcolina juega un papel importante en este sentido.

Con base en lo anterior, en el presente estudio se analizó, en ratas, la participación del hipocampo dorsal y de su sistema colinérgico muscarínico como sustrato neuroanatómico y neuroquímico respectivamente, en la recuperación de información espacial. Específicamente, se evalúa el efecto de la lesión electrolítica en el hipocampo dorsal y de la administración en esta misma área, de un antagonista colinérgico competitivo para receptores muscarínicos (escopolamina), sobre la ejecución de un grupo de ratas en una tarea de memoria espacial previamente aprendida. Así mismo, se compara también el efecto de la lesión electrolítica con el efecto de el bloqueo muscarínico en esta región.

## II. HIPOCAMPO.

En la especie humana, el hipocampo es una estructura cerebral que se localiza en el lóbulo temporal de ambos hemisferios. Se ubica en el piso y la pared medial de la prolongación temporal del ventrículo lateral, está constituido por arquipalio (que corresponde a la corteza filogenéticamente más primitiva) y posee una corteza trilaminar muy primitiva a nivel del giro dentado y del asta de Ammon, pero en el subiculum hay una zona transicional hacia la corteza neopallial compuesta de seis capas.

El hipocampo presenta tres zonas: el giro dentado, el asta de Ammon y el subículo, a su vez el asta de Ammon se divide en varios campos: CA1, CA2, CA3 y CA4, mientras que al subículo se le consideran las siguientes partes: parasubículo (contiguo a la corteza entorrinal), presubículo, subículo y prosubículo este último separado del giro dentado por la cisura hipocámpica (López Antúnez, 1986). Otros autores prefieren denominar a estas tres zonas (giro dentado, asta de Ammon y subículo) junto con la corteza entorrinal principalmente, como formación hipocámpica, reservando para el asta de Ammon el término de hipocampo propiamente.

Entre los neurotransmisores que se encuentran presentes en el hipocampo destacan el glutamato, la acetilcolina, serotonina y catecolaminas. La presencia de glutamato en células del hipocampo ha sido reportada en una gran cantidad de estudios, principalmente en los relacionados con los fenómenos electrofisiológicos en células hipocámpicas. Se ha descrito la existencia de las dos clases de receptores del glutamato; NMDA y no-NMDA, en neuronas de CA1 y giro dentado principalmente (Nicholls et al., 1992). La acetilcolina es un neurotransmisor importante en el hipocampo, el cual se distingue como una área cerebral particularmente rica en receptores para este neurotransmisor. Estudios farmacológicos y electrofisiológicos han mostrado claramente que esta área contiene tanto receptores nicotínicos como muscarínicos (Palacios y Mengod, en Chan-Palay y Köhler, 1989, pag. 207-224). La marcada presencia de receptores colinérgicos se debe a que el hipocampo recibe inervaciones de los dos núcleos colinérgicos más importantes: del núcleo septal, a través de la fimbria-fornix y del núcleo basal de Meynert; la lesión en cualquiera de estos dos núcleos reduce en grandes proporciones los niveles de acetilcolina en esta estructura. La presencia de serotonina se debe a las proyecciones que recibe del núcleo de Rafé rostral a través del fascículo medio del cerebro anterior. Mientras que la presencia de catecolaminas se explica por las proyecciones provenientes de núcleos ubicados en el tallo cerebral, entre ellos el locus coeruleus (Nicholls et al., 1992).

Las vías de entrada y salida más importantes del hipocampo con la neocorteza es la fimbria y las conexiones a través de la corteza entorrinal. En la rata neuronas de la corteza entorrinal relevan información de entrada a través de la vía perforante hacia las células granulares del giro dentado. Estas neuronas mandan axones llamadas fibras de mossy a la región CA3, donde hacen sinapsis con las espinas dendríticas de las células piramidales. Los axones de las células piramidales de la región CA3 se ramifican en dos direcciones. Una de las ramificaciones, conocida como las colaterales de Schaffer, proyectan a la región CA1, donde hacen sinapsis con otras células piramidales. Los axones en la otra ramificación, proyectan al septum y a los cuerpos mamilares, vía el fórnix. La región CA1 también recibe entradas del hipocampo contralateral, a través del sistema comisural de Schaffer. Las células piramidales de la región CA1 envían axones a las neuronas en el complejo subícular. Los axones de estas neuronas proyectan fuera de la formación hipocámpal vía la corteza entorrinal y también a través de la fimbria (Carlson, 1994).

En relación con otras especies, el hipocampo humano presenta características morfológicas similares al hipocampo de los mamíferos inferiores, dado que también está constituido por arquipalio, presenta una corteza trilaminar y posee, en general, las mismas zonas (giro dentado, CA1, CA2, CA3, CA4 y subículo). De hecho el desarrollo embrionario del hipocampo humano es muy similar al de la rata (Carlson, 1994). Con respecto a los sistemas de neurotransmisión en el hipocampo y conexiones, estos también se han descrito similares entre los mamíferos.

### III. HIPOCAMPO Y MEMORIA, HUMANOS.

A partir de los estudios neurofisiológicos de William Scoville y Brenda Milner con el paciente H.M. en 1957, se demostró de manera convincente que la memoria depende de la integridad del lóbulo temporal medio y en particular del hipocampo: El paciente H.M. de 29 años padecía de severos ataques epilépticos, habiéndose mostrado refractario a todo tipo de tratamiento se le realizó, como medida terapéutica, la extracción bilateral del lóbulo temporal medio, a una distancia posterior de 8 cm. desde la punta de este lóbulo, abarcando dos tercios anteriores del hipocampo junto con el giro hipocampal. Posteriormente a la cirugía, este paciente presentó una pérdida completa de la memoria para eventos subsecuentes a la intervención (inicialmente se reportaron 19 meses); H.M. se mostró incapaz de reconocer al personal del hospital, de encontrar el camino al baño y, al parecer, no podía recordar nada de los eventos diarios de su vida en el hospital; tampoco fue capaz de recordar la localización de objetos de uso diario en su hogar ni de aprender la nueva dirección a su casa, a la cual se habían mudado recientemente y que incluso se ubicaba sobre la misma calle de su antiguo hogar. Los defectos en la memoria de este paciente fueron persistentes y no mostraron mejoría alguna con el paso del tiempo. El paciente H.M. presentó también una amnesia retrógrada parcial que abarcó aproximadamente, los 3 años previos a la operación, no obstante, las memorias tempranas (más antiguas) aparentemente permanecieron normales. No se reporta ningún daño a la personalidad o a la inteligencia en general del paciente.

Cuidadosos estudios posteriores con pacientes amnésicos han reafirmado la importancia del hipocampo en la memoria: Zola-Morgan et al. (1986) reportaron el caso del paciente R.B., el cual padeció amnesia en 1978 a la edad de 52 años como resultado de un evento de isquemia tras una operación del corazón, durante los 5 años que sobrevivió después de dicho evento, sus funciones cognitivas fueron repetidamente evaluadas, el único déficit cognitivo notorio, fue un daño moderadamente severo en la memoria. El examen postmortem del cerebro del paciente R.B. reveló una lesión en la región CA1 del hipocampo, la lesión fue bilateral y abarcaba completamente la extensión rostro-caudal del hipocampo. Squire (1992) demostró a través de imágenes por resonancia magnética, serias anomalías en el hipocampo de 4 pacientes con trastornos circunscritos de memoria; específicamente, en estos pacientes la región del hipocampo (definida como la fimbria, giro dentado, subículo y asta de Ammon) aparecía marcadamente atrofiada (57% menos del tamaño normal). Kesslak et al. (1991) basándose también en el escudriñamiento con resonancia magnética, encontraron una disminución del 40% en el tamaño del hipocampo y giro parahipocampal en 8 pacientes con enfermedad de Alzheimer; estos pacientes presentaban disfunciones cognitivas principalmente de memoria.

Otros autores han reportado correlaciones entre alteraciones en memoria verbal y lesiones o cambios morfológicos en hipocampo (Tranel, 1991; Sass et al., 1990). Smith y Milner (1989) investigaron la reevocación de localizaciones espaciales en 27 pacientes (entre 15 y 41 años de edad) con lesión en el lóbulo temporal derecho o izquierdo, los resultados sugirieron que estructuras hipocampales, particularmente del lóbulo derecho, participan en los procesos de asociación entre representaciones de objetos y lugares.

### III.I. HIPOCAMPO Y MEMORIA: SISTEMA COLINÉRGICO.

La comprensión de la fisiología del sistema nervioso implica el estudio de la participación de los sistemas de neurotransmisión; estos sistemas actúan como mediadores de la actividad neuronal. La comunicación neuronal se realiza a través de las sinapsis y el principal medio usado en la transmisión sináptica es la liberación y recepción de un compuesto químico. Estos compuestos químicos, denominados neurotransmisores, son capaces de controlar la conducta de células neuronales, órganos o del animal entero.

En relación a la neurofisiología de la memoria es importante identificar cual es la naturaleza de la transmisión neuronal, qué neurotransmisores están involucrados y la forma en que ejercen su participación.

La propuesta de una relación entre el hipocampo y la acetilcolina en la memoria no es nueva; en 1964, Meyers y Domino postulan una teoría colinérgico-hipocampal de memoria (Piercey et al., 1987). Estudios más recientes han documentado una participación importante del sistema colinérgico central en las capacidades cognoscitivas y mnémicas del ser humano (Dunnell, 1991; Fibiger, 1991). En pacientes con la enfermedad de Alzheimer, los cuales presentan una atrofia cortical principalmente en el lóbulo frontal e hipocampo, junto con una pérdida marcada de la memoria en la fase inicial de la enfermedad, se ha descubierto que estos pacientes presentan un decremento importante en los niveles de colina acetiltransferasa en la corteza cerebral y en el hipocampo. La colina acetiltransferasa es una enzima que cataliza la síntesis de acetilcolina, por lo tanto, el índice bajo de este marcador indica una reducción en la actividad colinérgica presináptica, lo cual se debe principalmente a la atrofia en las neuronas del núcleo basal de Meynert, que es la principal fuente de acetilcolina para la corteza y el hipocampo (Bowen et al., 1983; Goldman y Côté, en Kandel et al., 1991). Este descubrimiento motivó la realización de estudios con fármacos que actúan sobre el sistema colinérgico. Se ha reportado que la aplicación del antagonista colinérgico escopolamina, produce amnesia en sujetos normales (Squire, 1987; Goldman y Côté, en Kandel et al., 1991), siendo capaz de interrumpir la adquisición y ejecución de conductas aprendidas (Nicholls, 1992).

El decremento de los niveles de acetilcolina en el hipocampo junto con los hallazgos de los efectos de antagonistas colinérgicos, indican la importancia de la acetilcolina en los trastornos de memoria. No obstante, éstos hallazgos no indican que éste sistema de neurotransmisión sea el único involucrado en trastornos amnésicos y mucho menos que sea la causa principal del deterioro cognitivo propio de los sujetos con la enfermedad de Alzheimer.

#### IV. HIPOCAMPO Y MEMORIA: PRIMATES NO HUMANOS.

La participación del hipocampo en memoria no sólo ha sido referida en estudios con pacientes humanos, la literatura al respecto se ha generalizado a otras especies, entre ellas, a las filogenéticamente más cercanas al hombre: los monos o primates no-humanos. En 1978, se reportó el intento de imitar en monos la lesión quirúrgica del lóbulo temporal medio, realizada en el paciente H. M. La lesión en los monos incluía la amígdala, el hipocampo (incluyendo el giro dentado y el subículo) y regiones corticales circunvecinas; esta publicación de Mishkin en 1978, fue la primera en una nueva era de investigación sobre la anatomía de la memoria, dado que señaló el exitoso desarrollo de un modelo animal de amnesia humana en un primate no-humano. La lesión de Mishkin fue utilizada como modelo en varios estudios posteriores, no obstante, estudios más recientes en monos con lesiones más restringidas, han confirmado que la integridad del hipocampo es requerida para la ejecución de tareas asociadas a memoria, tareas que también son pobremente ejecutadas por pacientes humanos amnésicos (Squire, 1992).

