

03081

3



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR

EFFECTO DE LA PROTEINA VIHGP120 SOBRE UN
MODELO DE LA ACTIVIDAD P3 EN LA RATA:
POSIBLES IMPLICACIONES EN LA DEMENCIA
ASOCIADA AL SIDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
**DOCTOR EN INVESTIGACION
BIOMEDICA BASICA**
PRESENTA
OSCAR RICARDO GALICIA CASTILLO

DIRECTOR DE TESIS DR OSCAR PROSPERO GARCIA

300019

CIUDAD UNIVERSITARIA, MEX.

2001



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.

Agradecimientos

Es en esta parte donde uno realiza un colosal esfuerzo cognoscitivo para tratar: 1) De acordarse de todos sus cuates, familiares, amantes, revisores, colados etc. y 2) De hacer una síntesis sobre las mejores cualidades, motivos o razones reales o imaginarias por las cuales es necesario agradecer a los antes mencionados.

Ambos procesos, el nómico y el sintético me resultan altamente complejos y he de reconocer que en el transcurso podría cometer alguna injusticia y olvidar mencionar algunos nombres. De tal forma que he omitido esto último y espero que cada quien se reconozca o se identifique con alguna dedicatoria o en su defecto lo haré verbalmente.

Por supuesto a la Familia

A los Galicia y a los Castillo

Alguna vez me dijeron: no vamos a evitar que te caigas, pero siempre estaremos ahí para recogerte. Gracias por no evitar las caídas y también por bajar continuamente a lo profundo del abismo a recoger mis pedazos, gracias por tener la paciencia de armarlos repetidamente hasta lograr en cada ocasión, algo que se pareciera a un hijo, a un hermano, a un sobrino, a un nieto o a un primo. De todas esas reconstrucciones sólo quedo yo, y cada uno de mis pedazos, que sin duda en conjunto o individualmente los queremos más de lo que podemos expresar.

A la Facultad de Medicina

A mis camaradas, colegas y amigos de la Facultad de Medicina. Por adoptarme, consentirme, consolarme, retarme, enseñarme. Por dejarme disfrutar de su comfortable compañía, por hacerme sentir como en casa otra vez, como arropado, como rescatado.

A mis camaradas IFC y la facultad de Psicología. Por dejarme generosamente alimentarme de ellos, comerme sus ideas, beber su compañía, afiorar su presencia.

A la CEPSE (Coordinadora de estudiantes de posgrado y sedes de investigación)

Particularmente la CEPSE me mostró que nunca se está lo suficientemente enfermo de conformismo y de razón como para dejar de indignarse con la injusticia, la mentira, el abuso o la imposición. Que bien se sabe que no se va a cambiar al mundo, pero que intentarlo, por dios que vale la pena.

A mis revisores

Dr. José Bargas

Dra. Lourdes Massieu

Dra. Feggy Ostrozky

Dr. Oscar Próspero

Dr. Gabriel Roldan

Dra. Carmen Soler

Dr. Luis E. Soto

Por no soltar la Tesis hasta que me sentí verdaderamente orgulloso de ella.

A los amores de mi vida. Es tan corto el amor y es tan largo el olvido

A los que están lejos.

La distancia no es cuanto nos separemos, la distancia es si no volvemos.

A la mujer de mi vida

Donde quiera que se encuentre

Ya aparécete ingrata

A mis queridos fantasmas.

Gracias por aparecerse por las noches, por hablarme por la espalda, por dejarme ver sus sombras en la oscuridad, por dejarse ver en sueños, por haber llenado mi vida antes de irse. Por dejarme sentir que la cercanía, la pertenencia e incluso el amor no son cuestiones de sangre, tiempo, distancia, vida o muerte. Y sobre todo, gracias por regalarme el recuerdo de su extraordinaria existencia.

Especialmente al Dr. Oscar Próspero que aún siendo una persona con una visión del mundo completamente distinta a la mía, me hizo darme cuenta que lo único que te evita aprender de otros, es la soberbia de pensar que se está en lo correcto, que la verdad y la sabiduría son dos pequeños niños tirando de tus ropas mientras tu los buscas en el horizonte, que las cosas no pasan, uno las provoca, que antes de ser, se necesita creer, ahora creo, ahora soy. Oscar sabe que me sentiría honrado de que fuera mi enemigo, pero afortunadamente, cuento con su amistad.

A Tere Montiel. Por que todo lo que se hacer bien en un laboratorio, ella me lo enseñó, y todo lo que hago mal, lo aprendí yo sólo.

Güero como te hubieras divertido, va por ti.

Indice

Abreviaciones

Introducción

1) El Virus de Inmunodeficiencia Humana	
<i>Las Proteínas Virales</i> 5
<i>La Replicación Viral</i> 6
<i>La gp120</i>9
2) Las Quimiocinas	
<i>Los receptores a Quimiocinas y tropismo viral</i>11
<i>Las Vías de Señalización Interna</i>12
3) Trastornos del Sistema Nervioso Central Asociados al SIDA	
<i>Clasificación</i>14
<i>Demencia Asociada al VIH</i>16
<i>Aspectos Cualitativos</i>17
<i>Anormalidades Histopatológicas</i>18
<i>La muerte celular</i>19
<i>El papel causal del virus en la Demencia</i>21
<i>El papel causal de la HIVgp120 en la demencia</i>23

4)	<i>La electrofisiología</i>	
	<i>Los potenciales relacionados a eventos</i>27
	<i>Los generadores de la P300</i>29
	<i>La P300 y la neuropsiquiatría</i>30
6)	<i>Antecedentes</i>	
	<i>Los estudios en humanos</i>32
	<i>Los estudios en animales</i>34
9)	<i>El Problema</i>37
10)	<i>Método Y Resultados</i>	
	<i>El modelo</i>39
	<i>El efecto de la HIVgp120 sobre el P3</i>55
12)	<i>Discusión General</i>63
13)	<i>Conclusiones</i>81
14)	<i>Referencias</i>82
15)	<i>Anexos</i>	

Resumen

La demencia asociada al SIDA se define como un trastorno de la cognición caracterizado por la alteración de diversos procesos tales como la atención, la memoria, el control motor, la percepción sensorial, así como de algunas funciones reguladas por los núcleos del tallo cerebral (Grant 1995; 1996). Esta demencia se presenta en alrededor del 30% de los pacientes adultos y en el 50% de los pediátricos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Debido a que el VIH solo infecta a las neuronas excepcionalmente y a que su principal blanco en el cerebro es la microglía, se han sugerido distintas hipótesis que podrían explicar su etiología. Actualmente estudios realizados *in vitro*, han sugerido que la glicoproteína gp120 del VIH (VIHgp120), es altamente neurotóxica. Aparentemente la VIHgp120 facilita la neurotransmisión glutamatérgica, incrementa la conductancia al Ca^{2+} , activa los receptores que normalmente ocupan las quimiocinas, incrementando el $[Ca^{2+}]_i$ y activando varias vías de señalización interna dentro de las que se encuentran varias cinasas. El conocimiento de estos mecanismos moleculares, nos ha permitido desarrollar modelos animales en los cuales hemos mostrado que la VIHgp120 es altamente neurotóxica ya que induce diversas anormalidades conductuales, tanto en los gatos como en las ratas. El objetivo del presente estudio fue describir el efecto de la proteína VIHgp120 en el potencial P300 evocado por una tarea de discriminación en ratas. Para tal objetivo se utilizaron 11 ratas divididas en dos grupos: HIVgp120 (n=6) y el control (n=5). Se registro la onda P300 antes del tratamiento y durante la administración ICV de HIVgp120 (700ng/5 días) o salina, así como 24 hrs, 7, 14, 21 días después del tratamiento. Nuestros resultados indican que no hay diferencias en los grupos en la amplitud o latencia de los componentes observados (N1, P2, N2 y P3) evocado por el estímulo blanco en la línea base o durante la inyección. Sin embargo, el grupo HIVgp120 muestra una reducción significativa de la amplitud en la P3 24 hrs después de la última inyección, mientras que la N1, P2 y N2 permanecieron sin cambios. Sin embargo, a partir del día 7 hasta el día 21. Los componentes P2, N2 también desaparecieron y solo el componente N1 podía ser observado en el grupo HIVgp120. Los cambios en los componentes N2, P2 y P3 sugieren una alteración en los procesos cognoscitivos, adicionalmente apoyan la hipótesis de la actividad neurotóxica de la HIVgp120 y su papel en la demencia asociada al SIDA.

SUMMARY

20-30 % of AIDS patients have neurological symptoms characterized by motor impairment, memory loss and progressive dementia. Previous studies have implicated the HIV derived gp120, since it produces behavioral deficits and electrophysiological alterations in rats. The goal of the present study is to describe the effect of this protein on the P3 event-related potential (ERP), evoked by a passive discrimination task in rats. We used 11 rats divided into two groups: HIVgp120 (n=6) and control (n=5). We recorded the P3 wave before any treatment (baseline), during the ICV administration of either HIVgp120 (700 ng/ 5 days) or saline (pH=7.2), and 24 hours, 7, 14 and 21 days after the last injection. Our results indicate that there are no changes between groups in the amplitude or latencies of the observed components (N1, P2, N2 and P3) evoked by target stimuli, during baseline or during the injection period. However, the HIVgp120 group showed a significant amplitude reduction in P3 wave, 24 hours after the last injection, while the N1, P2 and N2 waves remained unchanged. However, from the 7th day through the 21st day, P2 and N2 components also disappeared and only the N1 component could be observed in the HIV gp120 treated group. These changes in the N2, P2 and P3 potentials suggesting an alteration in cognitive processes, further support the HIVgp120 neurotoxic activity and its role in AIDS dementia.

Key words: HIVgp120, AIDS dementia complex, Event Related Potentials, P300, N100, Cognition.

Abreviaciones

BAEP	Brainsteam auditory evoked potential (potencial evocado auditivo de tallo cerebral)
CA	Capside
DAS	Demencia Asociada al SIDA
DHDA	Desorden hiperactivo con déficit de la atención
EC	Estímulo condicional
EEG	Electroencefalograma
EI	Estímulo Incondicional
EN	Estímulo Neutral
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy
IEE	Intervalo Entre estímulos
ICV	Intra cerebro-ventricular
IN	Integrasa
LAEP	Long latency auditory evoked potential (potencial evocado auditivo de latencia larga)
MA	Matriz
NC	Núcleo Capside
PEA	Potencial evocado auditivo
PET	Tomografía por emisión de positrones
PR	Proteasa
PRE	Potencial Relacionado a Eventos
RT	Transcriptasa Reversa
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirada
SNC	Sistema Nervioso Central
SU	Superficie o gp120
TM	Transmembranal o gp41
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VIF	Virus de Inmunodeficiencia Felina
VIP	Peptido Vasoactivo Intestinal

Introducción

El primer reporte oficial del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en el mundo tuvo lugar en San Francisco, California en 1981. Sin embargo, la ocurrencia de una respuesta serológica positiva para el VIH (virus de inmunodeficiencia humana) en sangre almacenada en Zaire desde 1959 (Piot y cols 1988), muestra que el virus ya se encontraba en algunas poblaciones humanas por lo menos dos décadas antes. De hecho, existen pruebas de la expansión del VIH sobre las áreas urbanas del Africa central desde 1970, en donde una serie de padecimientos poco frecuentes como la meningitis por criptococo, la diarrea crónica y el sarcoma de Kaposi comenzaron a ser reportados.

La primera indicación de que el SIDA podría ser causado por un retrovirus apareció en 1983, cuando Barre-Sinoussi y colaboradores del Instituto Pasteur recuperaron una transcriptasa reversa de un nodo linfóide de un sujeto enfermo de SIDA. En 1986, el Comité Internacional en Taxonomía de Virus recomendó dar al virus que ocasiona el SIDA el nombre de Virus de Inmunodeficiencia Humana.

En 1981 las autoridades sanitarias de los Estados Unidos se encontraban muy lejos de imaginar que esta enfermedad, que se encontraba principalmente difundida entre homosexuales y drogadictos, fuera a convertirse en una de las peores pandemias del siglo XX.

Ya para finales de 1987, en Estados Unidos se habían reportado 49 793 casos y diez años después en 1997 la cifra aumento a 270 000. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, para 1994 había 13 millones de personas infectadas en el mundo y los cálculos más conservadores suponen que solamente en el 2000 alrededor de 5.3 millones de personas fueron infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). En estos momentos los cálculos más optimistas sugieren que al menos 36.1 millones de personas se encuentran viviendo con la infección y que al menos 21.8 millones de personas han muerto desde el principio de la pandemia (ONUSIDA y OMS 2000).

Desde 1981 y poco después del reconocimiento del SIDA, comenzaron a aparecer reportes sobre una inusual encefalopatía en los pacientes

infectados. Este trastorno neurológico se presenta entre el 20 y 30 % de los pacientes adultos y en el 50 o 60 % de los pacientes pediátricos. Las características principales de esta encefalopatía son un profundo deterioro de las funciones mentales superiores y el control motor.

Originalmente se pensó que el síndrome neurológico estaba relacionado a las infecciones oportunistas que subyacen a la infección por VIH. Sin embargo, la identificación de la etiología retroviral del SIDA, así como la identificación del VIH en el cerebro llevó a suponer que el virus por sí mismo era el responsable del deterioro funcional observado en los pacientes con demencia. Esta hipótesis cobró relevancia casi inmediata, debido a que otros retrovirus, como el virus de la anemia infecciosa equina o el virus Visna, son capaces de producir encefalopatía en sus hospederos.

Sin embargo, la teoría del daño directo causado por el virus sufrió un grave revés con el descubrimiento de dos hechos que dificultan esta posibilidad. El primero es que, la cantidad de virus en el cerebro se calcula que es muy pequeña. Segundo que el VIH raramente infecta a las neuronas, lo que hace lejana la posibilidad del daño directo por el virus.

Sin embargo, no deja de estar claro que el 30 al 50 % de los sujetos VIH+ y los pacientes con SIDA, presentan daño neurológico y demencia. Los análisis *post mortem*, de los cerebros de estos pacientes indican que hay muerte neuronal. Así como, el tratamiento con antivirales que atraviesan consistentemente la barrera hematoencefálica, como el AZT disminuyen la incidencia en los casos de demencia. De tal forma que si el virus no es el responsable directo del daño, algún elemento asociado a este se encuentra produciendo el daño neuronal mediante un mecanismo indirecto.

Varios mecanismos fisiopatológicos han sido sugeridos, pero hasta el momento no se ha corroborado ninguno de ellos. La evidencia experimental ha involucrado a las proteínas de la envoltura viral gp120 y la gp41. En estudios realizados *in vivo* e *in vitro*, la gp120 ha mostrado que es capaz de producir muerte neuronal lo que sugiere que esta involucrada en el deterioro funcional que se observa en la demencia.