No-Igualación a la muestra demorada, es una tarea sensible a lesiones en el hipocampo, la cual, requiere que el animal recuerde un estímulo y lo reconozca después de un período en el que está ausente; el reconocimiento del estímulo se prueba presentando al animal dos estímulos de comparación (el presentado con anterioridad y otro), recompensándolo cuando elige al estímulo diferente al familiar. En la ejecución de esta tarea, varios autores han encontrado diferencias significativas entre monos sin lesión y monos con lesión en el hipocampo (junto con el giro dentado y el subículo) principalmente, en estos estudios los monos con lesión obtienen puntajes muy inferiores a los controles (Overman et al., 1990; Diamond et al., 1989; Zola-Morgan y Squire, 1986).

La recuperación de información recientemente adquirida antes de una lesión en el hipocampo, es una de las deficiencias presentes en pacientes amnésicos humanos (memoria retrógrada). Zola-Morgan et al. (1990) estudiaron memoria retrógrada en monos, a través de una tarea de discriminación de pares de objetos. En este estudio los sujetos fueron entrenados hasta que aprendieron a discriminar 100 pares de objetos, distribuidos en 5 grupos de 20 pares de objetos diferentes. El entrenamiento respectivo para cada grupo de pares de objetos comenzó 16, 12, 8, 4 y 2 semanas antes de realizar una lesión en la formación hipocampal. Zola-Morgan et al. encontraron que los sujetos con lesión hipocampal presentaron severos daños en el recuerdo de los pares de objetos aprendidos recientemente. Los resultados mostraron que en esta especie, la formación hipocampal es requerida en la memoria retrógrada de manera similar a la observada en los humanos.



Estudios electrofisiológicos con monos han reportado actividad en neuronas del hipocampo durante tareas que involucran procesos de memoria. Wilson (1990) utilizó una tarea modificada de igualación a la muestra demorada, en la cual 2 estímulos presentados secuencialmente se comparaban en cada ensayo. En esta tarea una condición de igualación requería la presión de la palanca derecha, mientras que la condición de no-igualación requería la presión sobre la palanca izquierda. Wilson reportó que el 40.2 % de las neuronas registradas en la formación hipocampal presentaron una actividad neuronal alta relacionada a la respuesta conductual; para el 58.9% de las neuronas con actividad relacionada, el cambio en la actividad asociado con las respuestas conductuales fue mayor que durante la presentación del estímulo sensorial. La actividad de 198 neuronas (26.9%) fue diferencial entre los ensayos de ir a la izquierda (no-igualación), o ir a la derecha (igualación). Wilson señaló que la producción de respuestas espaciales, el establecimiento de respuestas condicionadas y la capacidad de retener una respuesta aprendida para ser ejecutada después de una demora en la ausencia de una señal sensorial, son características conductuales de la tarea que pueden ser las responsables de la actividad neuronal relacionada a la respuesta.

Watanabe y Niki (1985) registraron actividad unitaria en células del hipocampo de monos durante la ejecución de una tarea de respuesta demorada. Estos autores señalaron un total de 277 neuronas que mostraron cambios en la tasa de respuestas en relación con los eventos de la tarea. La tasa de respuestas del 43.4 % de las células incremento o decremento preferencialmente durante el periodo de la demora. Algunas unidades mostraron un patrón diferencial de disparo durante el periodo de la señal o de la demora dependiendo de la posición espacial de la señal. La observación de células que presentaron actividad diferencial durante los periodos de la señal y de la demora, de acuerdo con la localización de la señal, indica que las células con actividad relacionada a la señal podrían estar codificando la localización del estímulo, mientras que las células con actividad relacionada a la demora podrían funcionar como un código mnémico guiando a la respuesta correcta.

El registro eléctrico de neuronas en el hipocampo de monos durante tareas que involucran memoria espacial, ha confirmado la presencia de actividad neuronal importante en esta zona asociada a respuestas espaciales; se ha reportado la actividad de neuronas en respuesta a la posición del estímulo en el espacio y al recuerdo de dicha posición del estímulo (Cahusac et al., 1989; Feigenbaum y Rolls, 1991).

## V. HIPOCAMPO Y MEMORIA: ROEDORES.

Una gran parte de los estudios sobre memoria se realizan en roedores, dado el amplio margen de manipulación que esta especie permite y por el éxito que sobre ellas se ha obtenido en la producción de alteraciones mnémicas a través de diversas técnicas y en una amplia variedad de tareas. Con frecuencia se ha documentado la participación del hipocampo de esta especie en la ejecución de tareas que requieren el uso de procesos mnémicos; así, la integridad del hipocampo parece ser una condición indispensable para conservar la información adquirida a través de las experiencias del animal.

Se ha demostrado que ratas con lesión en el hipocampo presentan trastornos en la retención y recuperación de información adquirida antes o después de una lesión, estos trastornos o daños en la memoria se han reportado en tareas que pretenden semejanzas con las tareas utilizadas en otras especies y que, finalmente, tratan de representar a las situaciones en las que los humanos con daño hipocampal generalmente presentan deficiencias. En la ejecución de una tarea de discriminación condicionada y en problemas de alternancia demorada a intervalos variables, las ratas con lesión en el hipocampo mostraron un deterioro cuando se requirió de demoras relativamente largas entre los estímulos, señalando la importancia del hipocampo en el recuerdo de eventos específicos (Winocur, 1991). En las tareas de igualación y no-igualación a la muestra demorada, en las cuáles tanto monos como pacientes amnésicos presentan una ejecución errónea, la lesión en el hipocampo de ratas produce trastornos en la adquisición y retención de dichas tareas (Peinado, 1990), mostrándose incapaces de readquirirlas posteriormente, cuando éstas han sido aprendidas antes de la lesión (Jaglelo, 1990). Utilizando el paradigma de preferencia de alimentos, Winocur (1990) ha señalado la presencia de amnesia anterógrada y retrógrada en ratas con lesión en el hipocampo. De manera consistente, otros autores han encontrado actividad eléctrica en las capas CA1 y CA3 asociada a procesos mnémicos en ratas (Sakurai, 1990; Edeline et al., 1990).

## V.I. HIPOCAMPO Y MEMORIA ESPACIAL.

Los conceptos de espacio y tiempo se presentan de manera intrínseca cuando se hace referencia al suceder de los eventos en el medio ambiente. Considerando la relación organismo-ambiente, la sensibilidad de los organismos ante tales propiedades es indispensable en términos adaptativos; los animales construyen y almacenan representaciones de su ambiente espacial a través de su experiencia con el objetivo de predecir dónde toman lugar los eventos, ésta capacidad finalmente les da la posibilidad de encontrar su alimento, localizar su madriguera y en general, de adaptarse espacialmente a su entorno.

Experimentalmente, se ha distinguido a los procesos de recibir, almacenar y recuperar información espacial como memoria espacial y una gran parte del estudio de estos procesos se ha llevado a cabo en roedores, como modelos experimentales.

La evaluación de la memoria espacial en ratas se realiza generalmente, a través del uso de laberintos, en los cuáles se requiere que el animal aprenda la localización de determinados estímulos o aprenda las rutas adecuadas para la solución del laberinto, para lo cual, las ratas utilizan señales como referencias en la elaboración de representaciones espaciales. En laberintos de agua donde los sujetos requieren recordar la localización de una plataforma de escape, se ha demostrado que ratas con lesión en el hipocampo (Goodlett et al., 1989), o lesión por isquemia en la capa CA1 del hipocampo dorsal (Hagan y Beaughard, 1990), presentan deficiencias en la recuperación de información a largo plazo y afecciones en memoria tanto de trabajo como de referencia, respectivamente. Eichenbaum et al. (1990) reportaron que ratas con lesión en la fimbria fórnix muestran una alta incidencia de errores en la ruta de escape en un laberinto de agua, particularmente cuando la tarea demandaba el uso de una representación basada en relaciones entre múltiples señales de referencia, señalaron también que la lesión deteriora el uso flexible de la información aprendida. En laberintos radiales, las ratas que fueron sujetas a una lesión en el hipocampo, presentaron alteraciones en la memoria de trabajo y en la formación de representaciones cognitivas (Okaichi y Oshima, 1990); aún cuando la lesión fue realizada después del entrenamiento, la ejecución fue severa y permanentemente alterada (Becker et al., 1980). Lesiones más restringidas del hipocampo realizadas en el giro dentado con colchicina (una toxina que afecta el sistema de microtúbulos en las células causando su destrucción) han afectado la adquisición y retención de información espacial en un laberinto de agua de Morris (Nanry et al., 1989) y la memoria de trabajo en un laberinto en T (Emerich y Walsh, 1989).

## V.II. HIPOCAMPO Y MEMORIA: SISTEMA COLINÉRGICO.

Los descubrimientos sobre las alteraciones en los niveles de neurotransmisores (acetilcolina y serotonina, principalmente) en pacientes con Alzheimer, los trastornos amnésicos asociados a la atrofia en el núcleo basal de Meynert y los efectos amnésicos como resultado de la administración de escopolamina en sujetos normales, han motivado el interés en el estudio colinérgico de procesos mnémicos en el hipocampo de roedores; los resultados obtenidos indican una relación importante entre la memoria y la actividad colinérgica en el hipocampo de estas especies.

Con respecto a la relación entre acetilcolina y memoria en ratas, Olton (1990) reportó que lesiones en el núcleo basal magnocelular (análogo al núcleo basal de Meynert en el humano) y en el área septal media de ratas, reproducen

los síntomas conductuales de las lesiones en la corteza frontal y el hipocampo y que la lesión en el sistema colinérgico basal en la región anterior del cerebro, induce trastornos en memoria reciente semejantes a los presentados en pacientes con enfermedad de Alzheimer en etapas tempranas de la enfermedad. El área septal media, junto con el núcleo basal magnocelular, son las fuentes colinérgicas más importantes que inervan al hipocampo en la rata. Mayo (1989) sugirió que la lesión en el núcleo basal magnocelular y la lesión en el área septal media afectan la memoria de referencia y de trabajo, respectivamente. La conexión entre el área septal media y el hipocampo se realiza a través del fórnix, esta importante cantidad de aferentes colinérgicas que envía el área septal media son recibidas por el hipocampo en la limbría del fórnix. Los estudios con disección de la fimbria, han demostrado una pronunciada denervación colinérgica, predominantemente en la parte ventral del hipocampo, indicada por la reducción de acetilcolinesterasa, enzima que degrada a la acetilcolina. Esta denervación colinérgica ha sido asociada con trastornos en la adquisición de una tarea de discriminación espacial, implicando la alteración de la memoria de trabajo y memoria de referencia en las ratas (Van-der-Staay et al., 1989). Piercey et al. (1987) reportaron un decremento en la actividad metabólica energética en las regiones CA1, CA2, y CA3 del hipocampo asociado a un efecto amnésico como resultado de la administración de escopolamina en ratas. La depresión que se observó en el metabolismo de la glucosa en estas regiones después del tratamiento con escopolamina, sugiere que el efecto amnésico de la escopolamina se debe al bloqueo de la función colinérgica en el hipocampo.

Por otra parte, la realización de trasplantes de neuronas colinérgicas del área septal en el hipocampo de ratas que fueron previamente lesionadas, produjeron una recuperación conductual en la ejecución de tareas espaciales, sugiriendo que el restablecimiento de acetilcolina en el hipocampo lesionado produjo una mejoría en la memoria espacial de las ratas (Bond et al., 1989; Ikegami et al., 1989).

### V.III. HIPOCAMPO Y MEMORIA ESPACIAL: ESTUDIOS CON ESCOPOLAMINA.

El uso de fármacos se ha convertido en una de las herramientas más útiles en el estudio de eventos bioquímicos. Dentro de la neurofisiología el análisis farmacológico se ha desarrollado ampliamente abarcando, prósperamente, el estudio de la neurotransmisión asociada a procesos cognitivos y emocionales así como la de sus patologías. Un punto de especial interés en la investigación farmacológica es la forma en la cual los fármacos interfieren o facilitan con la comunicación neuronal y el efecto a nivel conductual del tratamiento farmacológico.

Algunos estudios han mostrado que agentes antimuscarínicos tales como la escopolamina y la atropina son capaces de alterar tanto la adquisición como la ejecución de una cierta variedad de conductas aprendidas. En contraste, compuestos como la fisostigmina, que inhibe a la enzima que cataboliza a la acetilcolina: la acetilcolinesterasa, es capaz de fortalecer la ejecución en tareas de aprendizaje y memoria (Fibiger, 1991).

Una posibilidad interesante en el estudio de la participación colinérgica del hipocampo en la memoria espacial en ratas, es la evaluación del efecto de la administración intracraneal de escopolamina, considerando, como se mencionó anteriormente, su propiedad como antagonista muscarínico y que la administración de este compuesto en sujetos normales produce síntomas amnésicos. Al respecto, Toide (1989) administró escopolamina a través de diálisis intracerebral *in vivo*, notando cambios importantes en los niveles extracelulares de acetilcolina en el hipocampo y corteza frontal de ratas. Givens y Olton (1990) reportaron que la inyección de 15 y 30 microgramos de escopolamina en el área septal media, redujo el nivel de aciertos en una tarea previamente aprendida que comprendía memoria de trabajo en un laberinto en T; además se observó que el tratamiento fue capaz de suprimir el ritmo theta del hipocampo, el cual ha sido asociado con procesos cognitivos y que se ha sugerido que se encuentra regulado por el área septal media. El nivel de ejecución de las ratas en el laberinto en T presentó una alta correlación con el efecto de la escopolamina sobre el ritmo theta.

## VI. RECEPTOR MUSCARÍNICO Y ESCOPOLAMINA.

La acetilcolina (ACh) es uno de los transmisores más importantes y que mayor estudio han recibido. Su importancia radica en la amplia distribución que este neurotransmisor presenta y en los procesos en los que se encuentra involucrado. Los receptores para la acetilcolina se encuentran, a nivel periférico, principalmente en músculo esquelético, músculo cardíaco y ganglios autónomos. A nivel central se les localiza ampliamente distribuidos en el encéfalo. La acetilcolina se sintetiza a partir de dos elementos, por una parte de una molécula compleja que es producida por las mitocondrias: la coenzima A, que presenta unido a ella un ion de acetato, formando así a una molécula acetilcoenzima A y por otra parte de la colina, que es una sustancia derivada de la ruptura de lípidos. En presencia de la enzima colin acetiltransferasa, el ion acetato es transferido de la coenzima A a la colina produciendo una molécula de acetilcolina. La acetilcolina por otra parte, es desactivada por la enzima acetilcolinesterasa. La desactivación produce colina y acetato como metabolitos de la acetilcolina (Carlson, 1994).

Existen dos tipos básicos de receptores para la acetilcolina: receptores nicotínicos y receptores muscarínicos. La acetilcolina se une a ambos receptores, pero estos difieren bioquímica y funcionalmente. Los dos tipos de receptores pueden ser distinguidos farmacológicamente, dado que hay agonistas (nicotina y muscarina) y antagonistas específicos para cada uno de ellos. En el caso de los antagonistas que son compuestos que bloquean al receptor, se pueden nombrar, por ejemplo, al curare para el receptor nicotínico y a la atropina y la escopolamina para el receptor muscarínico. El receptor unido directamente a un canal en el músculo esquelético es nicotínico, mientras que en neuronas simpáticas y en ciertas neuronas del hipocampo y corteza cerebral, la acetilcolina actúa sobre uno o más receptores muscarínicos (Kandel, et al., 1991).

Los receptores nicotínico y muscarínico presentan a su vez subtipos de receptores y actualmente se conoce que varios subtipos de ambos receptores colinérgicos están presentes en el cerebro (humanos y ratas). Inicialmente, los receptores muscarínicos han sido clasificados farmacológicamente en receptor M1 y M2 conforme a la sensibilidad de este receptor por el antimuscarínico atípico pirenzepina; la pirenzepina es selectiva para el receptor M1 (Palacios y Mengod, en Chan-Palay y Köhler, 1989. Cap. 14). No obstante, recientemente se ha reportado la existencia de por lo menos 5 subtipos de receptores muscarínicos diferentes (M1, 2, 3, 4 y 5), aunque solo los receptores M1 y M2 han sido purificados (de cerebro y atrio) y subsecuentemente clonados (Siegel et al., 1994).

El receptor nicotínico es un receptor ionotrópico, en donde el transmisor actúa directamente sobre el canal iónico de la proteína. El receptor muscarínico es un receptor metabotrópico. En el caso de los receptores metabotrópicos que están constituidos por una sola subunidad con siete segmentos transmembranales característicos, el receptor se encuentra unido a una proteína G; estas proteínas están conformadas por tres subunidades: alfa, beta y gama. Las proteínas G reciben su nombre dado que se encuentran ligadas al nucleótido guanosin difosfato (GDP) o al guanosin trifosfato (GTP) en su subunidad alfa. La interacción del transmisor con el receptor metabotrópico produce un cambio conformacional que activa a la proteína G, la activación de la proteína radica en el reemplazo de GDP por GTP en la subunidad alfa, la cual se disocia del complejo beta-gama. La subunidad alfa libre se une y modula la actividad de una enzima efectora; estas enzimas efectoras intervienen en la producción de segundos mensajeros (tales como el AMP cíclico, el GMP cíclico, el diacilglicerol o inositol polifosfato entre otros). El segundo mensajero, a su vez, dispara una cascada de eventos bioquímicos: puede actuar directamente sobre el canal o con mayor frecuencia activando una enzima de la familia llamada proteinquinasas; esta enzima puede modular a canales iónicos a través de la fosforilación ya sea, de la proteína-canal o de una proteína reguladora que actúa sobre el canal. En ciertos casos la proteína G puede también interactuar directamente con el canal iónico o con una bomba, independientemente de la producción de segundos mensajeros. Los segundos mensajeros pueden además, alterar las propiedades de las proteínas receptor, canales iónicos o bombas modificando su actividad; también pueden movilizar iones de calcio de almacenes intracelulares o regular la expresión de genes y por lo tanto, dotar a la transmisión sináptica con consecuencias de larga duración. Así, la acción de los receptores metabotrópicos puede cambiar el estado bioquímico o bioeléctrico de la célula incluso por períodos de larga duración (Kandel, et al., 1991; Nicholls, et al., 1992).

Los receptores ionotrópicos y los metabotrópicos tienen funciones diferentes, los primeros producen acciones sinápticas relativamente rápidas (del orden de milisegundos), mientras que los receptores metabotrópicos producen acciones sinápticas lentas (durando segundos y aún minutos). Esta acción lenta a menudo sirve para modular la conductancia a través de la alteración de la excitabilidad de las neuronas y de la fuerza de la conexión sináptica de los circuitos neuronales básicos. Incluso la transmisión sináptica metabotrópica es considerada para explicar algunos de los fenómenos plásticos sugeridos en el aprendizaje (Kandel, et al., 1991).

Los eventos bioquímicos tempranos descritos en la activación del receptor muscarínico son: 1) la inhibición de la adenil-ciclasa, con un decremento consecuente en los niveles de AMPc. 2) Estimulación de la fosfolipasa C y la producción de inositol trifosfato (InsP3) y diacilglicerol (DAG), lo cual incrementa los niveles de calcio provenientes de almacenes

intracelulares. ó, 3) la regulación de canales iónicos de potasio y calcio (Siegel, 1994).

En relación con el efecto de la activación del receptor muscarínico sobre el potencial de membrana, se ha señalado que hay sinapsis muscarínicas excitatorias e inhibitorias (Rosenzweig y Leiman, 1992). Durante la activación del receptor muscarínico, la acción sobre el canal de potasio produce un incremento en la conductancia para este ion y la hiperpolarización de la membrana celular en las terminaciones postganglionares (Siegel, 1994). En el hipocampo, en particular en las células piramidales, se ha señalado que la activación del receptor muscarínico conduce a una despolarización de la membrana celular (Carlson, 1994).

La escopolamina es un alcaloide natural, también llamado L-hiosina, se obtiene de una planta solanácea: el beleño (*hyoscyamus niger*). La extracción de la escopolamina se realiza particularmente de la raíz, la cual se considera narcótica. La escopolamina contiene en su estructura bioquímica un grupo amino terciario, lo cual facilita su paso a través de la barrera hematoencefálica. A nivel periférico, al igual que la atropina, actúa sobre las terminaciones parasimpáticas postganglionares, bloqueando los efectos parasimpaticomiméticos muscarínicos. No obstante, la escopolamina es de 3 a 10 veces más potente que la atropina en sus efectos sobre sistema nervioso central. La escopolamina es un antagonista de tipo competitivo, por lo cual su efecto depende de la proporción entre las concentraciones del neurotransmisor y del propio antagonista. La desactivación de la escopolamina es un proceso lento ya que también contiene un grupo éster en su estructura bioquímica; para el hombre, la hidrólisis de ésteres es poco importante y la mayor parte de los alcaloides naturales aparecen inalterados en la orina (Meyers et al., 1980).



## VII. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.

El estudio de la memoria responde principalmente a dos objetivos, por una parte al conocimiento por sí mismo, del funcionamiento del cerebro humano y por otra parte, a la posibilidad de obtener cierto control sobre los mecanismos que sustentan a la memoria. En este último caso, la posibilidad de determinado control permitiría la intervención del hombre para mejorar las capacidades mnémicas del ser humano en general, o para implementar una terapéutica eficiente en los trastornos amnésicos (como los presentados en la enfermedad de Alzheimer). Sea cual fuere el motivo, las aproximaciones de estudio deben considerar varios niveles de análisis, entre ellos el neuroquímico, dentro del cual, el análisis farmacológico ofrece grandes posibilidades. Por otro lado, el uso de especies infrahumanas en el estudio de la memoria puede responder, en cierto grado, a la necesidad de modelos experimentales en los cuales se facilite la manipulación de variables que difícilmente se podría realizar con los humanos. Aunque si bien no es posible crear modelos animales de la enfermedad de Alzheimer con monos o ratas y, además, el uso de estos animales como modelos experimentales es aún discutible para eventos tan complejos como lo son los trastornos amnésicos humanos, la evidencia experimental confirma la posibilidad de reproducir en estas especies (por lo menos parcialmente) algunos de los trastornos más frecuentes en sujetos con padecimientos amnésicos. En este sentido, el uso de especies infrahumanas en el estudio de la memoria ofrece una alternativa efectiva y promueve el trabajo experimental sobre la materia.

Como se revisó anteriormente, existe una gran cantidad de reportes en varias especies sobre la participación del hipocampo y la actividad colinérgica del hipocampo en procesos mnémicos. En particular, algunos estudios sugieren la participación del hipocampo y de su actividad colinérgica en la recuperación de información espacial en ratas. No obstante, la investigación sobre este punto no está aún concluida. Fibiger (1991) señala que a mediano plazo, las aplicaciones locales de agentes muscarínicos y de microdiálisis cerebral pueden ser útiles para aclarar la aún misteriosa función de las neuronas colinérgicas centrales y, que en la ausencia de una adecuada definición funcional, los programas dirigidos al desarrollo de farmacoterapias colinérgicas para las deficiencias cognitivas en la enfermedad de Alzheimer están basadas más en creencias que en hechos establecidos. Por otra parte, se requiere de estudios diferenciales sobre la participación de sistemas de neurotransmisión en el proceso mnémico, de estudios integrativos en cuanto a la acción conjunta de los diferentes sistemas de neurotransmisión, del análisis de fenómenos plásticos asociados a respuestas mnémicas espaciales, etc.

El presente estudio se centra particularmente, en el hipocampo dorsal y en la actividad de receptores colinérgicos metabotrópicos de esta área, como sustratos neuroanatómico y neuroquímico respectivamente, en la recuperación de información espacial. Reportes de Palacios y Mengod, y Zilles (en Chan-Palay y Köhler, 1989. Cap. 13 y 14), señalan que el marcaje con los ligandos  $[^3\text{H}]$ -metil-escopolamina o  $[^3\text{H}]$ -quinuclidinilbenzilato revela que el hipocampo de los mamíferos es una estructura rica en receptores muscarínicos, presentándose como la estructura cerebral con más alto nivel de estos receptores solo después de algunos componentes de los ganglios basales. El marcaje con ligandos selectivos entre los subtipos de receptores muscarínicos ( $[^3\text{H}]$ -Pirenzepina para el receptor M1 y  $[^3\text{H}]$ -Oxotremorina-M para el receptor M2), revela que los receptores colinérgicos muscarínicos del tipo M1 se encuentran concentrados con mayor densidad en las capas estrato oriens, piramidal y molecular en el área CA1 y en la capa molecular del giro dentado, mientras que los receptores del tipo M2 se concentran en mayor proporción en todas las capas de CA1 a CA4, con excepción de la capa molecular de CA1 y la capa estrato oriens en CA2. Alrededor del 80% de la población de receptores muscarínicos en el hipocampo corresponde al tipo M1. Estudios postmortem en humanos han mostrado que la distribución de receptores colinérgicos muscarínicos en la formación hipocampal de los humanos es comparable a la observada en las ratas.