Determinar los factores implicados en el desarrollo de la demencia en humanos VIH⁺ resulta una tarea muy difícil, dada la cantidad de variables que se presentan y que son difíciles de controlar en estos pacientes. Variables tan importantes como la presencia del virus y todos sus productos,

la presencia de infecciones oportunistas, el uso de antivirales, el estado funcional de su sistema inmune, etc.

El uso de modelos animales ha permitido a diversos grupos de trabajo probar de manera controlada y sistemática aquellos factores sospechosos de participar en el desarrollo de la demencia, aportando evidencia experimental sobre la relevancia de las proteínas de la envoltura viral y en particular el de la gp120, en la patogénesis de la demencia asociada al SIDA.

El presente trabajo se encuentra organizado en capítulos para facilitar su lectura. Dentro del trabajo se incluyen dos artículos de revisión y un artículo original que formaron parte de los productos que generó este proyecto.

Los primeros tres capítulos titulados: El virus de Inmunodeficiencia Humana, Las Quimiocinas y los Trastornos del Sistema Nervioso Central Asociados al SIDA, constituyen un artículo de revisión que se tituló: **La demencia asociada al SIDA** y que actualmente se encuentra en fase de revisión por el comité editorial de la revista de **Investigación Clínica** del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Suvirán.

El cuarto capítulo referente a la electrofisiología y al potencial P3 forma parte de una revisión en extenso que se tituló: **La atención: la compuerta de la conciencia** la cual se publicó en la revista de **Salud Mental** del Instituto Mexicano de Psiquiatría en 1999.

Los resultados se presentan en dos partes, la primera de ellas resume los experimentos llevados a cabo en la caracterización del modelo animal de la respuesta P3. Y en la segunda parte se muestra el efecto de la HIVgp120 sobre la respuesta P3, estos últimos resultados, dieron lugar a la publicación titulada: **HIV-derived protein gp120 suppresses P3 potential in rats: potential implications in HV associated dementia** que apareció en la revista de **Neuroreport** del 2000.

Las publicaciones pueden consultarse en la sección de anexos al final de la tesis.

El Virus de Inmunodeficiencia Humana

Las Proteínas Virales

El virus de inmunodeficiencia humana es un retrovirus de la familia de los lentivirus que en términos simplistas podemos considerar como una entidad molecular consistente en 15 proteínas organizadas en dos copias de RNA de ~9 Kb. El genoma del VIH contiene la información para más de una docena de proteínas que se encuentran organizadas tal como se observa en la figura 1.

Todos los provirus retrovirales se encuentran flanqueados por secuencias repetitivas llamadas repeticiones terminales largas (LTR por sus siglas en inglés). El LTR 5' contiene secuencias de promotor y enhancer esenciales para la transcripción, mientras que el LTR 3' es requerido para la poliadenilación de los transcritos de RNA. El provirus del VIH contiene tres genes que también son comunes para otros retrovirus: *gag*, que codifica para las proteínas del núcleo viral, *env*, que codifica para las glicoproteínas de la envoltura viral y *pol*, que codifica para las proteínas no estructurales requeridas para la replicación (véase la figura 1).

El núcleo viral, se encuentra constituido por varias proteínas, entre ellas la MA (matriz), la CA (capside), la NC (núcleo capsid) y p6, mientras que la envoltura viral se encuentra constituida por la membrana de la célula huésped, modificada por la inserción de las proteínas gp120 y gp41. Por otro lado, algunas proteínas que proveen las funciones enzimáticas esenciales para el virus son la PR (proteasa), RT (transcriptasa reversa), la IN (integrasa) y la RNAsa (Frankel y Young 1998).

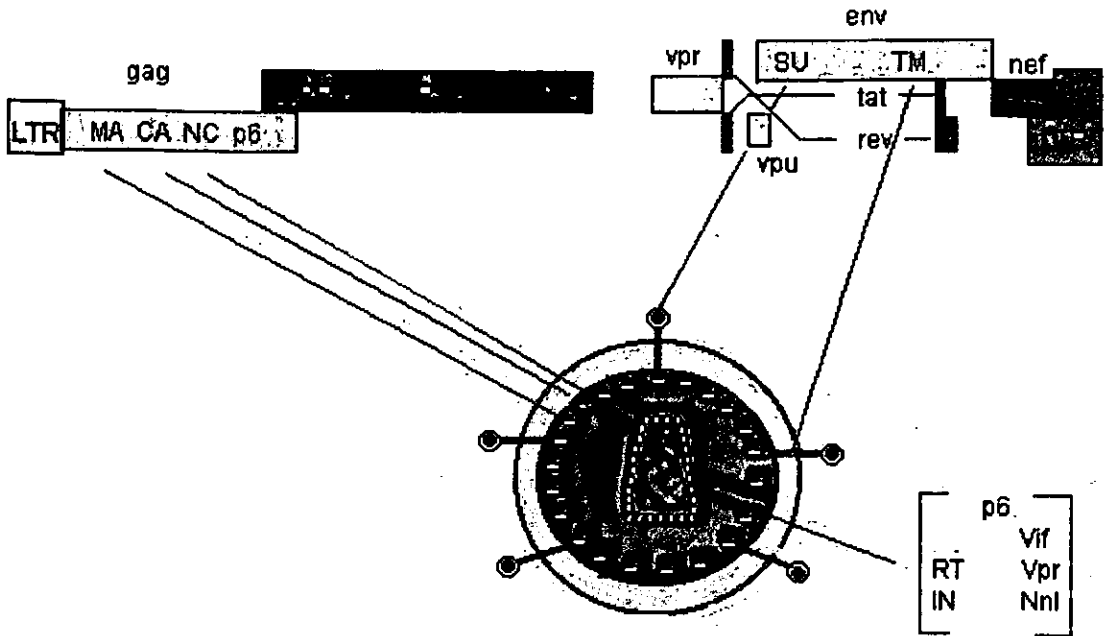


Figura 1. Esquema de los genes del VIH, así como las proteínas que son codificadas por cada gen. La descripción de estas proteínas, así como las abreviaciones se encuentran en el texto (Modificada de Frankel y Young 1998).

Otras proteínas que se denominan accesorias, son importantes para la función del virus, por ejemplo Tat, tiene funciones reguladoras, esenciales para incrementar la actividad de la polimerasa (enhancer) y Rev y Vpu que indirectamente participan en el ensamblaje del virión.

La Replicación Viral

Es posible dividir el ciclo de replicación del VIH en varios pasos. El primero de ellos lo constituye la unión de la gp120 tanto a los receptores CD4 como a los correceptores a quimiocinas del tipo CC o CXCR4 en las células blanco. Esta unión produce un cambio conformacional en la gp41 que media la fusión de la membrana viral con la membrana de la célula blanco (el complejo mecanismo de la fusión puede verse en Chan y Kim 1998 para una revisión). Seguido a la fusión, la nucleocapside del VIH es internalizada y el RNA viral se transcribe a DNA por la transcriptasa

reversa. El DNA viral entonces se integra al genoma de la célula huésped formando un provirus. Este proceso se encuentra mediado por la enzima integrasa. Una vez integrado el DNA viral se encuentra permanentemente asociado con el DNA de la célula huésped y este es transmitido a las células hijas mientras la célula se divide. Mientras el provirus permanece en estado de latencia, los genes virales no se expresan y por lo tanto el virus es capaz de permanecer oculto para el sistema inmune del huésped (véase la figura 2) (Kuby 1998; Frankel y Young 1998).

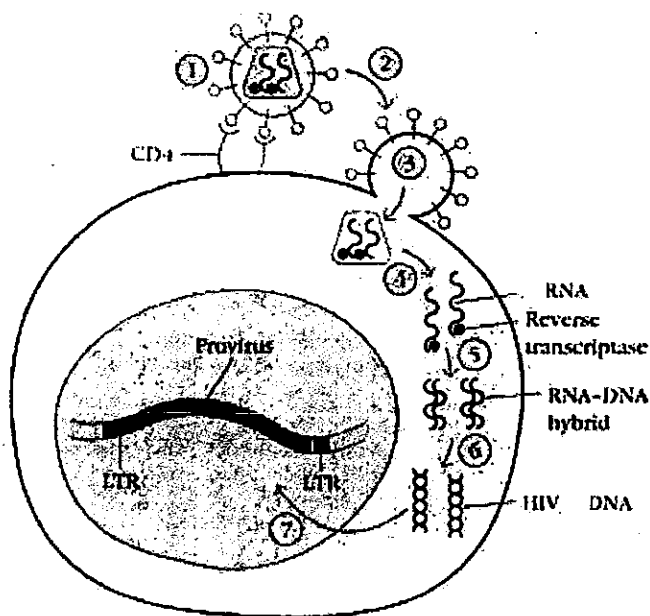


Figura 2. Se muestran los pasos en la de las células blanco por el VIH. 1.La gp120 se une al receptor CD4 en la célula blanco. 2. La fusión de las membranas (viral y celular) es mediada por la gp41. 3. La nucleocápside conteniendo el genoma viral y las enzimas entra a la célula. 4. se libera el genoma viral. 5. La transcriptasa inversa cataliza el RNA viral formando híbridos de RNA-DNA. 6. El molde de RNA es parcialmente degradado y seguido por la síntesis de una segunda cadena de DNA. 7. El DNA viral es transportado al núcleo e integrado en el cromosoma de la célula huésped. (Tomada de Kuby 1998).

La activación proviral inicia la transcripción de los genes estructurales a RNAm. Los RNAs con longitud genómica son transportados del núcleo al citoplasma donde serán traducidos o empaquetados, este último paso es regulado por la proteína Rev.

Conforme las proteínas virales comienzan a ensamblarse dentro de la célula huésped, la membrana plasmática de la célula huésped se modifica por la inserción de la gp41 y la gp120.

Para proveer las proteínas gp120 y gp41 para el recubrimiento de la membrana externa durante la maduración, la gp120 debe ser liberada de los complejos que forma con CD4 (el receptor de VIH en la superficie celular) el cual es coexpresado junto con la gp120 en el retículo endoplasmico, la proteína vpu asiste a este proceso por promover la degradación de CD4. La gp120 es transportada a la superficie celular donde nuevamente se previene que se una al CD4, gracias a la endocitosis y degradación del CD4 de la superficie membranal promovida por Nef (Frankel y Young 1998).

Es en este momento donde el RNA viral y las proteínas nucleares son empaquetadas dentro de la membrana del huésped. Conforme la partícula se completa y se libera de la pared celular cubierta con las proteínas gp120 y gp41, el virión lleva a cabo una serie de cambios morfológicos conocidos como maduración. Es en este punto cuando el virus ya maduro se encuentra listo para infectar otra célula guiado por las interacciones entre la (gp120), el CD4 (vease figura 3).

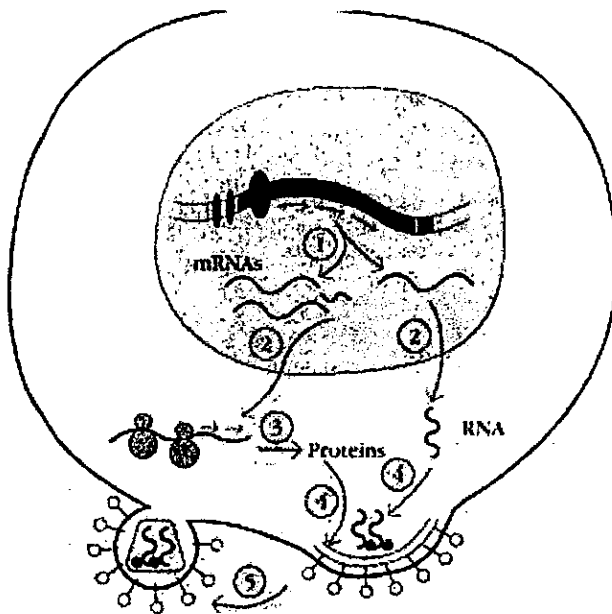


Figura 3. Se muestra la secuencia de activación del provirus hasta la liberación de un nuevo virus. 1. Se estimula la transcripción del DNA proviral a RNA genómico y RNA mensajeros. 2. El RNA viral es exportado al citoplasma. 3. Las enzimas del huésped catalizan la síntesis de las proteínas virales. 4. El RNA y las proteínas virales se empaquetan en la membrana de la célula huésped donde la gp41 y la gp120 son insertadas. 5. La membrana forma la envoltura viral. (Tomada de Kuby 1998).

La gp120 (SU)

Como se mencionó anteriormente la gp120 es de gran relevancia para el proceso de acoplamiento a los receptores celulares, fusión membranal y finalmente infección de la célula huésped .

La gp120 es una glicoproteína de la superficie viral con un peso molecular de 120 KD la cual posee cinco regiones variables (V1-V5). El principal receptor celular para el VIH es el receptor CD4, una proteína semejante a las inmunoglobulinas que se expresa principalmente en la superficie de un subtipo de células T y macrófagos primarios.

La interacción del receptor CD4 con la gp120 no es suficiente para la entrada del VIH a la célula huésped. Un grupo de receptores a quimiocinas (una familia de proteínas de siete dominios transmembranales acopladas a proteínas G que revisaremos más adelante) sirven como correceptores vírales (Frankel y Young 1998).

Existe evidencia que señala que la unión de la gp120 con el receptor CD4 produce un cambio conformacional en la gp120, provocando que se exponga su área de unión al receptor de quimiocinas. Se ha sugerido que la unión al correceptor de quimiocinas adicionalmente expone a la gp41 facilitando la fusión membranal (Turner y Summers 1999).

Los Receptores a Quimiocinas y el Tropismo Viral

Como se había revisado en una sección anterior, el VIH infecta a la célula, por una fusión mediada por las glicoproteínas de la membrana viral (gp120) que se unen con alta afinidad al receptor CD4.

Algunas observaciones mostraron que diferentes linajes del VIH infectan preferentemente distintos tipos celulares. Por ejemplo, algunos de ellos muestran una eficiente infectividad sobre líneas celulares del tipo T; sin embargo, su infectividad sobre macrófagos es muy pobre. Estos virus generalmente forman sincicios (la fusión entre la gp120 de las células infectadas y el receptor CD4 de las células sanas formando una célula gigante multinucleada en la que se funden hasta 500 células T CD4) y se han designado como trópicos de la línea celular T (T trópicos).

En tanto otros linajes del VIH muestran la preferencia opuesta infectando más eficientemente a los macrófagos que a las células T, este tipo de linajes han sido designados macrófago trópicos (m-trópicos) o no inductores de sincicios (Berger 1999).

Varios miembros de la familia de receptores a quimiocinas son usados por el VIH junto con el CD4 para entrar a la célula blanco. Los VIH macrófago-trópicos (m-trópicos) usan predominantemente el receptor a quimiocinas CCR5 como correceptor, mientras que los VIH que infectan las células T (T-trópicos) usan el correceptor CXCR4 (anteriormente llamado fusina) (Gabuzda 1998).

El receptor CCR3 también puede ser utilizado como correceptor por los virus m-trópicos. El uso de los receptores CCR3 y CCR5 utilizados por el VIH para infectar a la microglia hacen más eficiente la infección de estas células por virus m-trópicos en comparación a los macrófagos-monocíticos residentes en sangre quienes solo poseen el receptor CCR5.

Los determinantes moleculares del tropismo del VIH, así como de su eficiencia para la replicación, se encuentran en el gene Env, particularmente en los aminoácidos de la región V3 de la gp120. Algunos aminoácidos en las regiones V1 y V2 de la gp120 y otros de la gp41, también influyen en el macrófago-tropismo. Por otro lado, la presencia de ciertas secuencias de las regiones V1 y V3 se han correlacionado con la demencia (Donaldson 1994; Gabuzda 1998; Power y cols. 1998).

Es importante notar que en las etapas tempranas de la infección predominan las variantes de VIH macrófago-trópicos no inductores de sincisios. Sin embargo, aproximadamente la mitad de aquellos individuos que desarrollan el SIDA muestran un cambio en su fenotipo viral a una forma de virus citopático de eficiente replicación (rápida y alta) del tipo inductor de sincisios T-trópico. Este cambio en el fenotipo se ha reportado que precede a una acelerada pérdida de linfocitos CD4 (Connor et al. 1993; Donaldson 1994).

Estos resultados son apoyados por Connor y cols. (1997) quienes a través de aislamientos secuenciales en tres pacientes muestran que el VIH utiliza casi exclusivamente al receptor CCR5 en los primeros estados de la infección. Sin embargo, el virus amplía su uso de correceptores para incluir, el CCR3, CCR2 y finalmente el CXCR4 durante el progreso de la enfermedad. La habilidad para utilizar el CXCR4 como correceptor solamente fue observada con virus cuyo fenotipo era del tipo inductor de sincisios y cuya aparición correlacionó con una súbita disminución de células T CD4, así como con la aparición de un deterioro clínico notable.

Las Vías de Señalización Interna

Poco se ha estudiado sobre las vías de señalización interna asociadas a la estimulación de los receptores a quimiocinas. Actualmente se conoce que los estímulos quimiotácticos inician la respuesta en la célula al unirse a receptores acoplados a proteínas G sensibles a la inhibición por toxina pertusis, sugiriendo que las proteínas asociadas son del tipo Gi o Go (Bates y cols. 2000)

El resultado de la unión ligando-receptor puede observarse en la figura 4 en donde se representa la disociación de la proteína G en las subunidades α y $\beta\gamma$. La subunidad $\beta\gamma$ activa a la fosfolipasa C (PLC)- β y a la fosfatidilinositol 3-OH kinasa (PI3K). La PLC rompe el fosfatidilinositol (4,5) bifosfato [PtdIns(4,5)P₂] en inositol (1,4,5) trifosfato [Ins(1,4,5)P₃] y diacilglicerol (DAG). El inositol trifosfato produce la liberación de Ca²⁺ de posas intracelulares y el diacilglicerol junto con el Ca²⁺ activan varias isoformas de la protein kinasa C (PKC) (Baggiolini 2000).

Asimismo, se ha reportado que la gp120 o una β quimiocina como el MIP (Macrophage Inflammatory Protein) activan varias tirosina kinasas

Trastornos del Sistema Nervioso Central Asociados al SIDA

Clasificación

Los trastornos del SNC en la infección por VIH se han clasificado en trastornos de tipo focal y trastornos de tipo no focal.

Dentro de los trastornos de tipo focal podemos encontrar a la toxoplasmosis cerebral, al linfoma primario de SNC y a la leucoencefalopatía multifocal progresiva. En todos estos, es posible observar disfunción hemisférica focal (i.e hemiparesis, afasia, apraxia, y hemianopia homónima) y de manera menos frecuente manifestaciones de trastornos cerebelares o del tallo cerebral.

Muchas de las complicaciones neurológicas por infección con VIH ocurren en su fase tardía; sin embargo, existen algunas encefalopatías que se presentan de manera excepcional durante la seroconversión o durante la fase aguda de la infección por VIH (Price 1996).

La presencia de estas condiciones son raras durante las fases medias o iniciales de la infección por VIH, a tal grado que la frecuencia de trastornos del SNC en los pacientes con VIH es ligeramente superior al observado en la población en general (Price 1996).

Dentro de los agentes que comúnmente se relacionan con el daño sobre el SNC son el *Cryptococcus neoformans* y la *Mycobacterium tuberculosis*, los cuales son la causa más común de meningitis en estos pacientes, se encuentra también el virus *JC* responsable de la leucoencefalopatía multifocal progresiva y el *Toxoplasma gondii* causante de abscesos cerebrales principalmente en el diencefalo y la corteza (Price 1996).

Los casos restantes de trastornos neurológicos locales en la fase tardía de la infección por VIH son provocados por agentes poco comunes como infecciones por citomegalovirus o desmielinización por virus de varicela-zoster.

Por otra parte los trastornos de tipo no focal se han dividido en dos grupos dependiendo del tipo de deterioro que producen sobre el estado de alerta:

(a) Desórdenes en donde la alerta esta característicamente alterada; (b) desórdenes en donde la alerta está preservada a pesar del deterioro cognoscitivo.

Dentro de los trastornos con alerta alterada encontramos a las encefalopatías metabólicas y tóxicas, así como trastornos microvasculares relacionado a sepsis o coagulación intravascular diseminada.

El trastorno no focal del SNC de mayor predominancia en los pacientes infectados con VIH es del tipo de alerta preservada y se trata de la demencia asociada al VIH de la cual hablaremos con mayor detalle.

Alrededor de un 30 % de los pacientes adultos y 50 % de los pacientes pediátricos que padecen el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) eventualmente desarrollan una serie de manifestaciones neurológicas que incluyen disfunciones en la cognición, el movimiento y la sensopercepción que son la consecuencia directa de la infección del VIH (Lipton 1998).

Este desorden Neurocognoscitivo se ha asociado al SIDA incluso antes de que el VIH fuera identificado como el agente responsable de la inmunosupresión.

Desde 1982 existen reportes de pacientes, donde se reportan desórdenes neurológicos asociados a trastornos de las funciones mentales superiores. En estos reportes son persistentes las descripciones de estados de demencia y cuadros psicóticos, mientras que los exámenes neuropatológicos mostraban evidencias de una encefalopatía aguda (Grant, y cols.1995).

No es sino a mediados de la década de los 80 cuando un grupo de investigadores del Memorial Sloan-Kettering realizó el primer intento sistemático para caracterizar los desórdenes cognoscitivos asociados con el SIDA, proponiendo el término "Complejo Demencial Asociado al SIDA" (Grant, y cols. 1995). Pero no es sino recientemente que se le ha rubricado como Complejo Cognoscitivo-Motor Asociado al VIH (Lipton 1998).

El término desorden (como desorden neurocognoscitivo) puede ser reservado para aquellos individuos que tienen algún déficit neurocognoscitivo suficientemente significativo para producir incapacidad, i.e., interfiriendo su funcionamiento cotidiano.

La ejecución deficiente en algún área cognoscitiva es tomada en cuenta para establecer el diagnóstico. Las habilidades cognoscitivas comprenden a la atención (velocidad del procesamiento de la información), al área verbal (abstracción y habilidades lingüísticas), la ejecución psicomotora, las habilidades sensoriales y a la memoria (que incluye al aprendizaje y el recuerdo de la información).

Tomando en cuenta la severidad y temporalidad del desorden se pueden encontrar tres formas de trastorno neurocognoscitivo en las personas infectadas con VIH.

- 1) Desorden neurocognoscitivo moderado.
- 2) Demencia Asociada al VIH.
- 3) Delirium Asociado con el VIH.

A continuación se muestran los criterios de Grant y cols (1995) para el diagnóstico de la demencia asociada al VIH:

Demencia Asociada al VIH

1. Deterioro marcado en el funcionamiento cognoscitivo, implicando al menos dos áreas cognoscitivas (v.gr, atención y memoria). Típicamente, el deterioro es evidente en áreas cognoscitivas múltiples como el aprendizaje de nueva información, la lentificación en el procesamiento de la misma y una defectuosa capacidad de atención-concentración. El deterioro cognoscitivo debe determinarse de acuerdo al examen del estado mental y a las pruebas neuropsicológicas.
2. El deterioro cognoscitivo produce una marcada interferencia con las actividades cotidianas (trabajo, hogar, actividades sociales).
3. El marcado deterioro cognoscitivo ha estado presente al menos un mes.
4. El patrón de deterioro cognoscitivo no cumple con los criterios del delirium.
5. No existe evidencia de otra etiología preexistente que pueda explicar la demencia (v. gr, neoplasias en el CNS, un desorden cerebro vascular, abuso de sustancias etc).

Aspectos Cualitativos

Los déficits cognoscitivos que exhiben los pacientes con demencia asociada al VIH son similares a los que se han asociado con las demencias subcorticales. La demencia subcortical se caracteriza por defectos de la memoria, la incapacidad para utilizar conocimientos adquiridos, cambios de personalidad caracterizados por apatía, inercia, en ocasiones irritabilidad y lentificación general en los procesos de pensamiento. Las enfermedades que se asocian con la demencia subcortical son aquellas que afectan los ganglios basales, el tálamo y la corteza prefrontal (Ostrosky-Solis 1996).

Las principales características clínicas en el concepto neuropsicológico de los déficits subcorticales incluyen la lentificación del procesamiento de la información, el habla reducida, deterioro de la actividad motora y deterioro del recuerdo libre de la información recientemente aprendida con una preservada capacidad de recuerdo por reconocimiento (Grant 1996).

Las primeras manifestaciones de este deterioro en los sujetos desarrollando la demencia asociada al VIH se manifiesta por la necesidad de tener que hacer listas para recordar las cosas que deben realizar. Asimismo las tareas complejas pero rutinarias tienen que dividirlas en pasos que les posibilitan su realización.

Al mismo tiempo, estos pacientes comienzan a perder interés por sus trabajos, así como por sus actividades recreativas y sociales. Es frecuente que esta creciente apatía junto con la lentificación de la actividad mental, sea frecuentemente confundida con depresión.

Los síntomas motores aparecen un poco después, manifestándose por un temblor exagerado, así como por una marcha lenta e insegura, la lentificación en los movimientos de las extremidades y liberación de los reflejos son también comunes (Price 1988).

Con el tiempo, el deterioro intelectual se vuelve más pronunciado, afectando ampliamente casi todos los aspectos de la cognición haciéndose la ejecución de los sujetos cada vez más lenta e ineficiente, la apatía incrementa, el lenguaje se lentifica hasta prácticamente el mutismo absoluto. En paralelo, se desarrolla una clara debilidad muscular, hipoquinesia, e

incontinencia. En algunos casos, los pacientes desarrollan estados mentales agitados acompañados de manía u otras psicosis de tipo orgánico, así como disfunciones extrapiramidales con bradiquinesia e inestabilidad postural semejante al Parkinson (Price 1988).

Anormalidades Histopatológicas

Las principales anomalías histopatológicas en la demencia asociada al SIDA son de tres tipos: palidez difusa de la materia blanca, encefalitis de células multinucleadas y mielopatía vacuolar.

La palidez difusa de la materia blanca puede ser identificada en un buen número de pacientes con apariencia normal o con alteraciones neurológicas subclínicas. Cuando esta palidez se encuentra presente sin células multinucleadas, los cambios inflamatorios son verdaderamente escasos, consistiendo únicamente en algunos linfocitos perivasculares y macrófagos pigmentados acompañados de astrocitos.

Las células multinucleadas son encontradas en subgrupos de pacientes con padecimientos clínicos más severos. En los cerebros de estos pacientes, los infiltrados reactivos más prominentes y consistentes son de macrófagos perivasculares y parenquimales, microglia y linfocitos (Brew y cols. 1995; Price 1988).

Estos infiltrados se encuentran más concentrados en la materia blanca y en estructuras profundas de materia gris, incluyendo particularmente los ganglios basales, el tálamo y el puente. Tanto en la materia gris como en la blanca es común encontrar astrocitos reactivos.

Finalmente la mielopatía vacuolar es evidente por la inflamación de las capas de las vainas de mielina. Esta degeneración es semejante a la que ocurre por la deficiencia de vitamina B12. La mielopatía puede ocurrir en ausencia de cambios asociados a células multinucleadas.

En el cerebro los macrófagos residentes y la microglia son las células en las que principalmente se detecta la presencia del virus, aunque existen reportes sobre la infección de otro tipo de células cerebrales como células endoteliales, astrocitos; oligodendrocitos e incluso neuronas. Sin embargo,

en el caso de estas últimas, su infección puede considerarse más como una excepción que como la regla (Price y cols. 1988; Levy 1994).

La Muerte Celular

Los cambios motores y cognitivos de la DAS semejan a los observados para las demencias de tipo subcortical, que son resultado del daño o la disfunción prefronto-estriatal. Es precisamente en las estructuras de los ganglios basales donde se ha verificado la susceptibilidad de sus células a la lesión por VIH o por VIHgp120.

Actualmente la mayoría de los indicadores de la muerte celular en el cerebro de los sujetos con DAS son de tipo indirecto. La primera sugerencia radica en la localización de células positivas para anticuerpos contra p24 ubicadas en el globo pálido y los ganglios basales en el análisis *post mortem* de pacientes con encefalopatía. La presencia de estos anticuerpos se considera un indicador de una mayor carga viral en estas áreas (Brew 1995), asimismo, en los estudios de PET (Tomografía por emisión de positrones) se han descrito alteraciones particulares en el metabolismo de la glucosa en el estriado de sujetos con DAS, en estos pacientes se ha observado un hipermetabolismo que sugiere un deterioro en las funciones metabólicas del estriado (Rottenberg 1996). Por otra parte, Wiley y cols. (1995) con una reconstrucción tridimensional de resonancia magnética observan una correlación positiva entre la pérdida de la materia gris en el estriado, el globo pálido y el tálamo y la abundancia del virus en el cerebro de sujetos examinados *post mortem*.

En otro tipo de estudios Bennett y cols. (1995) observan que los cultivos de células mesencefálicas tratadas con HIVgp120 reduce su capacidad para la recaptura de dopamina marcada, sugiriendo una disminución de la función dopaminérgica y una reducción en la citoarquitectura neuronal.