Por otra parte, los resultados obtenidos en roedores no han sido corroborados en otro tipo de tareas de memoria espacial diferentes a las convencionales (especialmente laberintos). Así, en el presente estudio se utilizó una tarea de memoria espacial que requiere que los sujetos (ratas) elaboren y almacenen la representación de un espacio y sus componentes, implicando la capacidad de localizar eficazmente estímulos constantes (fuentes de alimento) en este espacio. La tarea está basada en la tarea utilizada por Sherry y Vaccarino (1989), en el estudio sobre el hipocampo y la memoria en ciertas especies de aves que conservan y recuperan comida de pequeños almacenes, distribuidos a lo largo de los límites de su morada. En este estudio Sherry y Vaccarino, utilizaron una caja al estilo de pajarera, la cual contiene 6 árboles artificiales, cada árbol alberga a su vez, cierto número de orificios donde el ave puede almacenar semillas para después recuperarlas, o incluso, el experimentador puede colocar semillas en determinados orificios (siempre los mismos), requiriendo que las aves aprendan que un grupo constante de orificios contiene comida, implicando el recuerdo para su localización. Cabe mencionar que estos autores, de manera consistente con los estudios en otras especies, reportaron que el hipocampo de estas aves es una estructura indispensable en el recuerdo de información espacial. Sumado a lo anterior, el uso de la tarea empleada en este estudio intenta suprimir variables como el estrés al que se someten los sujetos en tareas como evitación activa y pasiva o en los laberintos de agua.

En el presente estudio se evaluó el efecto de la administración de escopolamina en el hipocampo dorsal de ratas sobre la ejecución de una tarea de memoria espacial previamente aprendida. Para cumplir con tal propósito, en primer lugar se verificó si la lesión en esta área interfiere con la ejecución postentrenamiento de los sujetos, realizando un primer experimento donde la ejecución de un grupo de ratas con lesión en el hipocampo dorsal fue comparada con la ejecución de dos grupos controles: un grupo "sham" en el cual se siguieron los mismos procedimientos quirúrgicos del grupo experimental pero sin realizar la lesión y un grupo que no fue sometido a ningún procedimiento quirúrgico. Una vez confirmado que la ejecución de la tarea depende de la integridad del hipocampo dorsal, se analizó la participación del sistema colinérgico metabotrópico en esta región, como sustrato neuroquímico en la recuperación de información espacial; para lo cual se realizó un segundo experimento, donde la ejecución de un grupo de ratas al que se le administró escopolamina en esta zona, se comparó con la ejecución de un grupo control al que sólo le fue administrado el vehículo de la droga (solución salina). Finalmente se compara también, el efecto de la lesión con el efecto de la administración de escopolamina en el hipocampo dorsal.

## VIII. EXPERIMENTO I.

## OBJETIVO:

Determinar, a través de lesiones electrolíticas bilaterales en el hipocampo dorsal, si los procesos mnémicos que subyacen a la recuperación de información sobre la tarea conductual entrenada involucran la integridad de esta zona.

## HIPÓTESIS:

La lesión en la región dorsal del hipocampo de ratas, interfiere con la ejecución de una tarea de memoria espacial previamente aprendida.

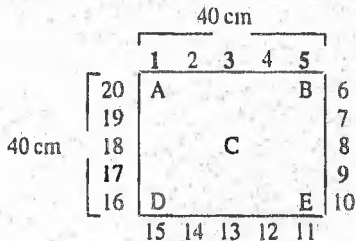
## MÉTODO.

**Sujetos:** Se utilizaron 21 ratas machos Wistar sin experiencia experimental previa, con un peso corporal entre los 250 y 300 gr al inicio del experimento. A su llegada al laboratorio fueron alojados en compartimentos individuales con acceso libre al agua y al alimento (Purina Rat Chow).

**Aparatos y material:** Para el entrenamiento de los sujetos se utilizó una caja de acrílico color ámbar oscuro de 40 x 40 cm de base y 26 cm de altura. En cada una de las paredes de la caja se colocaron 5 tubos pequeños de cristal (20 en total) con una separación entre cada uno de ellos de 6 cm, y a una altura de 4 cm del piso de la caja. En la tapa (techo) de la caja se ubican 5 focos de 12 watts uno de ellos en el centro y los 4 restantes a 10 cm de los vértices de la tapa (uno por vértice).

Esquema de la caja: Los números corresponden a los tubos de cristal en las paredes de la caja. Las letras corresponden a los focos en el techo de la caja.

-Frente-



Para las cirugías se utilizó un aparato estereotáxico David Kopf para rodadores, un lesionador electrolítico de corriente constante marca Grass (Mod. DC LMSA), un electrodo de plata calibre 22 y material quirúrgico.

#### **Procedimiento:**

**Entrenamiento conductual:** A su llegada al laboratorio se registró durante tres días el peso corporal de las ratas en acceso libre a agua y alimento, el promedio de los tres días se consideró como el 100% de peso corporal. A partir del cuarto día, se restringió el acceso al alimento y al agua durante el resto del experimento para mantener a los sujetos en el 85% de peso corporal. Durante tres días consecutivos se entrenó a los sujetos a tomar leche azucarada (33.3 ml. de leche {marca camation} por cada 100 ml. de agua, más 3.5 gr. de azúcar). El entrenamiento se realizó en su caja habitación proporcionando 10 min de acceso a la leche cada día.

Posteriormente, se inició el entrenamiento de los sujetos en la tarea, el cual consistió en introducir a los sujetos en la cámara de registro (caja de acrílico) con el foco "A" encendido, y con la cabeza del animal orientada hacia la pared posterior de la cámara. Previamente, los tubos 1, 3 y 5 (ver esquema) se llenaron con leche azucarada (0.2 ml/tubo), tanto los tubos como el foco encendido fueron siempre los mismos a lo largo del entrenamiento y de las sesiones prueba. El objetivo del foco encendido, es que ésta luz funcionara como señal externa de referencia para los sujetos. Cada sesión concluyó después de que el sujeto visitó los 3 bebederos (tubos) con leche o bien, transcurrieran 20 min., lo que ocurriera primero. El objetivo del entrenamiento fue que los sujetos, a lo largo de las sesiones, localizaran cada vez con mayor exactitud los 3 bebederos que contenían leche azucarada, para lo cual, dos observadores independientes realizaron registros conductuales de los sujetos durante las sesiones. Para cada sujeto se registró el tiempo (latencia) desde el momento en que fue introducido en la cámara de registro, hasta que localizara los tres bebederos. El entrenamiento en la tarea se realizó durante sesiones consecutivas (dos por día), hasta que cada sujeto cumplió el criterio de visitar los 3 tubos con leche azucarada, con una latencia no mayor de 20 segundos durante 3 sesiones consecutivas.

**Cirugía:** Después de que cada sujeto cumplió el criterio, se realizaron lesiones bilaterales en el hipocampo dorsal. Para tal fin, se asignó a los sujetos a los siguientes grupos:

a) un grupo de ratas con lesión electrolítica bilateral en el hipocampo dorsal,

b) un grupo control con lesión falsa (sham), en el que se siguió el mismo procedimiento quirúrgico sin efectuar la lesión y,

c) un segundo grupo control íntegro que siguió la misma secuencia experimental sin que se efectuaran los procedimientos quirúrgicos.

En todos los casos, cada grupo estuvo constituido por 7 sujetos.

Las lesiones se realizaron con un lesionador electrolítico, bajo anestesia de pentobarbital sódico (Anesiesal) en dosis de 47.2 mg/kg administrada intraperitonealmente (i.p.) y, en los casos así requerido, se prolongó o aumentó la anestesia con éter (Baker). La punta del electrodo fue colocada con técnicas estereotóxicas, A-P -3.8, L +/- 1.4, V -3.6, referidas a bregma y la superficie del cráneo, con la barra de los incisivos en -3.3 (Paxinos y Watson, 1986). La lesión se realizó con una descarga de 1.5 miliamperes (C.D.), durante 45 segundos. Después de realizada la lesión se suturó a las ratas, y se regresaron a su caja individual previa administración de penicilina benzatínica.

Para el grupo control con lesión falsa "sham" se siguió el procedimiento previamente descrito, insertando el electrodo pero sin pasar la corriente eléctrica a través del electrodo. Después de los procedimientos quirúrgicos los sujetos tuvieron un período de recuperación de 10 días.

**Sesiones prueba:** Una vez concluido el período de recuperación o de descanso para el grupo control sin tratamiento quirúrgico, se realizaron 3 sesiones prueba consecutivas (una por día), idénticas a las sesiones de entrenamiento en la tarea, con el fin de evaluar el efecto de la lesión sobre la ejecución postentrenamiento de las ratas.

**Verificación Histológica:** Inicialmente se perfundió a los sujetos a través de la aorta ascendente con un solución buffer-salina-fosfato (100 mM, pH 7.4). Se continuó la perfusión con 300 ml de paraformaldehído (4%)-buffer de fosfato (100 mM, pH 7.4). Posteriormente, se incluyó a los cerebros en parafina y se realizaron cortes de 100 micras de espesor. La verificación histológica se realizó ubicando la localización y extensión del tejido lesionado en los cortes de cerebro, tomando como referencia las láminas del Atlas estereotáxico (Paxinos y Watson, 1986). Corroborándose que en todos los sujetos la lesión acertara en el hipocampo dorsal.

**Análisis de los Datos:** Se recolectaron datos respecto al tiempo (latencia) requerido por los sujetos para localizar los tres bebederos en cada una de las sesiones prueba (de acuerdo al grupo de pertenencia). Dicha latencia estuvo conformada por el tiempo dedicado a las conductas de: a) husmear, b) desplazamiento con husmeo (trasladarse husmeando de un cuadrante de la cámara de registro a otro) y c) desplazamiento. No se consideró el tiempo que el sujeto dedicó a la ingesta del reforzador. Para realizar las comparaciones se obtuvo el promedio de los sujetos de cada grupo por sesión.

Se realizaron comparaciones entre la ejecución en las sesiones prueba (SP) 1, 2, y 3 entre los 3 grupos (intergrupos) y entre las SP de cada grupo (intragrupos).

**Estadística:** Para determinar la significancia de las comparaciones en la ejecución en la tarea, se utilizó un análisis de varianza de parcelas divididas de 2 factores (F1: grupos, F2: sesiones) y 6 niveles (N):

F1 \ F2	SP1	SP2	SP3	
Gpo. Control.				N 4
Gpo. Sham.				N 5
Gpo. Lesión.				N 6
	N 1	N 2	N 3	

En los casos de comparaciones específicas se utilizó la prueba de Duncan. Cada grupo estuvo constituido por 7 sujetos.

## RESULTADOS.

En la fase de adquisición o entrenamiento en la tarea, como puede observarse en la figura 1, los sujetos aprendieron rápidamente la localización de los 3 tubos con reforzador, su ejecución se estabilizó alrededor de la sesión número 12 y alcanzaron el criterio de adquisición entre las sesiones número 15 y 17.

La verificación histológica de las lesiones, la cual se llevó a cabo comparando los cortes del cerebro de los sujetos con las láminas respectivas en el Atlas estereotáxico, corroboró que en todos los sujetos ( $n=7$ ) la lesión se efectuara en el hipocampo dorsal (Figura 2).

Durante las 3 sesiones correspondientes al criterio de adquisición de la tarea (línea base: LB), en el periodo de entrenamiento, los 3 grupos presentan latencias similares entre sí (Fig. 3), lo que indica que los grupos no muestran diferencias previas al tratamiento. Las latencias observadas (Fig. 3) en los grupos con lesión falsa y control íntegro, durante las sesiones prueba, permanecen bajas y semejantes a la línea base (LB). Lo cual señala que en estos grupos el periodo de recuperación y las manipulaciones quirúrgicas no repercutieron en la ejecución en la tarea.

Los resultados del análisis de varianza (Tabla 1) señalan diferencias significativas para el factor "A", entre grupos [ $F(18,224.8) = 9.24, p = 0.002$ ]. Sin embargo, el análisis de varianza no muestra diferencias significativas entre las tres sesiones prueba para cada grupo (Intragrupos) [ $F(2,267.1) = 2.29, p = 0.114$ ] y tampoco señala diferencias significativas en las interacciones [ $F(4,130.3) = 1.12, p = 0.364$ ].