En otras estructuras como el hipocampo también se ha observado un incremento en el número de astrocitos reactivos a GFAP (Proteína Ácida Fibrilar Glial) en los pacientes con encefalopatía por VIH (Petito y cols. 2001). En el modelo animal en el gato, se ha podido observar el hipocampo de cerebros infectados con el virus de inmunodeficiencia felina (VIF), utilizando la tinción de Timm, lo que ha permitido evaluar la extensión y la organización de las células granulares del giro dentado en las cuales se ha

apreciado una pérdida de las neuronas a través del eje septotemporal. Estas evidencias también señalan al hipocampo como un posible blanco de la infección por VIH.

Algunos de los estudios que muestran evidencia directa de la apoptosis en los sujetos infectados con VIH se han realizado con técnicas como el marcaje terminal *in situ* (ISEL por sus siglas en inglés) donde se ha mostrado que la muerte celular se presenta desde las fases tempranas del padecimiento (An y cols. 1996). Usando la misma técnica Petit y Roberts (1995) adicionalmente mostraron que las células muriendo por apoptosis corresponden a neuronas y astrocitos reactivos.

El papel causal del virus en la Demencia

Los mecanismos por los cuales el VIH causa el daño cerebral sigue siendo una incógnita. Las primeras explicaciones sobre el desarrollo de la demencia se apoyaron en la hipótesis de que se trataba de una complicación debida a las infecciones oportunistas sobre el SNC, así como a la incidencia de tumores cerebrales. Sin embargo, los resultados experimentales favorecen la hipótesis de que la demencia asociada al SIDA (DAS), se relaciona de manera fundamental con el VIH en si mismo, más que a la aparición de enfermedades oportunistas sobre el sistema nervioso.

Podemos enumerar las observaciones más importantes que favorecen el papel causal del virus en la Demencia Asociada al SIDA :

- I. Ningún agente patógeno ha sido consistentemente asociado con la DAS.
- II. La DAS es exclusiva a la infección por VIH y no es reportada en otros estados de inmunosupresión.
- III. La utilización de terapia antiviral altamente activa (HAART) disminuye la incidencia de la DAS (Kaul y cols. 2001), especialmente cuando se encuentra constituida de fármacos que cruzan consistentemente la barrera hematoencefalica como el AZT (Arendt y cols. 1994).
- IV. Otros lentivirus animales relacionados al virus del VIH que incluyen al virus Visna, el virus de inmunodeficiencia simiana y felina infectan el sistema nervioso central y producen disfunciones neurológicas.

Como podemos apreciar en la tabla 1, estos lentivirus, comparten la características de infectar primordialmente macrófagos y células T, producir deficiencias de tipo inmunológica, así como de manera común, producir encefalopatías.

Virus	Huésped	Tipo de célula infectada	Manifestación Clínica
Virus de anemia infecciosa equina	Caballos	Macrófagos	Anemia hemolítica autoinmune y a veces encefalopatía
Virus Visna/maedi	Ovejas	Macrófagos	Encefalopatía y Neumonitis
Virus caprino de artritis/encefalitis	Cabras	Macrófagos	Deficiencia inmune; artritis; encefalopatía
Virus de inmunodeficiencia bovina	Vacas	Macrófagos	Linfadenopatía; linfocitosis; trastornos del SNC?
Virus de inmunodeficiencia Felina	Gatos	Linfocitos T	Deficiencia inmune y encefalopatía
Virus de inmunodeficiencia Simiana	Primates	Linfocitos T	Deficiencia inmune y encefalopatía
Virus de inmunodeficiencia humana	Humanos	Macrófagos, Linfocitos T	Deficiencia inmune y encefalopatía

Tabla 1. Comparación entre diferentes tipos de lentivirus, así como las especies y el tipo de células que estos infectan.

V. El VIH infecta el cerebro. En un principio se pensaba que el VIH no era capaz de ingresar al cerebro; de tal forma que, cualquier daño sobre el sistema nervioso debería de ser el resultado de los agentes infecciosos oportunistas, de los que el sistema inmune del paciente no podía defender al cerebro. Sin embargo, actualmente la evidencia sobre la capacidad del VIH para infectar al cerebro es muy amplia.

Por ejemplo Kure et al. (1990) encontraron que el líquido cefalorraquídeo de pacientes con SIDA presentaba títulos altos de anticuerpos contra el VIH. Mientras que Shaw et al. (1985) mediante un análisis de Southern blot mostraron un alto número de copias de DNA proviral en cerebros de pacientes con SIDA.

Estudios realizados con hibridación *in situ* e inmunohistoquímica han mostrado la presencia de ácidos nucleicos y antígenos virales dentro de estos cerebros (Gabuzda 1986; Pumarola-Sune 1987; Price 1988; Wiley 1986). También ha sido posible detectar e incluso cultivar el VIH directamente del cerebro o el líquido cefaloraquídeo de sujetos infectados (Levy 1985; Hass 2000) o detectar viriones del VIH a través de microscopía electrónica (Epstein 1985).

Estas evidencias señalan que el VIH es capaz de ingresar en el cerebro de los pacientes con SIDA y probablemente se encuentre importantemente relacionado con la encefalopatía descrita en algunos de estos pacientes.

El papel causal de la VIHgp120 en la demencia

Una de las proteínas virales relacionadas al VIH que se ha estudiado con mayor interés es la gp120. Actualmente esta proteína se ha convertido en una de las posibles responsables de la encefalopatía y los déficits cognoscitivos de la demencia asociada al SIDA.

Desde 1988 Brennehan y cols. observaron que la gp120 derivada del VIH produce muerte celular en cultivos de neuronas hipocampales a concentraciones tan bajas como 10^{-12} M. La pérdida de neuronas en cultivo puede llegar a constituir hasta 51 ± 4 % de las células, en relación al control, después de tres semanas de tratamiento.

Varios años después Toggas y cols. (1994) observaron el mismo fenómeno en un modelo de ratones transgénicos, los cuales expresaban la proteína gp120 derivada del VIH, cuya secuencia fue colocada bajo el control regulatorio de un gene modificado de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). Sus resultados muestran una serie de cambios neuronales y gliales que se asemejan a la condición patológica de los pacientes con demencia. Asimismo observan que la severidad del daño correlaciona directamente con el nivel de expresión de la gp120 a nivel cerebral.

Estos resultados sugieren que el daño neuronal sea directamente mediado por la gp120 o por un fragmento de ella. De acuerdo a esta hipótesis, la gp120 o un fragmento de ella son liberados por los macrófagos infectados o por la microglía. La gp120 así liberada facilita la transmisión

glutamatergica a tal grado que resulta neurotóxica (Lipton 1992; Kaul y cols. 2000).

Wu y cols. (1996) en cultivos libres de células gliales observan una disminución de la sobrevivencia de células NT (Sublínea de células de retrocarcinoma humano las cuales se diferencian en neuronas después de exponerse a ácido retinóico) al exponerlas a 1 nM de gp120 por 24 hr.

Otros autores como Meucci & Miller en 1996 muestran evidencias semejantes en cultivos de células piramidales del hipocampo incubadas con 200 pM de gp120. Ellos observan una sobrevivencia de hasta el 70% de las células con respecto al control (muy semejante al porcentaje observado por Wu). Cuando estas células son cocultivadas con células gliales, la sobrevivencia de las neuronas disminuye hasta el 30%. De tal forma que, si bien la gp120 puede tener un efecto directo sobre las neuronas el efecto neurotóxico de la gp120 se ve incrementado en la presencia de células gliales en los cultivos.

De acuerdo a Lo y cols. (1992), la gp120 es capaz de incrementar las concentraciones intracelulares de calcio de células hipocampales en cultivo mediante tres patrones: una corriente única y transitoria de $[Ca^{2+}]_i$ que se observa en presencia de gp120; una serie de oscilaciones de $[Ca^{2+}]_i$ que requieren la presencia de gp120 y finalmente, oscilaciones de $[Ca^{2+}]_i$ que son iniciadas por gp120 y que persisten mucho tiempo después de que la proteína ha sido removida.

Lo y su grupo observan que estas oscilaciones son suprimidas por el uso de bloqueadores de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (Nitrendipina) o antagonistas del receptor a NMDA.

Otra posibilidad consiste en que la gp120 o algún fragmento de ésta, posiblemente liberado por algún macrófago o microglia infectada, se una a los astrocitos afectando alguna de sus funciones.

Por ejemplo la gp120 puede competir con el péptido vasoactivo intestinal (VIP), o con el péptido T por su sitio de unión en el astrocito. Normalmente el VIP puede influir en la liberación de factores de crecimiento neuronal por parte de los astrocitos, de tal forma que se ha

propuesto que la gp120 podría interferir con este proceso o algún otro similar mediado por VIP (Brenneman 1988; Lipton 1992).

Otros estudios hechos por Benos y cols. (1994), muestran que tanto los viriones de VIH como de manera más específica la gp120, pueden alterar el intercambiador Na^+/H^+ , activar corrientes salientes de K^+ , así como, modificar el flujo de glutamato en astrocitos de rata y humanos.

Estos autores proponen que la alteración de las funciones normales del intercambiador Na^+/H^+ provocaría una alcalinización intracelular y una pérdida de K^+ de la célula. La elevación del potasio extracelular y la alcalinización citoplasmática llevaría a una disminución de la recaptura de glutamato, así como un incremento en la liberación de glutamato por el astrocito.

Adicionalmente, sugieren que un incremento en el potasio extracelular en una superficie extracelular restringida rodeando a los astrocitos y a la neurona podría despolarizar significativamente ambas células (30-40 mV). De hecho, grandes cambios (>35 mM) en el K^+ externo pueden resultar de pequeñas pérdidas (1%) de K^+ de los astrocitos. La despolarización de la membrana llevaría a la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje, alterando la homeostasis natural del calcio, produciendo eventualmente un aumento en el calcio intracelular.

Finalmente otra posibilidad, con gran apoyo experimental, es la del daño neuronal mediado por macrófagos. Actualmente existe evidencia de que las células monocíticas humanas, como son los macrófagos o la microglia, infectadas con el virus del VIH, secretan factores tóxicos *in vitro* que llevan a la destrucción neural.

Guilian y cols. (1990) observan que la exposición de células monocíticas al VIH-1 produce la liberación de productos tóxicos que llevan a la destrucción de neuronas en cultivo. Guilian y su grupo describen estas sustancias como pequeñas neurotoxinas (no mayores de 2 kD), que ejercen su acción a través de los receptores a NMDA, y que adicionalmente son estables al calor y resistentes a las proteasas.

Posteriormente esta misma autora (Guilian, 1993) realiza un estudio semejante en el que expone a las células monocíticas a gp120. Sus resultados muestran que la unión de la gp120 al receptor CD4 de los monocitos es un requisito indispensable para la liberación de las neurotoxinas. Adicionalmente a las características que había descrito anteriormente, define el tamaño de la neurotoxina en alrededor de 500 Da.

La Electrofisiología

Los Potenciales Relacionados a Eventos

Los Potenciales relacionados a eventos (PRE) ha sido una de las técnicas más utilizadas para el estudio del proceso atencivo. Esta técnica permite seguir con gran resolución temporal el curso de la actividad eléctrica cerebral relacionada al procesamiento de la información. Los PREs son respuestas eléctricas cerebrales asociadas en el tiempo a eventos sensoriales, motores o cognocitivos.

Los PRE han sido clasificados de diversas maneras: de acuerdo a su polaridad en positivos (P) y negativos (N), de acuerdo a su latencia en potenciales de latencia corta (0 a 10 mseg), de latencia media (10 a 100 mseg) y de latencia larga (100 a 1000 mseg), de acuerdo a sus generadores (e.g. potenciales de tallo cerebral y corticales), de acuerdo al sitio de mayor amplitud de registro (e.g. potenciales de vertex), de acuerdo a si son generados por estímulos externos (exógenos) o por procesos cognitivos internos (endógenos) (véase figura 5)(Hillyard 1979; 1987; Hillyard y cols 1995).

En el caso de los potenciales exógenos se encuentran los potenciales evocados sensoriales; estos representan la suma de los campos eléctricos generados por la activación sincrónica de poblaciones neurales en respuesta a un estímulo externo (Hillyard 1979).

A diferencia de los potenciales exógenos, los potenciales endógenos están asociados con procesos motores, perceptuales o cognitivos. Los PRE endógenos son frecuentemente producidos por estímulos externos, pero su latencia no se encuentra determinada por las características físicas o la modalidad sensorial sino por los procesos cognitivos particulares activados por el estímulo. Una de las respuestas electrofisiológicas más interesantes en relación a los procesos de atención han sido denominada como P300 o P3 (Hillyard 1979).

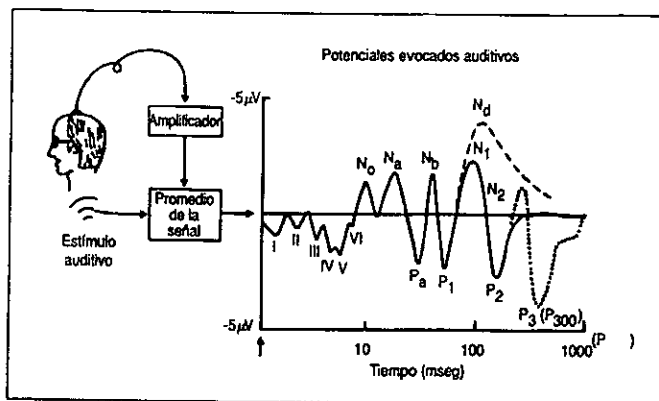


Fig 5. Se ilustra un trazo idealizado de los potenciales evocados auditivos (PEA) que se registran en la superficie del cráneo como respuesta a un estímulo auditivo. Los PEA no pueden observarse en el EEG; estos emergen gradualmente después de varias presentaciones del estímulo. En el trazo se muestran los PEA después de promediar varias épocas de EEG de 1 se. En el trazo se observan los potenciales de tallo cerebral (I-VI), los potenciales de latencia media (NO, PO, Na, Pa, Nb) los potenciales de vertex (P1, N1, P2) y los componentes endógenos relacionados con la tarea (Nd, N2 y P3).

El P300 (o P3) es una respuesta (10 a 20 μV) de superficie (i.e. se registra a través del cuero cabelludo) de polaridad positiva que aparece alrededor de los 300 mseg posteriores a la presentación de un estímulo. Sutton y cols. (1965) lo describen como un potencial asociado con la detección de un estímulo con baja probabilidad de aparición. El P3 es generado en las modalidades sensoriales auditiva, visual y somestésica después de la detección de estímulos medioambientales potencialmente relevantes (Hillyard y cols 1995; Knight 1989; 1989b; Yamaguchi 1991).

Tradicionalmente se ha evaluado el P3 presentando series de estímulos con una probabilidad alta de aparición (entre 85 y el 95 %) y otro estímulo con una probabilidad baja de aparición (entre 15 y 5 %); la tarea del sujeto consiste en contar los estímulos infrecuentes y en una segunda condición ignorar los estímulos infrecuentes, generalmente leyendo algún texto. Este tipo de paradigma genera dos respuestas P3 las cuales difieren en latencia, topografía y correlatos psicológicos (Sara y cols 1994). Al primer componente le

denominaron P3a: este es producido por la aparición repentina del estímulo infrecuente y tiene una latencia de alrededor de 240 mseg. Mientras tanto, un componente tardío, denominado P3b ocurre solamente cuando el sujeto atiende activamente a los estímulos (Squires y cols 1975).

El P3a se ha identificado como una primera fase del P3, el cual presenta una máxima amplitud en regiones prefrontales y un máximo alrededor de 50 mseg previo a la actividad parietal de una segunda fase del P3 la respuesta P3b (Knight 1995b).

Los Generadores de la P3

Sutton y cols., (1965) describieron que este potencial se observa claramente en el área del vertex y se propuso que las áreas temporales y parietales podrían participar en su generación; posteriormente se observó que pacientes con lesiones en la unión temporo-parietal no presentan ni el componente P3a ni el P3b; sin embargo, pacientes con lesiones parietales no presentan disminución en ninguno de los componentes (Knight 1989b).

Resultados similares fueron observados por Woods y cols., (1993) quienes reportan que las lesiones temporo-parietales eliminan tanto el componente P3b como al P3a; además, estos autores reportan que las lesiones del lóbulo parietal inferior no afectan ninguno de los potenciales. Estas investigaciones han revelado que el P3 no es una respuesta cerebral unitaria.

Por otro lado, McCarthy y cols., (1989) reportan una inversión del P3 cuando realizan registros de profundidad en el hipocampo de sujetos epilépticos, por lo que esta estructura podría ser uno de los generadores del potencial. Los potenciales P3 hipocampales registrados en una tarea de detección simple se presentan 50 mseg después de la respuesta P3b parietal y alrededor de 100 mseg después de la respuesta P3a prefrontal.

En el mismo sentido, Smith y cols., (1990) realizan una topografía intracraneal del P3 en humano, encontrando inversiones en la polaridad del potencial (lo cual se interpreta como el sitio de generación de la respuesta) en estructuras como el hipocampo y la corteza prefrontal.

Las lesiones unilaterales de la corteza prefrontal izquierda producen un decremento en el P3a contralateral a la lesión en respuesta a un estímulo

novedoso. La lesión de la corteza prefrontal derecha produce un mayor decremento en la amplitud del potencial en ambos hemisferios. Esta disminución ha sido observada en las diferentes modalidades del potencial: somestésica, auditiva o visual (Kalayam y cols. 1998; Knight y cols. 1989b; Vanderwolf 1981) y correlaciona con observaciones clínicas en las que pacientes con infartos cerebrales que incluyen el área 46 y los campos oculares frontales, presentan hemi-inatención contralateral (Knight 1989b; Luria 1986). Esto ha sugerido que el lóbulo frontal izquierdo es capaz de distribuir la atención sólo en el hemisferio contralateral, mientras que el lóbulo frontal derecho puede centrar la atención tanto del hemisferio contralateral como del ipsilateral (Knight y cols 1989a).

La P3 y la Neuropsiquiatría

La respuesta P3 por sus características, ha sido evaluada en una gran número de padecimientos neuropsiquiátricos, en los que se han observado déficits en la ejecución de tareas atencivas. Se han encontrado correlaciones entre estos déficits conductuales con disfunciones a nivel de la latencia y/o amplitud del P3. De esta forma, aquellos padecimientos en los que los déficits atencivos son parte preponderante del cuadro clínico constituyen las poblaciones en las que se ha estudiado más intensamente este potencial.

Entre los trastornos en los que se ha estudiado la respuesta P3 se encuentran el Desorden hiperactivo con déficit de la atención (DHDA), la esquizofrenia, la depresión y las demencias en especial las de Huntington y la de tipo Alzheimer.

En niños con DHDA se ha observado una disminución en la amplitud del componente P3B cuando ejecutan una tarea que requiere la atención sostenida a un estímulo. La medicación con estimulantes incrementa la amplitud del componente P3B lo cual se acompaña de una mejora sustancial en la ejecución de la tarea (Datta y cols. 1992).

En otro tipo de trastorno como es la esquizofrenia, se ha encontrado de manera consistente una reducción de la amplitud del potencial P3. Estos pacientes presentan dicha disminución en áreas parietales y temporales, y no se han observado cambios significativos en la amplitud del potencial a través del

tiempo a pesar de que se observe una mejoría significativa en la sintomatología (Turetsky y cols 1998).

Por otra parte, los resultados en el trastorno depresivo muestran una latencia del P3 significativamente mayor en pacientes con trastorno depresivo mayor en comparación a los controles normales (Kellaway 1979; Vandoolaeghe y cols. 1981

Por otra parte, en un interesante estudio de Kugler (1996), en el que evalúa la latencia y amplitud del P3 en 330 sujetos con rangos de edades entre 18 y 98 años, muestra un ligero alargamiento de latencia de alrededor de 10 mseg y una disminución de la amplitud de 1 μ V por cada década. Su análisis le permite observar que estos cambios se dan de manera lenta hasta antes de los 60 años; posterior a ello, el proceso se ve acelerado.

El alargamiento en latencia del P3 es un hallazgo común en el mal de Alzheimer¹ (Ortiz y cols 1994; Szeliés 1995). Sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas en la amplitud al ser comparada con la de sujetos normales o deprimidos. Además, el tiempo de reacción para responder a un estímulo es significativamente mayor en pacientes con demencia de Alzheimer (Ortiz y cols 1994).

Los estudios en pacientes con el mal de Huntington muestran comúnmente un alargamiento en la latencia del P3 evaluado en la modalidad somatosensorial (van Rijckevorsel-Harmant 1992), visual (Rosenberg y cols 1985) y auditiva (Filipovic y cols 1990), aunque en algunos estudios se ha reportado incluso la ausencia del potencial en el registro de estos pacientes (van Rijckevorsel-Harmant 1992).

La mayoría de los estudios en pacientes neuropsiquiátricos confirman la existencia de una relación entre la integridad funcional del paciente y la respuesta P3. Mucha de la polémica generada por este potencial en los estudios clínicos se ha derivado del intento de utilizarlo como un medio de diagnóstico, en el que la amplitud o latencia del potencial pudieran utilizarse como indicadores fiables para distinguir entre diferentes tipos de patologías. Hasta el momento su utilidad en la clínica sigue siendo escasa.

¹ La confirmación del mal de Alzheimer es de tipo histopatológico, esta confirmación sólo puede hacerse postmortem, de tal forma los sujetos incluidos en estos reportes deben ser considerados como probales casos de Alzheimer hasta confirmarlo histopatológicamente.

Antecedentes

Los estudios en humanos

Aunque la encefalopatía progresiva y la demencia subcortical son complicaciones frecuentes del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, hasta ahora no se conoce el momento en el que, durante el curso de la infección por VIH, los cambios en la actividad eléctrica cerebral asociadas a estas complicaciones pueden ser evidentes.

Las técnicas electroencefalográficas y en particular la de los potenciales evocados han sido utilizadas en pacientes infectados con VIH en diferentes etapas de la enfermedad. Un objetivo primario de estos estudios es determinar si existe un cambio en la actividad cerebral que pueda relacionarse con algún deterioro cognoscitivo. Asimismo, se ha tratado de determinar si el deterioro puede ser observado desde que el sujeto es VIH+, desde las primeras etapas de la enfermedad o solo en los pacientes ya demenciados.

Por ejemplo Ollo y cols. en 1991, muestran una diferencia entre la amplitud y la latencia del P3 (véase Galicia y cols., 1999; 2000 para una revisión) cuando comparan diferentes grupos de pacientes con SIDA. Sus resultados señalan que solo los pacientes con DAS presentan diferencias significativas en la P3 y no los pacientes con SIDA tanto sintomáticos como asintomáticos que no presentaban demencia.

Estudios realizados por Fein y cols. (1995) muestran que la latencia del P3a evaluada en un paradigma visual y otro auditivo, se encuentra significativamente retardada en pacientes infectados con el VIH en quienes la magnitud del retardo se ve incrementada conforme aumenta la severidad del deterioro cognoscitivo. Estos resultados sugieren que los indicadores electrofisiológicos pueden ser más sensibles que las pruebas conductuales en la detección de un deterioro cognoscitivo temprano.

Resultados semejantes fueron observados por Goodin y cols. en 1990, donde se muestra un deterioro progresivo en los pacientes infectados con VIH. Adicionalmente muestran un retardo en el P3 que se incrementa cuando los sujetos VIH+ empiezan a presentar síntomas y particularmente entre los pacientes con demencia asociada al SIDA (DAS).

Otra evidencia es proporcionada por Frank y Pahwa (1993), quienes observan un retardo significativo en la latencia de los potenciales evocados de tallo cerebral (BAEPs véase Sánchez-Alavéz y cols. 1999) en niños con SIDA. En este trabajo no se encontró relación entre el retardo y un decremento de los linfocitos CD4/CD8; sin embargo, se observó una buena correlación entre el incremento en la latencia y el deterioro neurológico de los pacientes.

Los trabajos de Goodin y cols. 1990; Frank y Pahwa 1993; Fein y cols. 1995, adicionalmente sugieren que el deterioro neurológico y el deterioro cognoscitivo no están necesariamente asociados al deterioro del sistema inmune.

Coburn y cols. (1992) aportan evidencia al respecto mostrando que no solo los pacientes con DAS presentan anomalías en la amplitud y la latencia de los LAEPs, sino que incluso los pacientes con SIDA sin signos de demencia, presentan anomalías en la latencia y la amplitud de los potenciales N2, P2 y P3 en áreas frontales, centrales y parietales.

Al respecto Birdsall y cols. (1994) observan en pacientes infectados con el VIH que a pesar de no presentar síntomas neurológicos, el potencial P3 presentó un alargamiento significativo en su latencia e incluso fue indetectable en el 30 % de los casos. Las anomalías en el P3 no correlacionaron con el número de CD4 periféricos, el conteo de células T, los niveles de ácido quinolínico, los niveles de antígenos a p24, o al número de monocitos periféricos activados. Una interpretación funcional de estos resultados es proporcionada por Couburn y cols. (1992) quienes sugieren que el alargamiento en la latencia encontrado en los potenciales de largo plazo probablemente refleja un incremento en el tiempo de evaluación de la significancia o relevancia del estímulo; lo cual es consistente con la característica lentificación psicomotora observada en el DAS. Asimismo, el decremento en la amplitud del P3 indicaría una reducción en la información que es abstraída del estímulo. Esto último es congruente con el deterioro en la atención y la concentración en los pacientes con DAS (Connolly 1994).

Arendt y cols. (1993) al respecto muestran que en los pacientes con DAS en los que se observó un retardo en la latencia de los componentes N2 y P3 y que en algunos caso fueron completamente indetectables, es posible observar que ciertas habilidades psicométricas tiempo dependientes se

encuentran positivamente correlacionadas con la prolongación en la latencia de N2 y P3. En resumen estas investigaciones sugieren:

- 1) La existencia de un deterioro temprano de las funciones cognitivas en los pacientes con SIDA, el cual no sólo aparece durante la demencia sino que se presenta incluso antes de la aparición de enfermedades de tipo oportunista incluyendo las que afectan al SNC. Aunque existe polémica al respecto, la mayoría de los trabajos coincide en la detección de déficits o anomalías electrofisiológicas en etapas tempranas de la enfermedad.
- 2) Asimismo, se sugiere que este deterioro es independiente del deterioro del sistema inmune, dado a que incluso pacientes con títulos normales de células CD4, sin ningún síntoma asociado al SIDA o incluso en pacientes seropositivos, es posible encontrar anomalías electrofisiológicas en el procesamiento a nivel sensorial o a nivel central.
- 3) Las anomalías electrofisiológicas reflejan un deterioro en el procesamiento de la información tanto en el tiempo que requiere el sujeto para procesar la información, como en la calidad del análisis. Estos déficits reflejarían la integridad de las áreas cerebrales implicadas en la generación de estas respuestas.

Los estudios en animales

Como hemos señalado en la sección anterior, la gp120 tiene una enorme capacidad para producir daño neuronal en experimentos *in vitro*. Sin embargo, resulta relevante conocer si esta proteína es capaz de generar algún déficit funcional *in vivo*, así como, evaluar si este déficit es semejante a la demencia que presentan los pacientes con SIDA. De hecho son pocos los trabajos que reportan el efecto de la proteína *in vivo* y menos aún los que reportan efecto sobre alguna función particular.

Por ejemplo, Toggas y cols. (1994) realizan un estudio en el que reportan un amplio espectro de cambios neuronales y gliales en ratones transgénicos que portan la secuencia que codifica para la gp120. Si bien es un estudio *in vivo* con una excelente descripción histológica no existe descripción de la conducta.

El trabajo de Berman y cols. (1999) muestran que en los macacos infectados con el SIV (Virus de inmunodeficiencia simiana) es posible observar un incremento en la latencia de los potenciales evocados motores de la médula espinal, así como un incremento en la latencia de los potenciales auditivos del tallo cerebral. Estas anomalías se reflejan a nivel conductual en ataxia severa y debilidad muscular.

Sin embargo, en el trabajo de Berman y su grupo se utiliza el virus del SIV y no es posible discriminar la participación de la gp120 en el daño histológico, ni en el deterioro conductual.

En otros trabajos Phillips y cols. (1994) observan anomalías neurológicas, electroencefalográficas e histológicas en gatos infectados con el virus de inmunodeficiencia felina (FIV). En estos sujetos se observaron anomalías tales como, la lentificación del reflejo pupilar, lentificación de los potenciales evocados auditivos del tallo cerebral (BAEPs), así como, en los potenciales evocados visuales. De igual forma, se observaron marcadas alteraciones en el patrón de sueño similar al observado en pacientes con VIH.

En un estudio más detallado sobre la actividad electroencefalográfica durante el sueño, Prospéro-García y cols. (1994), mostraron un aumento notable de la vigilia en gatos infectados con el FIV. Adicionalmente, estos gatos presentaron una disminución del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), así como un aumento en la latencia para entrar a esta fase del sueño. Posteriormente, se reportó que el FIV y la gp120 derivada del FIV producen cambios electroencefalográficos semejantes en ratas (Prospéro-García y cols 1999). Uno de estos cambios es la disminución del tiempo total de sueño; es decir, un aumento en la vigilia en detrimento del sueño de ondas lentas y el sueño de movimientos oculares rápidos.

Asimismo, produce anomalías en el registro de potenciales evocados corticales, aumentando considerablemente su latencia. Estos resultados apoyan la tesis neurotóxica de la gp120 mostrando su capacidad para alterar funciones complejas en el animal íntegro.