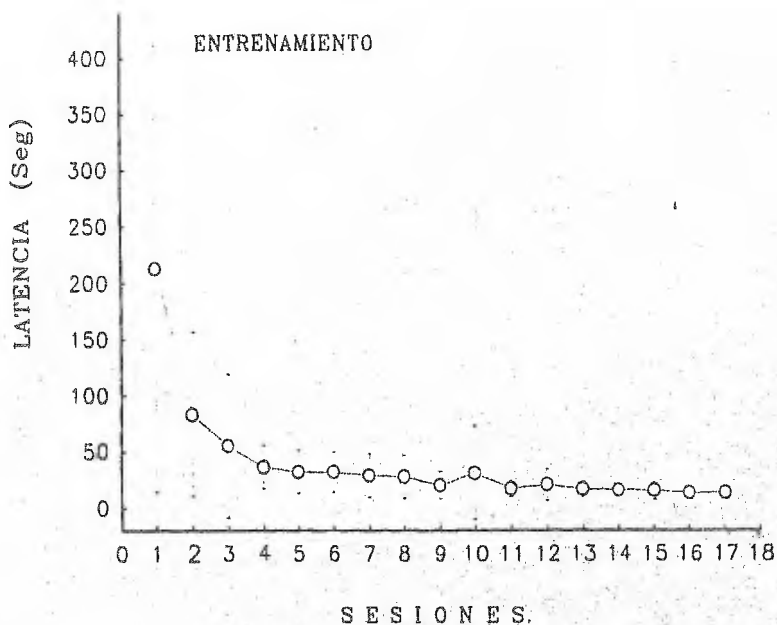
Dado que el análisis de varianza resultó significativo para las comparaciones entre los diferentes grupos, se procedió a realizar las comparaciones múltiples con la prueba Duncan. Los resultados obtenidos, demuestran que el grupo en el cual se llevó a cabo la lesión en el hipocampo dorsal, presenta una deficiencia en la ejecución de la tarea. Como puede observarse en la figura 3 y tabla 1, el grupo con lesión presenta un incremento respecto a los grupos control de alrededor de 25 seg (5 veces mayor) en el tiempo requerido para localizar los bebederos durante la primera sesión prueba. La diferencia observada para esta sesión en el grupo con lesión es significativa con respecto al grupo con lesión falsa "Sham" ( $p < 0.05$ ) y al grupo control íntegro ( $p < 0.05$ ), implicando que la lesión en el hipocampo dorsal provoca deficiencias en la recuperación de la información sobre la localización de los tres bebederos. Para la segunda y tercera sesión prueba no se presentan diferencias significativas entre el grupo con lesión y los grupos control. No obstante, la ejecución del grupo con lesión continúa presentando un incremento importante en el tiempo requerido para localizar los bebederos con reforzador



(Fig. 3 y Tabla 1) con respecto al grupo "Sham" y al grupo control íntegro, aunque en cada caso éste incremento es menor que en la sesión inmediata anterior.

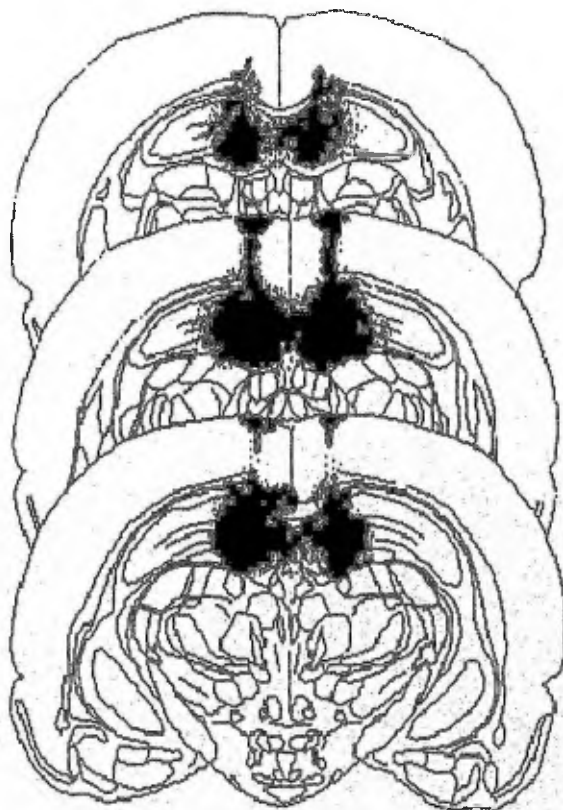
Las comparaciones múltiples entre el grupo con lesión falsa y el grupo control íntegro no presenta diferencias significativas en el tiempo requerido para localizar los bebederos en ninguna de las 3 sesiones prueba (Tabla 1) y como puede observarse en la figura 1, la ejecución de ambos grupos control mantiene latencias bajas y similares.

### EJECUCIÓN DE LOS SUJETOS DURANTE LA FASE DE ADQUISICIÓN DE LA TAREA.



**FIGURA 1.** Fase de entrenamiento en la tarea espacial. En las ordenadas se presenta la latencia (expresada en segundos) para localizar los 3 tubos con el reforzador; en las abscisas las sesiones de entrenamiento. Se muestra el promedio  $\pm$  error estándar de los sujetos por sesión.

## VERIFICACIÓN DE LA LESIÓN EN EL HIPOCAMPO DORSAL.



**FIGURA 2.** Se muestran cortes transversales del cerebro de rata. Los cortes (de arriba hacia abajo) se ubican a partir de Bregma a - 3.30, -3.80 y - 4.30 respectivamente. Se señala la ubicación y extensión de la lesión en el hipocampo dorsal con las áreas sombreadas. Verificación obtenida de una rata con lesión promedio.

EFFECTO DE LA LESIÓN EN EL HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA RECUPERACIÓN DE INFORMACIÓN ESPACIAL.

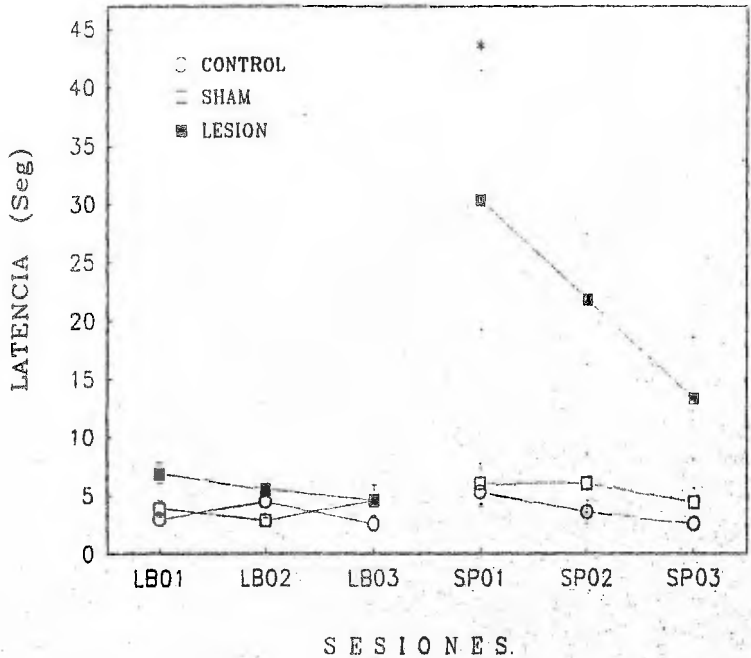


FIGURA 3. En las ordenadas se presenta la latencia (media  $\pm$  error estándar, expresados en segundos) para localizar los 3 tubos con el reforzador; en las abscisas las 3 sesiones correspondientes al criterio de adquisición (LB) y las 3 sesiones prueba (SP). Se muestra la ejecución del grupo con lesión, el grupo con lesión falsa "Sham" y el grupo control, n para cada grupo = 7. Se señalan diferencias significativas entre el grupo lesión con respecto a los grupos control en la sesión prueba 1; \*  $p < 0,05$ .

TABLA 1. EFECTO DE LA LESIÓN EN EL HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA EJECUCIÓN EN LA TAREA ESPACIAL PREVIAMENTE APRENDIDA.

	SP 1	SP 2	SP 3
Gpo. CONTROL:			
Media	5.364	3.647	2.629
Desv. Std.	3.317	2.784	1.182
Gpo. SHAM:			
Media	6.084	6.120	4.467
Desv. Std.	4.553	6.695	3.215
Gpo. LESIÓN:			
Media	30.403*	21.877	13.363
Desv. Std.	29.427	14.760	13.949

Los datos se expresan en segundos. n para cada grupo = 7. \* p < 0.05.

Andeva.	F	M.C./G.L.	p(F)
Factor A	9.24	224.825/18	0.002**
Factor B	2.29	116.659/2	0.114
Interacción A x B	1.12	116.659/4	0.364

Media de cuadrados (M.C.) y Grados de libertad (G.L.). \*\* p < 0.01.

TABLA 1. Se muestran las medias y las desviaciones estándar por grupo en cuanto al tiempo (en seg) requerido para localizar los 3 bebederos en las 3 sesiones prueba (SP). También se presenta un resumen del análisis de varianza (Andeva) que incluye el valor de F, la media de cuadrados, los grados de libertad y la probabilidad. Dado que el análisis de varianza resultó significativo, se señalan las diferencias significativas resultado de la prueba Duncan entre los diferentes grupos; indicándose con asteriscos (en las medias), si el valor presenta una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los controles.

## DISCUSIÓN.

En el presente experimento se logró observar que la lesión del hipocampo dorsal, interfiere con la ejecución de la tarea de memoria espacial previamente aprendida. Mientras que en los grupos con lesión falsa y control íntegro las latencias durante las 3 sesiones prueba, permanecen bajas y semejantes a la línea base (LB). Lo anterior señala que el periodo de recuperación postoperatorio y/o las manipulaciones quirúrgicas no afectan la capacidad de los sujetos para recuperar la información sobre la localización de los 3 bebederos con reforzador y, por tanto, estas variables no explican la deficiencia observada en el grupo con lesión.

Los resultados obtenidos, una vez realizadas las comparaciones estadísticas correspondientes, permiten concluir que la destrucción del hipocampo dorsal tiene como consecuencia una deficiencia en la capacidad de las ratas para recuperar información sobre la localización espacial de estímulos previamente aprendidos. No obstante, con el presente protocolo se observó una recuperación parcial del grupo con lesión conforme transcurrieron las sesiones prueba (Figura 3). Tal recuperación quizá pueda explicarse por un reaprendizaje de la tarea independiente del hipocampo dorsal y probablemente potenciado por algunas estrategias (independientes del hipocampo) que se conservaron posteriormente a la lesión y/o por un proceso plástico; en donde otro u otros sistemas diferentes al hipocampo restituyeron la recuperación de la información. Lo anterior no rechaza la participación del hipocampo dorsal en la recuperación de información espacial, en realidad, señala la capacidad plástica del cerebro. Por otra parte, en el presente estudio tampoco se excluye la participación de otros sistemas o estructuras cerebrales distintas al hipocampo. Hay evidencia suficiente sobre la participación de otras estructuras en procesos de memoria; tales como los cuerpos mamilares, los núcleos talámicos dorsomedial y el área anterior del tálamo (Carlson, 1994), la corteza prefrontal (Kolb, 1984), el núcleo caudado (Prado-Alcalá, 1985), etc.

Las observaciones obtenidas en el presente experimento, apoyan a los estudios, reportados en la documentación, que refieren la participación del hipocampo dorsal de ratas, como sustrato neuroanatómico en la recuperación de información espacial previamente aprendida (p.e. Goodlett et al., 1989; Hagan y Beaughard, 1990; Eichenbaum et al, 1990) y son congruentes con los estudios que indican que la participación de esta estructura, en funciones mnémicas, es compartida por diferentes especies de mamíferos, particularmente entre ratas, monos y humanos (Squire, 1992).