Recientemente se ha reportado (Sánchez-Alavéz y cols. 2000) que tanto la VIHgp120 como la FIVgp120 son capaces de producir déficits en la ejecución de los sujetos en una tarea espacial en el laberinto de Barnes. De

igual forma, disminuyeron la potenciación post-tetánica, la LTP (potenciación a largo plazo) en el hipocampo y alteraron la actividad locomotora y el equilibrio en tareas motoras. Asimismo, la VIHgp120 causó una disminución significativa de la producción de AMPc hipocampal.

Actualmente en estudios que aún están en proceso hemos observado que el déficit conductual y los cambios electrofisiológicos causados por la VIHgp120 y la VIFgp120 pueden ser prevenidos por tratamientos como, la administración intracerebroventricular de RANTES (abreviación de la quimiocina Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted), el VIP o la administración sistémica de MK-801 (antagonista no competitivo del receptor NMDA).

Estos experimentos muestran que los animales tratados con VIH o VIF gp120 exhiben anormalidades conductuales semejantes a las observadas en los pacientes con demencia asociada al SIDA. Estas anormalidades que van desde cambios en la arquitectura del sueño, déficits de memoria, alteración de la actividad locomotora y déficits sensoriales, permiten suponer que la gp120 se encuentra implicada en la génesis de la demencia asociada al SIDA.

El problema

La información revisada previamente nos permite sugerir que el daño neurológico y el posterior deterioro cognoscitivo que caracteriza a la demencia asociada al SIDA es producto de un factor derivado del Virus de inmunodeficiencia humana que podría tener propiedades neurotóxicas.

El discriminar cual podría ser este factor no ha sido posible en humanos, dada la dificultad de controlar las variables intrínsecas al sujeto, tales como la vía de infección, adicciones, tiempo de la infección, estado del sistema inmune, tipo de tratamiento, tiempo de uso del mismo, etc.

Asimismo, resulta difícil discriminar como es que alguno de los productos del VIH se encuentra funcionalmente implicado en la demencia, dado que no es posible evaluarlos individualmente por que el virus y todos sus productos se encuentran presentes en los pacientes con SIDA.

Tampoco ha sido posible conocer ni el tiempo ni la velocidad de progresión desde el momento de la infección hasta la aparición del deterioro cognoscitivo. Dado que raramente los pacientes pueden identificar el momento de la infección y aunque esto es posible en muy contados casos, el momento en el que el virus ingresa al cerebro es totalmente desconocido. Asimismo, resulta difícil descartar la influencia de las enfermedades oportunistas sobre el estado general del paciente o sobre el sistema nervioso.

Los trabajos previos en modelos animales (Prospéro-García et al., 1999; Sánchez-Alavéz et al., 2000) mostraron que la gp120 es capaz de producir un deterioro funcional, así como modificar la actividad eléctrica hipocampal y alterar la morfología del sueño. Estos datos sugieren que la VIHgp120 se encuentra probablemente implicada en el desarrollo de la demencia asociada al SIDA

Uno de los objetivos del presente trabajo es el desarrollar un modelo animal en el que sea posible evaluar una actividad electrofisiológica relacionada con la integridad del sistema nervioso.

Dado que la atención es uno de los procesos más afectados en la demencia, decidimos desarrollar un modelo animal para evaluar el potencial

P3 en la rata. Este potencial se ha observado profundamente deteriorado en condiciones patológicas asociadas con un déficit en la detección de estímulos novedosos o relevantes y que presenta una correlación muy cercana con tareas conductuales que requieren la integridad del sistema atento.

Una vez desarrollado el modelo, nuestro principal interés radica en observar si la VIHgp120 es capaz de inducir anomalías en el potencial P3 en la rata. De esta manera pretendemos determinar si estas anomalías son semejantes a las observadas en los pacientes con demencia asociada al SIDA y así determinar la participación de esta proteína en la génesis de esta demencia.

Asimismo, esta aproximación genera la posibilidad de evaluar el deterioro a partir de un momento de inoculación conocido y así determinar el tiempo en el que la proteína potencialmente podría generar un deterioro funcional.

Para tal efecto nos planteamos los siguientes objetivos:

1) Caracterizar un modelo animal de la respuesta P3 en rata.

1.1) Establecer los parámetros de estimulación y registro que nos permitan observar el componente asociado a un paradigma de detección pasiva de la respuesta P3 (el P3a) en la rata y evaluar sus propiedades tales como amplitud, latencia y zona de registro.

1.2) Establecer los parámetros de estimulación y registro para observar la respuesta asociada a un paradigma de detección condicionada (el P3b) en la rata y evaluar sus propiedades tales como amplitud, latencia y zona de registro.

1.3) Caracterizar nuestra respuesta, a través de fármacos cuyo efecto se encuentre bien descrito sobre la respuesta P3.

2) Una vez caracterizada la respuesta P3 en la rata observar si la VIHgp120 inyectada intra-cerebro-ventricularmente produce algún efecto sobre el potencial.

Método y Resultados

El Modelo

En esta sección se describe la metodología y los resultados obtenidos durante la caracterización de la respuesta P3 en el modelo en rata.

Sujetos: Se utilizaron 17 ratas de la cepa Wistar con un peso promedio de 250 gramos al momento de la cirugía. Los sujetos se encontraban bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12-12 (con la luz prendiéndose a las 8:00 AM y apagándose a las 8:00 PM) con agua y alimento ad Libitum. A diez sujetos (implantación normal) se les implantaron bajo anestesia de halotano (2%), 5 tornillos de acero inoxidable a manera de electrodos. Un par de tornillos se implantaron sobre la corteza prefrontal derecha e izquierda (AP 2.0 mm; L 1.5 mm), uno sobre el vértex (AP -4.5 mm L 2.0 mm), otro occipital (AP -11.00 mm; L 1.5 mm), y finalmente uno en el seno frontal como tierra (AP 8.5 mm; L 2.0 mm). Los tornillos fueron soldados a un conector mediante alambres de cobre y finalmente el conector se fijó al cráneo mediante acrílico dental.

A siete de los sujetos (implantación de profundidad) se les implantaron 2 complejos de registro (0.4 mm diámetro; 12 mm largo), constituidos por tres electrodos cada uno, cada punta de registro se encontraba separada de la otra por un milímetro. Uno de estos complejos se implantó en el hipocampo (AP -4.16 mm; L 3.0 mm; DV 3.20 mm) y el otro en la corteza frontal (AP 2.7 mm; L 1.2 mm; DV 3.8 mm). Las puntas de cada complejo de acuerdo a la profundidad se denominaron H3 o F3 para las más profundas, H2 y F2 para las intermedias y H1 y F1 para las más superficiales (véase Figura 12).

Adicionalmente a estos sujetos se les implantaron tornillos de acero inoxidable a manera de electrodos. Se implantó uno sobre el vértex (AP -4.5 mm L 2.0 mm), y otro en el seno frontal como tierra (AP 8.5 mm; L 2.0 mm). Los tornillos y las puntas de los electrodos múltiples fueron soldados a un conector mediante alambres de cobre y finalmente el conector se fijó al cráneo mediante acrílico dental.

Materiales: Se utilizó una cámara sonoamortiguada (30 X 30 cm) equipada con 6 bocinas distribuidas en la parte frontal y posterior de la cámara. Se utilizó un estimulador GRASS S10 CTCM para producir los estímulos auditivos. La presentación de estímulos, la captura de señales, las luces de la

cámara y el control del estímulo aversivo era controlado por una computadora Pc 286/20 MHz.

El sistema de registro se encontraba conformado por un amplificador intronix (ventanas a 0.5-100 Hz para los LAEP y 0.3-3.0 kHz para los BAEPs). Se utilizó una tarjeta analógica digital DT2821 (Data Translation Inc.) instalada en una computadora 486/66 MHz. La frecuencia de muestreo para los LAEPs fue de 350 Hz, se promediaron 35 muestras de EEG de 2 segundos de duración, mientras que para los BAEPs la frecuencia de muestreo fue 34.0 kHz promediándose 1200 muestras de EEG de 15 mseg de duración. Se utilizaron los programas de registro y análisis de Brain Wave System Corporation los cuales rechazaban automáticamente los trazos con exceso de ruido, no obstante cada registro fue revisado cuidadosamente fuera de línea.

Se utilizaron tonos puros de 2 kHz (blanco) y 8 kHz (estándar) de 50 mseg de duración y 70 db por arriba del umbral de 2 a 3.5 de intervalo entre estímulos (IEE) para los LAEPs. Adicionalmente para los BAEPs se utilizaron estímulos de 2 kHz de 0.3 mseg de duración presentados a 11 Hz. Los estímulos auditivos fueron filtrados en un ecualizador de diez bandas y amplificados en un amplificador de 700 Watts de salida.

En los experimentos que se requirió, se utilizó un estímulo aversivo (descarga eléctrica en las patas) el cual se generaba a través de un estimulador GRASS S44, conectado a una unidad de corriente constante y a una unidad de aislamiento de estímulo, las características del estímulo fueron 1.0 mA de intensidad, 350 mseg de duración y un retardo de 700 mseg.

Procedimiento

Habituaación. Siete días después de la cirugía se comenzó con el procedimiento conductual. En la fase de habituaación se manipuló a todos los sujetos durante 5 minutos durante 5 días consecutivos, posteriormente los sujetos se colocaban en la cámara de registro y se permitía que la exploraran por 20 minutos.

Audiometría. Todos los sujetos fueron sometidos a una audiometría, cuyo procedimiento consistió en presentar un estímulo (con las características previamente descritas) a 120 dB y evaluar la amplitud de los componentes 3 y

4 de los BAEPs, registrados en el área occipital. Para tal efecto se disminuyó la intensidad del estímulo en pasos de 10 dB. Una vez que los componentes desaparecían se retornaba al último intervalo registrado y se procedía a disminuir la intensidad en pasos de 1 dB.

Este último procedimiento se repitió durante 6 ocasiones. El umbral era determinado como la intensidad en donde los componentes 3 y 4 de los BAEPs solo podían registrarse en el 50 % de los ensayos. Una vez determinado el umbral para cada sujeto ambos estímulos se presentaron 70 dB por encima del umbral

Una vez determinado el umbral auditivo, se comenzó una serie de cuatro sesiones donde se estimuló pasivamente a cinco sujetos implantados normalmente. En cada sesión se manipuló la probabilidad de aparición de dos tonos uno 2 kHz (blanco) y otro de 8 kHz (estándar). En la cuarta sesión de estimulación los estímulos fueron invertidos, de tal forma que el blanco se presento como estándar y el estándar como blanco. En las diferentes sesiones la probabilidad del estímulo estándar y el blanco variaron de la siguiente manera:

Sesiones	Probabilidad del blanco	Probabilidad del estándar
Sesión 1	8	92
Sesión 2	13	87
Sesión 3	33	67
Sesión 4	8	92

Otro grupo de cinco ratas implantadas normalmente se sometieron a otro procedimiento que denominamos de detección condicionada, el cual consistió en el pareamiento de uno de los estímulos auditivos con la presencia de una descarga eléctrica en las patas. En esta fase, la presentación del estímulo estándar (95% de probabilidad de aparición) era súbitamente interrumpida por la presencia del estímulo blanco (el cual aparecía con un 5% de probabilidad) y setecientos milisegundos después de la aparición del estímulo blanco se presentaba el estímulo aversivo. Se realizaron 35 asociaciones entre estímulos y se realizaron el mismo número de capturas para cada estímulo. Este procedimiento se llevo a cabo durante tres días consecutivos.

Este mismo procedimiento fue realizado con los siete sujetos con la implantación de profundidad salvo que dos días después de llevarse a cabo el condicionamiento los sujetos recibieron aleatoriamente de manera intraperitoneal una de las siguientes sustancias: escopolamina 2 mg/Kg, Haloperidol 5 mg/Kg y diazepam 3 mg/kg, y 30 minutos después de la inyección fueron evaluados en la tarea, proporcionándoles dos días de reposo entre cada inyección. Tanto la inyección como el registro se realizaron bajo el método del doble ciego.

Análisis

Se evaluó la latencia y la amplitud de las respuestas más estables que fueron N1, y P3. Se utilizó un ANOVA factorial, para evaluar las distintas variables como probabilidad del estímulo, área de registro día de condicionamiento y tratamiento.

Resultados

Con el paradigma de estimulación pasiva en el que variamos la probabilidad de aparición tanto del estímulo blanco como del estímulo estándar pudimos observar la aparición de tres componentes asociados a la presentación del estímulo blanco. Estos componentes de acuerdo a su latencia y localización fueron identificados como N1, P2 y P3a (véase la figura 6). El análisis posterior de sus latencias nos permitió observar al N1 en las derivaciones frontales (izquierda y derecha) y en el vértex dentro de los primeros 100 mseg, asimismo, pudimos comprobar que dicho componente no se ve afectado con los cambios en la probabilidad de aparición del estímulo ($F_3 = 0.599$; $P = 0.6199$).

El componente N1 en el frontal izquierdo presenta una latencia media de 38.60 ± 0 mseg al ser evaluado en las distintas probabilidades de aparición del estímulo blanco, lo que muestra que su latencia no depende de la probabilidad del estímulo blanco. De manera semejante, el mismo componente registrado en el frontal derecho muestra una latencia muy estable a través de todas las fases experimentales (37.53 ± 1.23 mseg), sin mostrarse afectado por la probabilidad del estímulo. Este mismo componente registrado en el vértex tampoco se ve afectado por la probabilidad del estímulo, sin embargo, su latencia es más corta (26.80 ± 2.14 mseg) que la de la onda registrada en el frontal.

El componente positivo que identificamos como P2 se registró en el frontal derecho e izquierdo dentro de los 200 mseg después de la presentación del estímulo blanco con una latencia promedio de 137.22 ± 4.42 y 138.13 ± 4.86 mseg, respectivamente (véase figura 6); este mismo potencial pudo ser registrado en el vértex donde mostró una latencia de aparición menor a la registrada en el frontal (136.51 ± 6.16 mseg).

Por otra parte el último componente positivo al cual identificamos como la onda P3a. Puede observarse claramente en todas las derivaciones y al igual que los otros componentes ya mencionados, su latencia no obedece a la probabilidad de aparición del estímulo blanco.

La latencia promedio para este potencial en las áreas frontales fue de 259.20 ± 8.39 y 259.21 ± 7.87 mseg, derecha e izquierda respectivamente, mientras que en el vértex su latencia fue ligeramente más corta 247.45 ± 7.5 mseg.

El análisis de la amplitud del potencial P3 revela que ésta, se encuentra significativamente afectada por la probabilidad de aparición del estímulo blanco ($F_3 = 3.840$; $P = 0.01$), asimismo, tanto el componente P2 y P3 muestran una mayor amplitud cuando el estímulo blanco es poco probable (8%), disminuyendo su amplitud al mínimo cuando la probabilidad de presentación del estímulo blanco es alta (33 %) (véase figura 6).