Finalmente, el incremento en las latencias en el grupo con lesión durante las sesiones prueba, no se explica por deficiencias en la motivación dado que todos los sujetos del grupo con lesión localizaron y bebieron, aunque muy posteriormente, el reforzador en los tres bebederos correspondientes. Tampoco se explica por deficiencias motoras, dado que los sujetos con lesión no presentaron alteraciones en la marcha y el volumen de tejido lesionado en la

corteza motora, por el paso del electrodo, es de una proporción mínima (aprox.  $2 \text{ mm}^3$ ; Fig. 2) comparada con estudios (ratas) en donde se lesiona corteza motora ( $24 \text{ mm}^3$ ) explícitamente para observar daños motores (p.e. hemiplejía por ablación), incluso en estos estudios se señala una recuperación ya bastante importante para el décimo día (Brailowsky et al., 1995) o antes (Goldstein, 1995). Además, el grupo con lesión falsa "sham", en el cual el electrodo también atravesó corteza motora, no presenta alteraciones en su ejecución. Por otra parte, las conductas de inmovilidad y acicalamiento, que pudieran indicar daños motores o efectos sobre la atención de los sujetos, prácticamente no se presentaron.

## IX. EXPERIMENTO II.

### ANTECEDENTES.

Una vez confirmado con en el experimento anterior, que la integridad del hipocampo dorsal es de suma importancia en la recuperación de información sobre la tarea conductual entrenada, situando al hipocampo dorsal como un sustrato neuroanatómico en la recuperación de información espacial previamente aprendida y que en general, los resultados son congruentes con la documentación sobre el tema, se procedió a evaluar la participación de la actividad colinérgica metabotrópica de esta zona sobre la ejecución postentrenamiento de la tarea y a comparar el efecto de la lesión electrolítica con el efecto de la microinfusión aguda de escopolamina en el hipocampo dorsal sobre la recuperación de información espacial. Para lo cual se realizó el presente experimento.

### OBJETIVOS.

Evaluar el efecto del bloqueo colinérgico muscarínico en el hipocampo dorsal, a través de la microinfusión aguda de escopolamina, sobre la ejecución de un grupo de ratas en una tarea de memoria espacial previamente aprendida.

Comparar el efecto de la lesión electrolítica con el efecto del bloqueo colinérgico muscarínico en el hipocampo dorsal de ratas sobre la recuperación de información espacial.

### HIPÓTESIS.

El bloqueo de la actividad colinérgica metabotrópica en el hipocampo dorsal, a través de la administración de un antagonista colinérgico de receptores muscarínicos: la escopolamina, interfiere con la ejecución, de un grupo de ratas, en una tarea de memoria espacial previamente aprendida.

El bloqueo de la actividad colinérgica metabotrópica en el hipocampo dorsal de ratas tiene repercusiones similares a la lesión electrolítica en esta misma zona, en cuanto a la recuperación de información espacial previamente aprendida.

### MÉTODO.

**Sujetos:** Se utilizaron 14 ratas machos Wistar sin experiencia experimental previa, con un peso corporal de entre 250 y 300 gr. al inicio del experimento. A su llegada al laboratorio fueron alojados en compartimentos individuales con acceso libre a agua y alimento (Purina Rat Chow).



**Aparatos y material:** Se utilizó, además del material descrito en el experimento I (a excepción del lesionador y el electrodo), cánulas de 15 mm. de longitud de tubo de acero inoxidable hipodérmico calibre 22, dos inyectores (tubo hipodérmico) de acero inoxidable calibre 27 de 16 mm. de longitud, jeringas Hamilton de 100 microlitros, una bomba de microinfusión (Cramer company, Mod. 357, 8 rpm.), una balanza analítica (marca Sartorius) y acrílico dental.

#### **Procedimiento:**

**Cirugía:** Se procedió a implantar las cánulas guías (2 cánulas por sujeto), las cánulas fueron implantadas en el hipocampo dorsal, de manera bilateral. El implante se realizó bajo anestesia con pentobarbital sódico (Anestesia) en dosis de 47.2 mg/kg. administrada intraperitonealmente (i.p.), en los casos así requerido, se prolongó o aumentó la anestesia con éter (Baker). La punta de la cánula guía fue colocada con técnicas estereotáxicas, A-P -3.8, L +/- 1.4, V -3.6, referidas a bregma y la superficie de las meninges y con la barra de los incisivos en -3.3 (Paxinos y Watson, 1986). Las coordenadas se eligieron con base en los reportes de Palacios y Mengod, y Zilles, sobre la concentración de receptores muscarínicos en hipocampo (en Chan-Palay y Köhler, 1989, pag. 207-224 y 189-205). Las cánulas guías fueron fijadas al cráneo de las ratas con acrílico dental y fueron selladas con un mandril para evitar infecciones. Realizado el implante, las ratas fueron devueltas a su caja individual previa administración de penicilina benzatínica.

Después de los procedimientos quirúrgicos los sujetos tuvieron un período de recuperación de 10 días.

**Entrenamiento conductual:** Una vez concluido el período de recuperación, se inició el entrenamiento conductual el cual fue exactamente igual al descrito en el experimento I.

**Sesiones prueba:** Después de que las ratas cumplieron el criterio de adquisición, las 14 ratas fueron asignadas en 2 grupos de 7 ratas cada uno:

a) Un grupo experimental, el cual recibió una microinfusión aguda bilateral de escopolamina en el hipocampo dorsal y,

b) un grupo control, el cual recibió una microinfusión aguda bilateral del vehículo del fármaco.

Una vez que las ratas fueron asignadas en sus respectivos grupos, se realizaron 3 sesiones prueba consecutivas, idénticas a las sesiones de entrenamiento. Antes de introducir a cada sujeto del grupo experimental en la cámara de registro, se les realizó una microinfusión de escopolamina (15  $\mu$ g/2.0  $\mu$ l de solución salina, pH: 6.29), al grupo control sólo se le administró el vehículo del fármaco (2.0  $\mu$ l de solución salina, pH: 6.59). La dosis propuesta en este

estudio se basa en el efecto de esta misma dosis observado en el estudio de Givens y Olton (1990). No se realizó un número mayor de sesiones prueba, tratando de evitar una lesión en el tejido por una administración excesiva de líquido en el cerebro de las ratas, y que esta interfiera con su ejecución.

**Microinfusión:** Dos inyectores fueron utilizados para la infusión del compuesto dentro del hipocampo dorsal de ambos hemisferios. Cada inyector fue hecho de tubo hipodérmico inoxidable de 16 mm. de longitud, calibre 27. Los inyectores fueron conectados a dos microjeringas Hamilton de 100  $\mu$ l, montadas en una bomba Cramer para jeringa; la bomba fue calibrada para liberar el fluido a un rango de 1.0  $\mu$ l/min.

Cada inyector fue insertado dentro de cada cánula guía, y la solución con la droga fue liberada mientras la rata permanecía libre en una caja (28 x 18 x 14 cm.). Después de 2.0 min. de infusión, la bomba fue apagada y el inyector permaneció dentro de la cánula por un minuto adicional. Inmediatamente después, se introdujo al sujeto en la cámara de registro, iniciando así la sesión prueba.

**Fármacos:** Clorhidrato de escopolamina (Sigma Chemical Corporation. St. Louis MO. E.U.A.), Pentobarbital sódico (Anestesa; Smith Kline & French. Méx.).

**Verificación Histológica:** Finalizadas las sesiones prueba, se realizó una cuarta microinfusión con las mismas condiciones que las realizadas en las sesiones prueba, salvo que esta vez la microinyección contenía un marcador inerte (azul verdadero) disuelto en el vehículo (2.0  $\mu$ l/solución salina). Posteriormente, se anestesió a las ratas y se siguió con el procedimiento descrito en el experimento I. La verificación histológica de las microinfusiones se realizó ubicando la localización y difusión del tinte. Para lo cual se comparó el tejido teñido en los cortes de los cerebros de las ratas con las referencias correspondientes en el atlas estereotáxico (Paxinos y Watson, 1986).

**Análisis de los Datos:** Se recolectaron datos respecto al tiempo (latencia) requerido por los sujetos para localizar los tres bebederos en cada una de las sesiones prueba (de acuerdo al grupo de pertenencia). Dicha latencia estuvo conformada por el tiempo dedicado a las conductas de: a) husmear, b) desplazamiento con husmeo (trasladarse husmeando de un cuadrante de la cámara de registro a otro) y c) desplazamiento. No se consideró el tiempo que el sujeto dedicó a la ingesta del reforzador. Para realizar las comparaciones se obtuvo el promedio de los sujetos de cada grupo por sesión.

En el análisis estadístico fueron incluidos los datos correspondientes del grupo de lesión del experimento anterior, con el fin de comparar el efecto de la lesión con el efecto de la administración del fármaco sobre la ejecución.

Se realizaron comparaciones entre la ejecución en las sesiones prueba (SP) 1, 2, y 3 entre los 3 grupos (intergrupos).

**Estadística:** Para determinar la significancia de las comparaciones en la ejecución en la tarea, se utilizó un análisis de varianza de parcelas divididas de 2 factores (F1: grupos, F2: sesiones) y 6 niveles (N) :

F1 \ F2	SP1	SP2	SP3	
Gpo. Vehículo.				N 4
Gpo. Escopolam.				N 5
Gpo. Lesión.				N 6
	N 1	N 2	N 3	

En los casos de comparaciones específicas se utilizó la prueba de Duncan. Cada grupo estuvo constituido por 7 sujetos.

## RESULTADOS.

En la fase de adquisición o entrenamiento en la tarea, los sujetos aprendieron rápidamente la localización de los 3 tubos con reforzador. El patrón de adquisición de la tarea que presentan los sujetos de este experimento es similar al de los sujetos del experimento anterior (Figura 1), dado que su ejecución también se estabilizó alrededor de la sesión número 12 y alcanzaron el criterio de adquisición entre las sesiones número 15 y 17.

En la verificación histológica de las microinfusiones, en la cual se comparó el tejido teñido en los cortes de los cerebros de las ratas con las referencias en el atlas estereotáxico (Paxinos y Watson, 1986), se corroboró que en todos los sujetos ( $n = 14$ ) la localización y difusión del fármaco acertara en el hipocampo dorsal (Figura 4).

Durante las 3 sesiones correspondientes al criterio de adquisición de la tarea (línea base: LB), en el periodo de entrenamiento, los 3 grupos (infusión control, infusión de escopolamina y lesión) presentan latencias similares entre sí (Fig. 5), lo que indica que los grupos no muestran diferencias previas al tratamiento. Las latencias observadas (Fig. 5) en el grupo con infusión control (solución salina), durante las sesiones prueba, permanecen bajas y semejantes a la línea base (LB), lo cual señala que en este grupo el proceso de microinfusión, el volumen de líquido inyectado, el pH de la solución y las manipulaciones quirúrgicas no repercutieron en la ejecución en la tarea.

Los resultados del análisis de varianza (Tabla 2) señalan diferencias significativas para el factor "A"; entre grupos [ $F(18,265.0) = 6.58, p = 0.007$ ] y para el factor "B"; intragrupos [ $F(2,225.0) = 3.80, p = 0.031$ ]. Sin embargo, no señalan diferencias significativas en la Interacción [ $F(4,225.0) = 0.71, p = 0.591$ ].

Dado que el análisis de varianza resultó significativo para los factores arriba señalados, se procedió a realizar las comparaciones múltiples pertinentes, a través de la prueba Duncan. Los resultados obtenidos, señalan que el grupo en el cual se llevó a cabo la microinfusión de escopolamina en el hipocampo dorsal, presenta una deficiencia en la ejecución de la tarea. Como puede observarse en la figura 5 y tabla 2, el grupo con administración de escopolamina presenta un incremento respecto al grupo con infusión control de alrededor de 23 seg. (aproximadamente 3 veces mayor) en el tiempo requerido para localizar los bebederos durante la primera sesión prueba. La diferencia observada para esta sesión en el grupo con la microinfusión de escopolamina es significativa con respecto al grupo con infusión control ( $p < 0.05$ ), implicando que el bloqueo de la actividad colinérgica muscarínica el hipocampo dorsal produce deficiencias en la recuperación de la información sobre la localización de los tres bebederos.