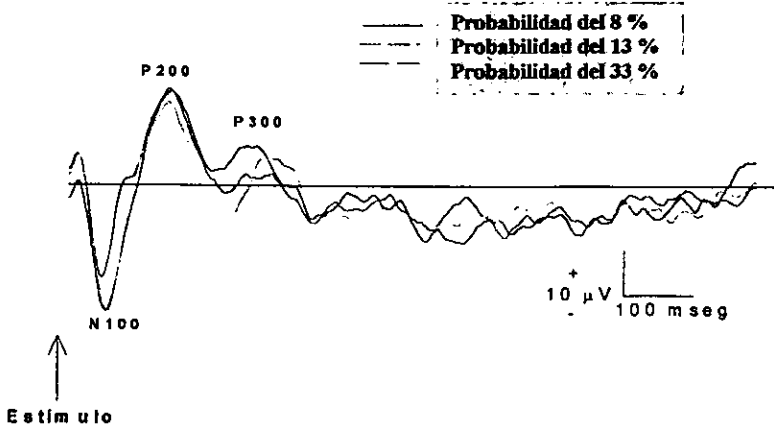
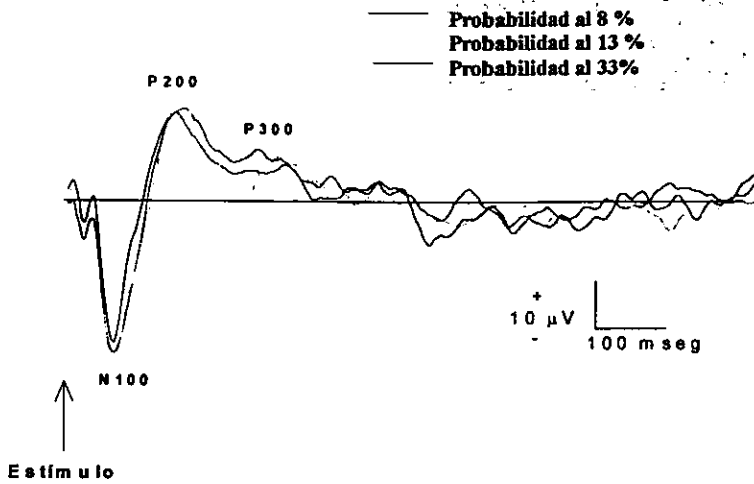


Figura 6. Se muestra el registro de la actividad durante la estimulación pasiva. El trazo superior corresponde al registro en frontal derecho y el registro inferior corresponde al vértex. La flecha indica el momento en que se presentó el estímulo. Las líneas de colores indican las diferentes probabilidades para el estímulo blanco

Una vez que observamos que la manipulación de la probabilidad de aparición del estímulo se reflejaba en nuestros potenciales de acuerdo a lo esperado por la literatura. Procedimos a realizar una inversión de estímulos en la que el estímulo estándar se convirtió en el blanco y viceversa. Los componentes originalmente observados se mantuvieron constantes durante esta manipulación. Los trazos relacionados a la presentación del estímulo blanco en el vértex y en el frontal se presentan en comparación al estímulo estándar (véase fig 7).

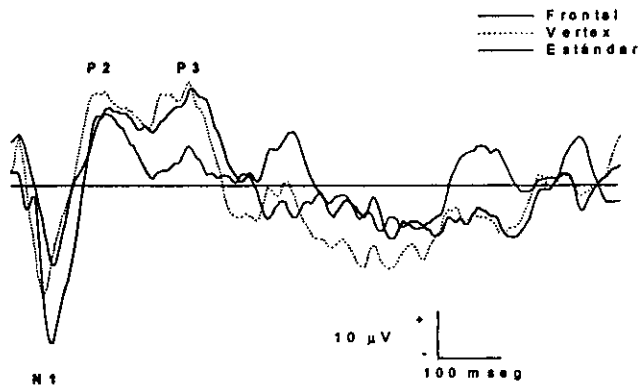


Figura 7. Se muestra el potencial registrado en el área el área frontal y en la del vértex durante la inversión de estímulos, adicionalmente se muestra el estímulo estándar durante la misma fase.

Con el paradigma de detección condicionada en los sujetos implantados normalmente pudimos observar cinco componentes en el registro, los cuales identificamos de acuerdo a su latencia y zona de registro como N1, P2, N2, P3a y P3b. Nuestro análisis estadístico nos permitió distinguir la existencia de una diferencia significativa con respecto al área de registro ($F_3 = 14.896 \pm <0.0001$); esta diferencia se establece al comparar el registro frontal con en el

registro del vértex, siendo esta última área donde se observa la mayor amplitud del componente P3. Esta amplitud aumenta en cada sesión de apareamiento de estímulos hasta alcanzar su máximo en el tercer día de condicionamiento (véase la figura 8).

Ningún otro de los componentes registrados aumenta su amplitud conforme transcurren las sesiones de apareamiento de estímulos como lo hace el P3. Mientras que el P3 presenta una mayor amplitud en el área del vértex, las áreas frontales muestran la mayor amplitud para los componentes N1, N2 (véase figura 8).

Cuando realizamos el análisis de la latencia de estos componentes pudimos observar que la respuesta P3 disminuye significativamente su latencia ($F_2= 7.47$; $P=0.0025$) conforme transcurren los días de condicionamiento alcanzando su menor latencia en el tercer día. Asimismo, tanto los componentes P3 como N1 presentan su menor latencia en el área del vértex ($F_2=8.353$; $P=0.0017$).

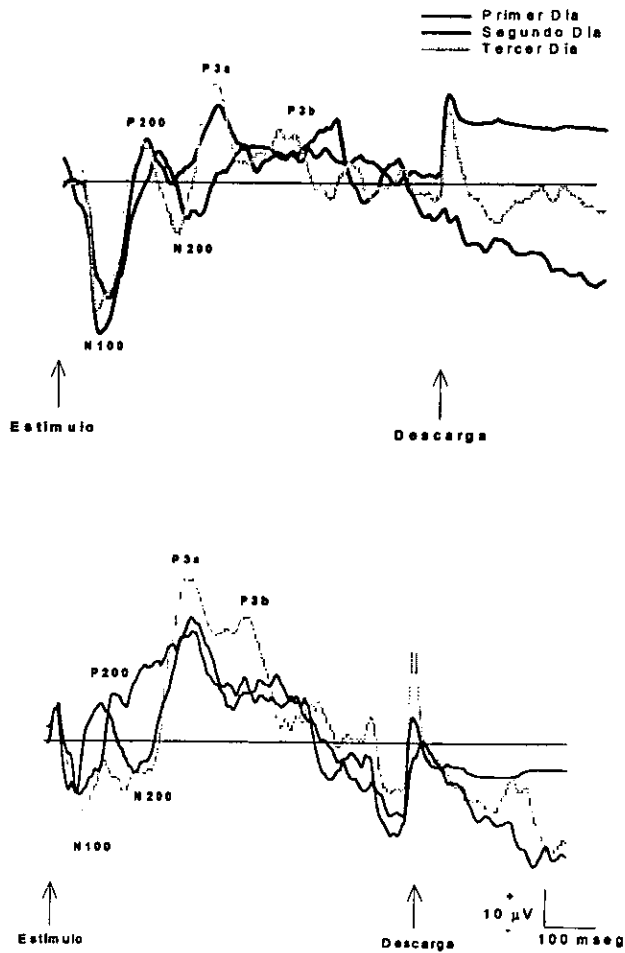


Figura 8. Se muestra el registro del estímulo blanco en el área frontal (trazo superior) y el vértex (trazo inferior) durante los tres días en los que se apareo el estímulo blanco con el estímulo aversivo. El momento de la presentación del estímulo auditivo y del estímulo aversivo se encuentran señalados por las flechas.

La amplitud y latencia de los componentes analizados se muestran en la tabla 2. Aquí pueden observarse sus valores de acuerdo al día de condicionamiento y al área de registro.

Area/Día	N1		P2		N2		P3a		P3b	
	Lat----	Amp	Lat----	Amp	Lat----	Amp	Lat----	Amp	Lat----	Amp
Día 1 Fr. Izq.	60.0	33.1	145.8	7.9	197.2	10.7	308.7	9.8	394.5	8.2
Día 2Fr. Izq.	42.8	43.1	124.3	11.3	171.5	1.2	253.0	21.0	347.3	9.37
Día 3 Fr. Izq.	38.6	36.8	115.7	10.6	184.3	15.2	253.0	27.9	368.7	14.5
Día 1 Vx	37.5	14.6	NR		NR		251.9	21.2	354.8	8.0
Día 2 Vx	28.9	14.3	80.4	5.3	144.7	9.7	251.9	24.3	354.8	11.4
Día 3 Vx	33.2	24.2	NR		NR		239.0	33.1	354.8	24.8

Tabla 2. Se muestran las latencia y las amplitudes de los potenciales observados durante los tres días de condicionamiento, registrados en el área frontal y en el vértex. NR significa que no se registraron los valores

Finalmente los siete sujetos con implantación de profundidad fueron sometidos al paradigma de detección condicionada. Transcurridos los tres días de condicionamiento se observó la clásica respuesta descrita para el estímulo blanco y para el estímulo estándar (véase figura 12), en la que el estímulo blanco generó cuatro componentes que identificamos como N1, N2, P2 y P3 de acuerdo a su latencia y área de registro. Mientras que el estímulo estándar solo genera el potencial N1 (véase figura 9).

Nuestro registro nos permitió observar las respuestas generadas por el apareamiento entre estímulos, donde se detectaron las cuatro respuestas ya descritas como N1, P2, N2 y P3 en todas las áreas de registro tanto en el vértex, como en los electrodos de mayor profundidad del hipocampo y la corteza prefrontal.

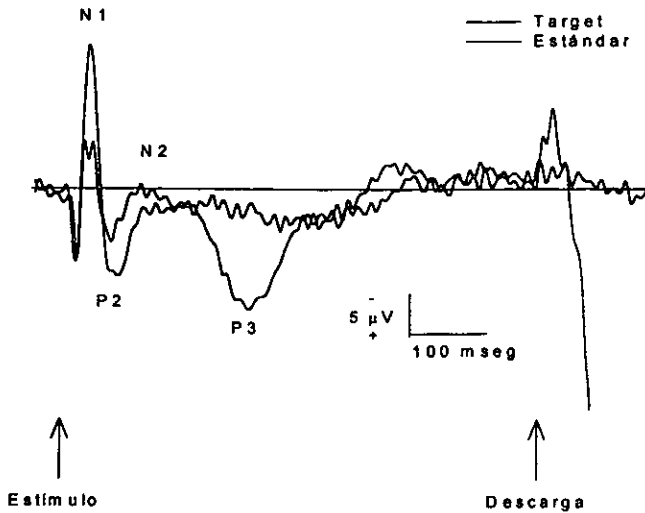


Figura 9. Se identifican los componentes de la respuesta al estímulo blanco y al estímulo estándar en el tercer día de condicionamiento. Las flechas muestran el momento de presentación del estímulo auditivo y el de la aparición del estímulo aversivo.

Este registro nos permitió observar que el potencial P2 presenta su mayor amplitud en el área F3 ($F_6=18.35$; $p<0.001$). Mientras que la mayor amplitud para N2 se observa en el área de F2 y F3 ($F_6=4.09$; $p=0.01$). Véase la figura 10), asimismo esta misma onda presenta un decremento paulatino de su amplitud conforme transcurrieron los días de condicionamiento alcanzando el mínimo en su amplitud al tercer día ($F_2=3.56$; $p=0.04$).

Por su parte el potencial P3 no muestra diferencias con respecto al área de registro ($F_6=1.12$; $p=0.39$). Sin embargo, es posible observar un aumento significativo de su amplitud conforme avanza el entrenamiento ($F_2=12.96$; $p=0.0003$). (véase la figura 10).

Con respecto a la latencia sólo se encontraron efectos de derivación para el potencial P2 que presentó una mayor latencia en el área del vértex y en F1 ($F_6=66.52$; $p<0.0001$), asimismo, el P3 presenta una mayor latencia en las áreas frontales que en las hipocampales, presentándose la menor latencia en el área H3 ($F_6=3.86$; $p=0.01$. Véase la figura 10).

En la fase de inyección de los fármacos, la amplitud y la latencia de las ondas N1, N2, P2 y P3 del vertex, la corteza y el hipocampo, que se observaron en los tres días del condicionamiento se compararon con sus similares registradas durante el tratamiento con los fármacos.

Esta comparación permitió observar que la onda N1 no muestra diferencias de amplitud en ninguna de las áreas de registro al comparar los tres días de entrenamiento con respecto al tratamiento ($F_5=1.58$; $p=0.20$). Asimismo el P2 muestra nuevamente como en el entrenamiento una gran amplitud en el área de F3, sin embargo, bajo el tratamiento con haloperidol el P2 muestra su mayor amplitud en el área de H3. No obstante el análisis de varianza no detecta diferencias en la amplitud de esta onda dependiente del tratamiento ($F_5=0.024$; $p=0.99$).

Por su parte la onda N2 presenta una mayor amplitud en las derivaciones frontales de F2 y F3. Asimismo, es posible observar un aumento en la amplitud de este potencial durante el tratamiento con escopolamina tanto en las áreas frontales como en las hipocampales ($F_5=7.45$; $p=0.0003$).