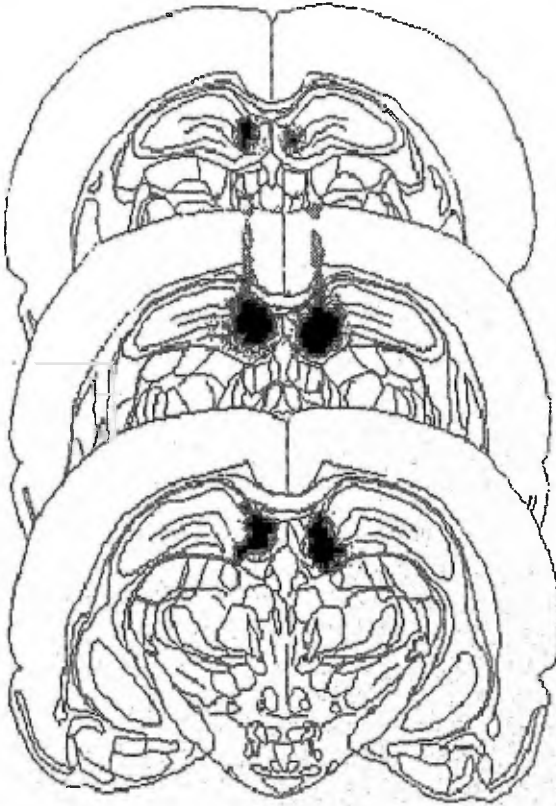
Las comparaciones múltiples entre las sesiones prueba de cada grupo (intragrupos) no señalan diferencias estadísticamente significativas.

En relación al grupo con lesión en el hipocampo dorsal, no se presentan diferencias significativas (Tabla 2) con respecto al grupo con microinfusión de escopolamina en ninguna de las 3 sesiones prueba y la ejecución de ambos grupos es similar en las 3 sesiones prueba (Fig. 5). Mientras que para la primera sesión prueba, el grupo con lesión presenta diferencias estadísticamente significativas cuando fue comparado con el grupo al que se le administró el vehículo de la droga ( $p < 0.05$ ).

Para la segunda y tercera sesión prueba, las ejecuciones del grupo con microinfusión de escopolamina y del grupo con lesión continuaron presentando un incremento considerable en la latencia (Fig. 3 y Tabla 2) con respecto al grupo con infusión control. Sin embargo, este incremento no representa diferencias estadísticamente significativas y disminuye ligeramente en relación con la sesión prueba inmediata anterior. En cuanto a las desviaciones estándar para los grupos con lesión y escopolamina, se observa (Tabla 2) una dispersión mayor de los datos con respecto a sus medias, ésto puede explicarse por pequeñas diferencias en la difusión del fármaco o extensión en la lesión (a pesar de que en todos los casos se acertó en el hipocampo dorsal) ó por la simplicidad de la tarea; en la cual las 20 opciones (bebederos) se distribuyeron en un espacio reducido. No obstante, lo anterior pudiera resolverse aumentando la "n" de los grupos y/o afinando las características físicas o exigencias de la tarea.

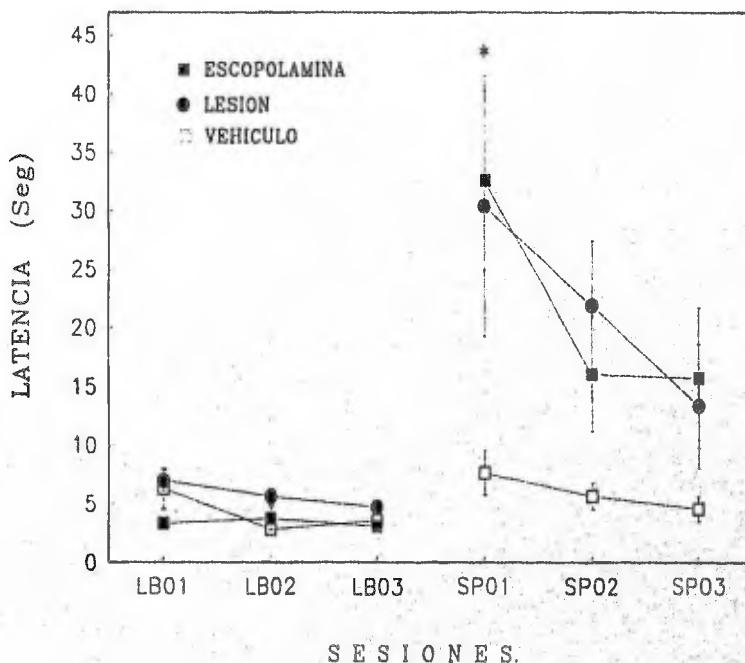
Por su parte el grupo con infusión control presenta una latencia baja y relativamente constante en la localización de los tres bebederos durante las tres sesiones prueba.

## VERIFICACIÓN DE LA MICROINFUSIÓN DE ESCOPOLAMINA EN EL HIPOCAMPO DORSAL.



**FIGURA 4.** Se muestran cortes transversales del cerebro de rata. Los cortes (de arriba hacia abajo) se ubican a partir de Bregma a - 3.30, - 3.80 y - 4.30 respectivamente. Se señala la ubicación de la infusión de escopolamina en el hipocampo dorsal con las áreas oscuras. Con las áreas sombreadas discretas se señala el paso de la cánula guía. Verificación obtenida de una rata con infusión promedio.

## EFFECTO DE LA MICROINFUSIÓN DE ESCOPOLAMINA EN EL HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA RECUPERACIÓN DE INFORMACIÓN ESPACIAL.



**FIGURA 5.** En las ordenadas se presenta la latencia (medias  $\pm$  error estándar; expresados en segundos) para localizar los 3 tubos con el reforzador; en las abscisas las 3 sesiones correspondientes al criterio de adquisición (LB) y las 3 sesiones prueba (SP). Se muestra la ejecución del grupo con administración de escopolamina, el grupo con lesión y el grupo control con administración del vehículo de la droga.  $n$  para cada grupo = 7. Se señalan diferencias significativas en el grupo escopolamina y el grupo lesión con respecto al control en la sesión prueba 1; \*  $p < 0.05$ .

TABLA 2. EFECTO DE LA MICROINFUSIÓN DE ESCOPOLAMINA EN EL HIPOCAMPO DORSAL SOBRE LA EJECUCIÓN EN LA TAREA ESPACIAL PREVIAMENTE APRENDIDA.

	SP 1	SP 2	SP 3
<b>GPO. VEHÍCULO:</b>			
Media	7.600	5.594	4.514
Desv. Std.	5.031	2.962	2.781
<b>GRUPO ESCOPO:</b>			
Media	32.606*	16.071	15.764
Desv. Std.	20.295	12.885	15.733
<b>GRUPO LESIÓN:</b>			
Media	30.403*	21.877	13.363
Desv. Std.	29.427	14.760	13.949

Los datos se expresan en segundos. n para cada grupo = 7. \*  $p < 0.05$ .

Andeva.	F	M.C./G.L.	p(F)
Factor A	6.58	265.033/18	0.007**
Factor B	3.80	225.089/2	0.031*
Interacción A x B	0.71	225.089/4	0.591

Media de cuadrados (M.C.) y Grados de libertad (G.L.), \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ .

TABLA 2. Se muestran las medias y las desviaciones estándar por grupo en cuanto al tiempo (en seg) requerido para localizar los 3 bebederos en las 3 sesiones prueba (SP). Se señalan las diferencias significativas, resultado de la prueba Duncan, entre los diferentes grupos; indicándose con asteriscos (en las medias) si el valor presenta una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo con infusión control. También se presenta un resumen del análisis de varianza (Andeva) que incluye la media de cuadrados, los grados de libertad, el valor de F y la probabilidad.



## DISCUSIÓN.

Como logró observarse en el presente experimento, el bloqueo de la actividad colinérgica muscarínica producto de la microinfusión de escopolamina en el hipocampo dorsal interfirió con la ejecución en la tarea entrenada, produciendo una deficiencia en la recuperación de información espacial. Este hallazgo junto con los reportados por Piercey et al. (1987), Givens y Olton (1990) y Bond et al. (1989), entre otros, sugieren la participación del sistema colinérgico metabotrópico en esta región como sustrato neuroquímico en la recuperación de información espacial.

El incremento en la latencia del grupo con administración de escopolamina no puede ser atribuido al procedimiento quirúrgico, la destrucción de tejido por el implante de cánulas, diferencia de pH o por el volumen de líquido inyectado, dado que el grupo control (salina) el cual fue sometido a estas manipulaciones no presenta una deficiencia en la ejecución de la tarea.

La deficiencia observada en el grupo con bloqueo muscarínico, tampoco se explica por factores motores, de atención o motivacionales, dado que los sujetos de este grupo también localizaron, finalmente, a los 3 reforzadores en todas las sesiones prueba y las conductas que pudieran indicar trastornos motores o de atención (acicalamiento, inmovilidad, alteraciones en la marcha, Etc.), prácticamente no se presentan, además de que el daño en la corteza motora fue mínimo. La perseverancia en la ingesta del reforzador, es decir la permanencia excesiva en la conducta de ingesta, no se considera dado que para el análisis de las latencias, no se incluyó el tiempo dedicado por los sujetos al consumo del reforzador.

Por otra parte, la deficiencia en la recuperación de información espacial observada con el bloqueo muscarínico en el hipocampo dorsal, es similar a la deficiencia producto de la lesión de tejido hipocámpal. Lo cual señala que el bloqueo de la actividad colinérgica metabotrópica, tiene repercusiones de una importancia comparable a la destrucción global de tejido en esta área. Este notorio efecto del antagonista muscarínico sobre la ejecución de la tarea aprendida, se suma a la evidencia de que el sistema colinérgico es un componente importante de los circuitos neuronales de la memoria (Dunnett, 1991; Fibiger, 1991), del efecto amnésico de la escopolamina (Nicholls, 1992; Squire, 1987) y de que los trastornos amnésicos por interrupción del sistema colinérgico, pueden estar asociados con el hipocampo (Bowen et al., 1983; Piercey et al., 1987; Ikegami et al., 1989; Sudha et al., 1995); los resultados también son congruentes con los estudios que reportan un mejoramiento en la ejecución de los sujetos, durante tareas de memoria, cuando se les administra inhibidores de la acetilcolinesterasa, tales como la carbamazepina (Sudha et al., 1995), la tetrahidroaminoacridina (THA), NIK-247, o la fisisigmina. Estas últimas incluso reducen de manera dosis-dependiente el incremento de errores

producto de la administración de escopolamina o de lesiones en el hipocampo dorsal (Yamamoto et al., 1993).

Con el presente estudio no se descarta la participación de otros sistemas de neurotransmisión distintos al colinérgico metabotrópico en los procesos mnémicos que le subyacen a la tarea espacial. Sin embargo, tales sistemas de neurotransmisión no fueron capaces de salvar, por lo menos inicialmente, la deficiencia en la ejecución de la tarea observada con el bloqueo muscarínico.

De manera similar al experimento anterior, en éste se observa de nuevo una recuperación parcial conforme transcurrieron las sesiones prueba. Esta recuperación quizá pueda también explicarse por un reaprendizaje de la tarea (independiente del sistema muscarínico del hipocampo) y/o por factores plásticos cerebrales. No obstante, la explicación de tales observaciones requieren de una mayor labor experimental.

Dado que el estudio involucra el análisis de la acetilcolina en el área dorsal del hipocampo como sustrato neuroquímico, cabe la posibilidad de realizar lesiones en el núcleo basal magnocelular o en el área septal, bloqueando de esta forma al sistema colinérgico en el hipocampo, sin embargo, esta posibilidad no se consideró, pretendiendo no interferir con la actividad colinérgica en el resto del hipocampo y, en particular, sobre otras áreas del cerebro que también son innervadas por las aferentes colinérgicas del núcleo basal magnocelular o del área septal. Tampoco se consideró la administración del fármaco en las fuentes colinérgicas del hipocampo dado que la escopolamina al ser un antagonista competitivo ejerce su influencia inmediata en las neuronas postsinápticas. Por último, no se considera la lesión selectiva de neuronas colinérgicas, a través del uso de fármacos como el AF64A, debido a que no permiten un análisis diferencial entre los tipos de receptores colinérgicos.

Finalmente, la evidencia sobre la participación de mecanismos colinérgicos en memoria es, como ya se mencionó anteriormente, bastante amplia y cuenta ya con un par de décadas en su estudio. Sin embargo, aún se requiere de mayores investigaciones, con las cuales se resuelva satisfactoriamente cuál es, en concreto, la aportación del sistema colinérgico a la memoria, en qué clase de información y/o estrategias participa y los mecanismos moleculares y de transmisión sináptica involucrados en la relación acetilcolina-memoria. Para lo cual las investigaciones sobre el tema deben de recurrir a técnicas más resolutivas (e.g. microdiálisis, biología molecular, bioquímicas, registro de canales y corrientes iónicas, etc.) y las preparaciones conductuales en que se evalúe a los sujetos, deben de poder discriminar entre las diferentes estrategias, clases de información y procesos cognitivos que se suceden durante el recuerdo.

## X. CONCLUSIONES.

El análisis realizado con roedores en el presente estudio, permite sugerir la participación de hipocampo dorsal y de su sistema colinérgico muscarínico como sustrato neuroanatómico y neuroquímico respectivamente, en la recuperación de información espacial.

Se observó que el bloqueo colinérgico metabotrópico en el hipocampo dorsal produce deficiencias conductuales comparables con la destrucción global del tejido en esta área sobre la recuperación de información espacial.

Los resultados obtenidos a través del presente estudio son congruentes con la amplia documentación sobre el tema y apoyan a los estudios que señalan la importancia del hipocampo y de la acetilcolina en procesos mnémicos.

Se corroboró en ratas la relación de la memoria espacial con el hipocampo y su sistema colinérgico, reportada en estudios con otras especies, en particular humanos, primates no humanos e incluso aves.

Se observó la eficiencia de las técnicas de lesión electrolítica en tejido neural y análisis farmacológico local como herramientas en el estudio neurofisiológico de la memoria.

Finalmente, se apoya la viabilidad de emplear modelos animales como instancias experimentales en el análisis de procesos cognitivos. Particularmente, se reitera la posibilidad de reproducir en modelos experimentales, algunos de los trastornos presentados en los pacientes amnésicos, con las perspectivas científicas y médicas que esto implica.

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Amaral, D. y Witter, M. (1989) Commentary. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. **Neuroscience**. 31(3): 571-591.
- Becker, J., Walker, J. y Olton, D. (1980) Neuroanatomical bases of spatial memory. **Brain Research**. 200: 307-320.
- Bond, N., Walton, J. y Pruss, J. (1989) Restoration of memory following septo-hippocampal grafts: A possible treatment for Alzheimer's disease. Special Issue: The Psychobiology of Health. **Biological Psychology**. 28(1): 67-87.
- Bowen, D., Allen, S., Benton, J., Goodhardt, M., Haan, E., Palmer, A., Sims, N., Smith, C., Spillane, J., Esiri, M., Neary, D., Snowden, J., Wilcock, G. y Davison, A. (1983) Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzheimer's disease. **Journal of Neurochemistry**. 41(1): 266-272.
- Braifowsky, S., Montiel, T. y Medina-Ceja, T. (1995) Acceleration of functional recovery from motor cortex ablation by two *Ginkgo biloba* extracts in rat. **Restorative Neurology and Neuroscience**. 8: 163-167.
- Cahusac, P., Miyashita, Y. y Rolls, E. (1989) Responses of hippocampal formation neurons in the monkey related to delayed spatial response and object-place memory tasks. **Behavioural Brain Research**. 33(3): 229-240.
- Carlson, N. (1994) **Physiology of behavior**. Fifth edition. Ed. Allyn and Bacon. USA.
- Chan-Palay, V. y Köhler, C. (1989) **Neurology and Neurobiology**. Volume 52: The Hippocampus, New Vistas. Alan R. Liss, Inc. New York. Cap. 6, 13 y 14.
- De-Vega, M. (1986) **Introducción a la Psicología Cognitiva**. Alianza Editorial S. A. México.
- Diamond, A., Zola-Morgan, S. y Squire, L. (1989) Successful performance by monkeys with lesions of the hippocampal formation on AB and object retrieval, two tasks that mark developmental changes in human infants. **Behavioral Neuroscience**. 103(3): 526-537
- Dunnelt, S. (1991) Cholinergic grafts, memory and aging. **Trends in Neuroscience**. 14(8): 371-376.
- Eichenbaum, H., Stewart, C. y Morris, R. (1990) Hippocampal Representation in Place Learning. **Journal of Neuroscience**. 10(11): 3531-3542.
- Edeline, J., Neuenschwander, E. y Dutrieux, G. (1990) Discriminative long-term retention of rapidly induced multiunit changes in the hippocampus, medial geniculate and auditory cortex. **Behavioural Brain Research**. 39(2): 145-155.
- Emerich, D. y Walsh, T. (1989) Selective working memory impairments following intradentate injection of colchicine: Attenuation of the behavioral but not the neuropathological effects by gangliosides GM1 and AGF2. **Physiology and Behavior**. 45(1): 93-101.

- Feigenbaum, J. y Rolls, E. (1991) Allocentric and egocentric spatial information processing in the hippocampal formation of the behaving primate. *Psychobiology*. 19(1): 21-40.
- Fibiger, H. (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: A review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*. 14(6): 220-223
- Givens, B. y Olton, D. (1990) Cholinergic and Gabaergic modulation of medial septal area: Effects on working memory. *Behavioral Neuroscience*. 104(6): 849-855.
- Goldstein, L. (1995) Right vs. left sensorimotor cortex suction-ablation in the rat: no difference in beam-walking recovery. *Brain Research*. 674: 167-170.
- Goodlett, C., Nichols, J., Halloran, R. y West, J. (1989) Long-term deficits in water maze spatial conditional alternation performance following retrohippocampal lesions in rats. *Behavioural Brain Research*. 32(1): 63-67.
- Hagan, J. y Beaughard, M. (1990) The effects of forebrain ischaemia on spatial learning. *Behavioural Brain Research*. 41(2): 151-160.
- Ikegami, S. Nihonmatsu, I., Hatanaka, H. y Takei, N. (1989) Transplantation of septal cholinergic neurons to the hippocampus improves memory impairments of spatial learning in rats treated with AF64A. *Brain Research*. 496(1-2): 321-326.
- Jagielo, J., Nonneman, A., Isaac, W. y Jackson, P. (1990) Hippocampal lesions impair rats' performance of a nonspatial matching-to-sample task. *Psychobiology*. 18(1): 55-62.
- John, E. (1977) *Mecanismos de la Memoria*. Ed. Trillas. México.
- Kandel, E., Schwartz, J. y Jessell, T. (eds.) (1991) *Principles of Neural Science*. Third Edition. Ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc. New York. Cap. 9, 12 y 62.
- Kesslak, J., Nalcioglu, O. y Cotman, C. (1991) Quantification of magnetic resonance scans for hippocampal and parahippocampal atrophy in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology*. 41(1): 51-54.
- Kolb, B. (1984) Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Research Reviews*. 8: 65-98.
- López Antúnez, L. (1986) *Anatomía Funcional del Sistema Nervioso*. Editorial Limusa, México.
- Luria, A. (1980) *Neuropsicología de la Memoria*. H. Blume Ediciones. Madrid.
- Mayo, W. (1989) Comparative study of two types of cholinergic lesion in rats. Symposium: Memory and aging (1988, Lausanne, Switzerland). *Archives of Gerontology and Geriatrics*. Suppl 1: 91-98.
- Meyers, F., Janet, E. y Goldfien, A. (1980) *Farmacología Clínica*. Editorial El Manual Moderno, S.A. México.
- Narry, K., Mundy, W. y Tilson, H. (1989) Colchicine-induced alterations of reference memory in rats: Role of spatial versus non-spatial task components. *Behavioural Brain Research*. 35(1): 45-53.

- Nicholls, J., Martin, A. y Wallace, B. (1992) **From neuron to brain: a cellular and molecular approach to the function of the nervous system**. Third Edition. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A.
- Okaichi, H. y Oshima, Y. (1990) Choice behavior of hippocampectomized rats in the radial arm maze. **Psychobiology**. 18(4): 416-421.
- Olton, D. (1990) Dementia: Animal models of the cognitive impairments following damage to the basal forebrain cholinergic system. 19th Annual Meeting of the Society for Neuroscience: Neural basis of behavior: Animal models of human conditions (1989, Phoenix, Arizona). **Brain Research Bulletin**. 25(3): 499-502.
- Overman, W., Ormsby, G. y Mishkin, M. (1990) Picture recognition vs. Picture discrimination learning in monkeys with medial; temporal removals. **Experimental Brain Research**. 79: 18-24.
- Paxinos, G y Watson, C. (1986) **The Rat Brain in estereotaxis coordinates**. Second Edition. Academic Press, Inc. USA.
- Peinado, M. (1990) The role of the amygdala and the hippocampus in working memory for spatial and non-spatial information. **Behavioural Brain Research**. 38(2): 117-134.
- Piercey, G., Vogelsang, R., Franklin, S. y Tang, A. (1987) Reversal of escopolamine-induced amnesia and alterations in energy metabolism by the nootropic piracetam: implications regarding identification of brain structures involved in consolidation of memory traces. **Brain Research**. 424: 1-9.
- Prado-Alcalá, R. (1985) Cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory. **Life Science**. 37(23): 2135-2142.
- Rosenzweig, M. y Leiman, A. (1992) **Psicología Fisiológica**. Segunda edición. McGraw-Hill, Inc. España.
- Sakurai, Y. (1990) Hippocampal cells have behavioral correlates during the performance of an auditory working memory task in the rat. **Behavioral Neuroscience**. 104(2): 253-263.
- Sass, K., Spencer, D., Kim, J. y Westerveld, M. (1990) Verbal memory impairment correlates with hippocampal pyramidal cell density. **Journal of Neurology**. 40(11): 1694-1697.
- Scoville, W. y Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral Hippocampal lesion. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**. 20: 11-21.
- Sherry, D. y Vaccarino, A. (1989) Hippocampus and memory for food caches in black-capped chickadees. **Behavioral Neuroscience**. 103(2): 308-318.
- Siegel, G., Agranoff, B. y Nayne, A. (eds.) (1994) **Basic Neurochemistry. molecular, cellular and medical aspects**. Raven Press. New York.
- Smith, M. y Milner, B. (1989) Right hippocampal impairment in the recall of spatial location: Encoding deficit or rapid forgetting? Special issue: Memory. **Neuropsychologia**. 27(1): 71-81.
- Squire, L. (1987) **Memory and Brain**. Oxford University Press, Inc. New York, Oxford.

- Squire, L. (1992) Memory and Hippocampus: A Syntesis from Findings with Rats, Monkeys and Humans. **Psychological Review**. 99(2): 195-231.
- Sudha, S., Lakshmana, M. y Pradhan, N. (1995) Changes in learning and memory, acetylcholinesterase activity and momoamines in brain after chronic carbamazepine administration in rats. **Epilepsia**. 36(4): 416-422.
- Toide, K. (1989) Effects of scopolamine on extracellular acetylcholine and choline levels and on spontaneous motor activity in freely moving rats measured by brain dialysis. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. 33(1): 109-113.
- Tranel, D. (1991) Dissociated verbal and nonverbal retrieval and learning following left anterior temporal damage. **Brain-and-Cognition**. 15(2): 187-200.
- Van-der-Staay, F., Raaijmakers, W., Lammers, A. y Tonnaer, J. (1989) Selective fimbria lesions impair acquisition of working and reference memory of rats in a complex spatial discrimination task. **Behavioural Brain Research**. 32(2): 151-161.
- Watanabe, T. y Nikl, H. (1985) Hippocampal unit activity and delayed response in the monkey. **Brain Research**. 325: 241-254.
- Wilson, F., Riches, I. y Brown, M. (1990) Hippocampus and medial temporal cortex: Neuronal activity related to behavioural responses during the performance of memory tasks by primates. **Behavioural Brain Research**. 40(1): 7-28.
- Winocur, G. (1990) Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. **Behavioural Brain Research**. 38(2): 145-154.
- Winocur, G. (1991) Functional dissociation of the hippocampus and prefrontal cortex in learning and memory. **Psychobiology**. 19(1): 11-20.
- Woody, C. (1986) **Memory, Learning and Higher Functions**. Springer-Verlag New York, Inc. New York.
- Yamamoto, T., Ohno, M., Kitajima, I. Yatsugi, S. y Ueki, S. (1993) Ameliorative effects of the centrally active cholinesterase inhibitor, NIK-247, on impairment of working memory in rats. **Physiol-Behav**. 53(1): 5-10.
- Zola-Morgan, S., Squire, L. y Amaral, D. (1986) Human amnesia and the medial temporal region: Enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. **Journal of Neuroscience**. 6: 2950-2967.
- Zola-Morgan, S. and Squire, L. (1986) Memory Impairment in monkeys following lesion of the hippocampus. **Behavioral Neuroscience**. 100: 155-160.
- Zola-Morgan, S. y Squire, L. (1990) The primate hippocampal formation: Evidence for a time limited rol in memory storage. **Science**. 250: 288-297.