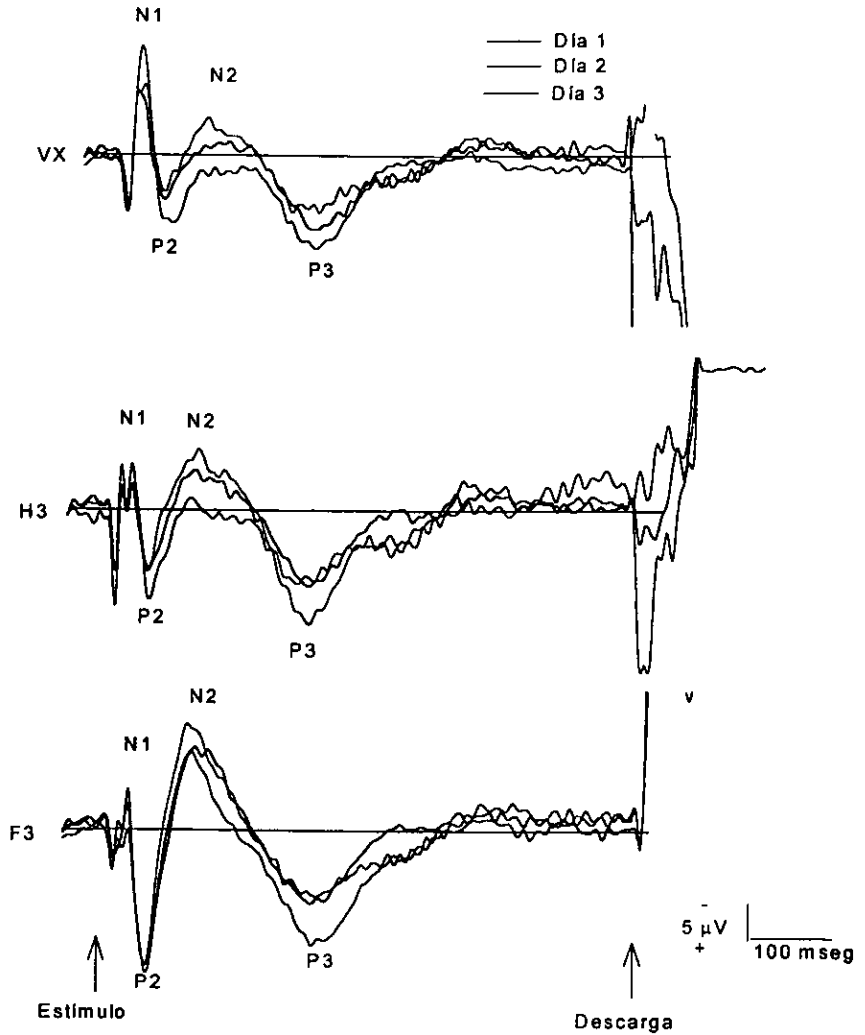


Figura 10. Se muestra la respuesta al estímulo blanco en cada uno de los días de condicionamiento en tres de las zonas de registro. En la parte superior el vértex (VX), en la parte media el electrodo más profundo del hipocampo (H3) y en la parte inferior el electrodo profundo de la corteza frontal (F3). Las flechas muestran el momento de presentación del estímulo auditivo y aversivo respectivamente

Mientras tanto es posible observar un efecto del tratamiento sobre la amplitud del potencial P3, dado que la inyección del haloperidol y el diazepam disminuyen significativamente la amplitud del potencial registrado en el hipócampo, sin embargo, la escopolamina no solo disminuye significativamente la amplitud ($F_5= 73.47$; $p=<0.0001$) sino que incluso suprime por completo al potencial imposibilitando su identificación (véase figura 11).

Por otra parte el tratamiento farmacológico afecta diferencialmente la latencia de los distintos potenciales cuando se compararon con las latencias del condicionamiento. Por ejemplo el diazepam disminuye significativamente la latencia del N1 ($F_5= 3.46$; $p=0.01$), mientras que la escopolamina prolonga la latencia de P2 ($F_5=3.69$; $p=0.008$) y haloperidol alarga la latencia de N2 ($F_5=3.61$; $p=0.009$). Por su parte la latencia del P3 es profundamente afectada por los tratamientos de haloperidol y diazepam retardando significativamente su aparición ($F_5=2017.17$; $p=<0.0001$). No fue posible determinar si la escopolamina afectaba la latencia del P3, dado a que el potencial no pudo ser detectado bajo este tratamiento.

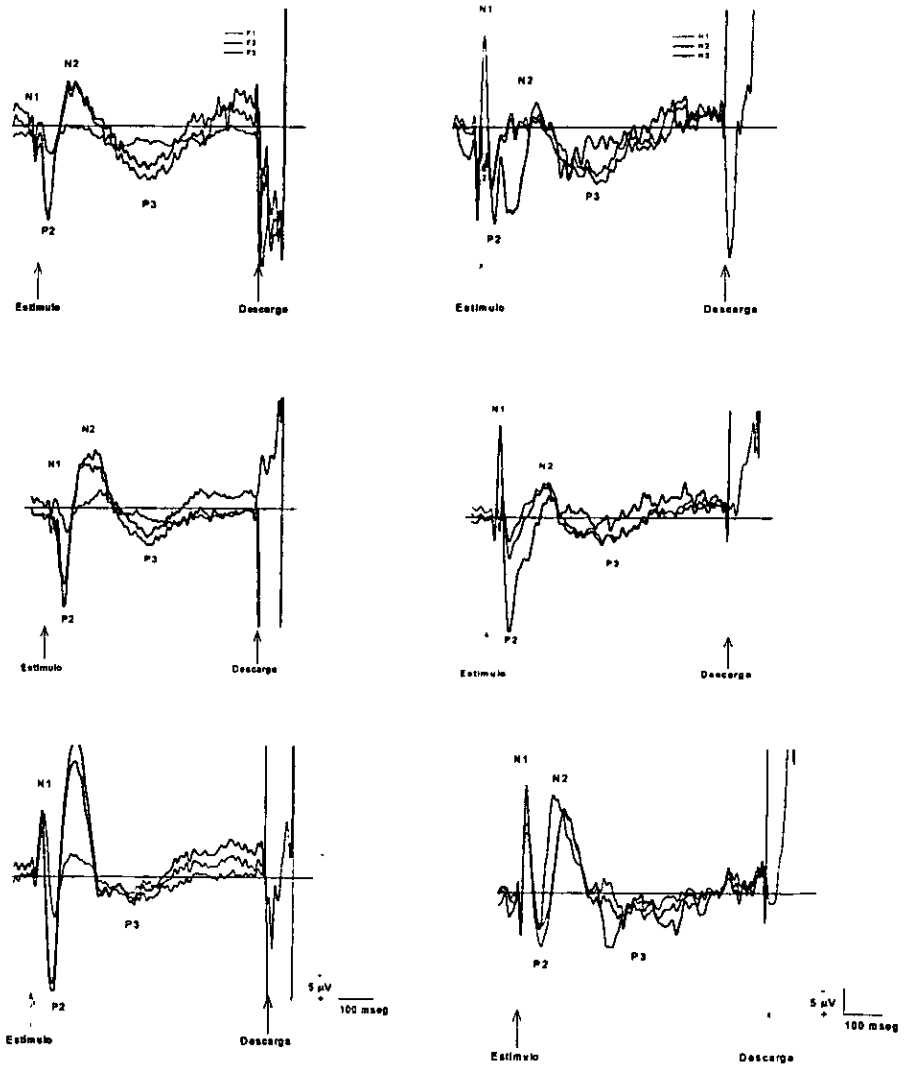
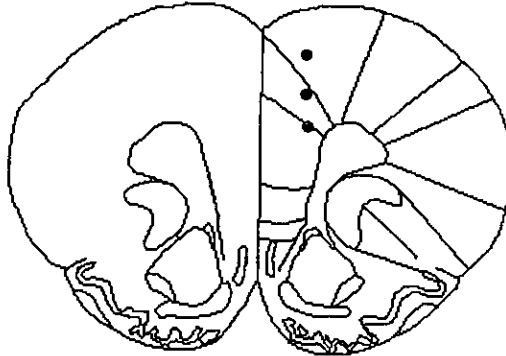
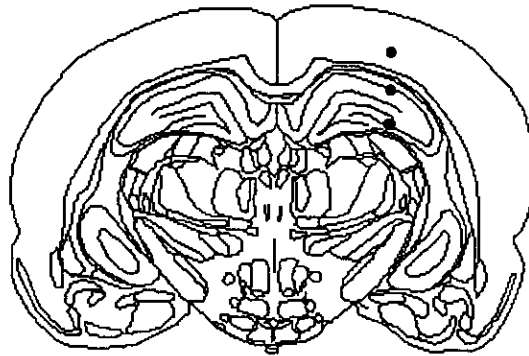


Figura 11. Se muestran los trazos obtenidos durante el tratamiento con los fármacos. Del lado izquierdo se encuentran el registro frontal y del derecho el del hipocampo. Las gráficas superiores corresponden al tratamiento con diazepam, las intermedias al tratamiento con haloperidol y las inferiores al tratamiento con escopolamina. Las flechas señalan el momento en el que el estímulo auditivo o el aversivo fueron presentados.

Una vez terminados los registros se anestesió profundamente a los sujetos y se les administró una pequeña corriente a través de los electrodos para ubicarlos durante la histología. La posición de los electrodos se ilustra en la figura 12.



Frontal AP 2.7, L1.2, DV F₁ 1.8, F₂ 2.8, F₃ 3.8



Hipocampo AP -4.16, L 3.0, DV H₁ 1.2, H₂ 2.2, H₃ 3.2

Figura 12. Se muestra la ubicación de los electrodos en las diferentes profundidades tanto en la corteza frontal F1, F2 y F3, como el Hipocampo H1, H2 y H3. Asimismo muestra las coordenadas Antero posteriores (AP), laterales (L) y dorsoventrales (DV).

El efecto de la HIV gp120 sobre la respuesta P3

A continuación se describe la metodología y los resultados de la inyección ICV (intra cerebro-ventricular) de la proteína VIHgp120 sobre nuestro modelo animal de la actividad P3. El artículo completo puede ser consultado en los anexos de la tesis.

Sujetos: Se utilizaron once ratas machos de la cepa Wistar (250 gr en el momento de la implantación). Los animales fueron alojados individualmente y mantenidos en un ciclo normal de luz-oscuridad de 12-12 hrs (prendiéndose la luz a las 8 AM). Se les implantó a los sujetos bajo anestesia de halotano (2% de halotano) dos tornillos de acero inoxidable a manera de electrodos en el vértex (A=-4.5, L=2.0) y otro tornillo de referencia en el *sino frontalis* (A=7.0, L=2.0). Adicionalmente se les implantó una cánula de acero inoxidable (1 cm de largo y 0.3 mm de diámetro externo) en el ventrículo lateral derecho (A=2.70, L=1.20, P=3.80).

Materiales: La VIHgp120 fue donada por la Dra. Nancy Haigwood, aislada de un HIV SF-2 con un grado de pureza del 95 % determinado por un análisis por electroforesis.

Se utilizó una cámara sono amortiguada (30X30 cm) equipada con seis bocinas distribuidas 3 el frente y 3 en la parte posterior de la cámara. También utilizamos un estimulador GRASS S10CTCM para producir un estímulo auditivo. Tanto el estímulo estándar (tono de 4 kHz) y el estímulo blanco (tono de 3 kHz) fueron presentados por una computadora PC 286/20 MHz. Adicionalmente, el sistema de estimulación y las luces de la cámara fueron controlados por la misma computadora. El estímulo fue filtrado por un ecualizador de diez bandas y amplificado en un amplificador de 700 Watts.

El sistema de registro se encontraba constituido por un amplificador intronix con filtros de 0.5 a 100hz y una tarjeta analógica/digital DT2821 de Data Translation Inc instalada en una computadora PC 486/66 MHz. La frecuencia de muestreo fue de 250 Hz. Los programas de registro y análisis se obtuvieron de Brain Wave System Corporation. Adicionalmente usamos otro estímulo auditivo para obtener los potenciales evocados de tallo cerebral (BAEPs) de 0.3 msec de duración, 11 Hz de frecuencia y tono de 4 kHz. La

frecuencia de muestreo fue de 34 kHz y se promediaron 1200 muestras de EEG de 15 mseg de duración.

Procedimiento: Siete días después de la cirugía comenzamos con el procedimiento conductual. Durante el periodo de habituación, las ratas fueron manipuladas por 5 minutos durante cinco días consecutivos, posteriormente se les permitió explorar la cámara durante 20 minutos. En este periodo, se realizaron las audiometrías para determinar el umbral auditivo de los sujetos a través del registro de los BAEPs.

Los registros de línea base se establecieron por la presentación de dos estímulos auditivos: un estímulo estándar de 4 kHz con una probabilidad de aparición del 95 % y un estímulo blanco de 3 kHz que se presentaba con una probabilidad del 5%. Los estímulos tenían una duración de 50 mseg, 70 dB por arriba del umbral y un tiempo aleatorio de 2.0-3.5 seg de intervalo interestímulos. Este procedimiento fue repetido durante tres días. Treinta y cinco trazos de EEG (2 segundos de duración) en respuesta a cada estímulo fueron capturados.

Una vez que se estableció la línea base, los sujetos fueron aleatoriamente asignados al grupo VIHgp120 o al grupo Salina. El grupo de VIHgp120 recibió por cinco días consecutivos una inyección ICV de VIHgp120 (140 ng/5 μ l) hasta que recibió una dosis total de 700 ng. El grupo control recibió una inyección de (5 μ l) salina diariamente. Los sujetos fueron registrados bajo un diseño ciego durante el tercer día y dos horas después del tratamiento con el mismo procedimiento que en la línea base. Las ratas fueron también registradas a las 24 horas y a los 7, 14 y 21 días después de la última inyección. Al final del estudio realizamos un último registro de BAEPs en ambos grupos.

Análisis

La latencia y amplitud de los PREs se midieron individualmente y un ANOVA de medidas repetidas y una prueba post hoc de Scheffe fueron utilizadas para detectar las diferencias estadísticas.

Resultados

Durante la línea base pudimos observar las diferencias previamente reportadas entre los PRE evocados por el estímulo estándar y el estímulo

blanco (Hillyard y cols 1995; Knight y cols 1995). En ambos grupos, el estímulo blanco produce una onda P3 con una máxima amplitud parietal. Asimismo, pudimos identificar tres componentes adicionales en respuesta al estímulo blanco. Estos componentes fueron las ondas N1, P2 y N2. En contraste el estímulo estándar solo produce el potencial N1. El gran promedio de los PREs del grupo VIHgp120 (n=6) para el estímulo blanco como para el estímulo estándar se muestran en la figura 13.

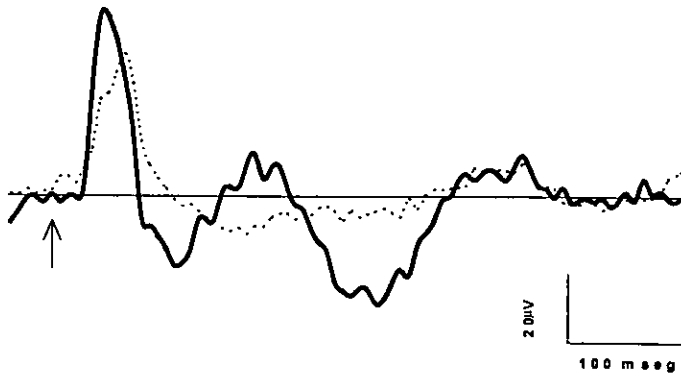


FIG .1

Figura 13. Se ilustra la clásica respuesta evocada en la tarea de discriminación pasiva para el grupo VIHgp120. La respuesta al estímulo blanco se dibuja con una línea continua y la respuesta al estímulo estándar se dibuja con una línea discontinua. La flecha señala el momento cuando el estímulo fue presentado

P3

La respuesta evocada por el estímulo blanco tanto para el grupo control como para el VIHgp120 fue comparada y pudimos observar una reducción significativa en la amplitud del P3 en el grupo VIHgp120 a partir de las 24 hrs después de suspendido el tratamiento ($F_{1,5} = 8.24$; $P=0.02$). La reducción en la amplitud se mantuvo durante 21 después del tratamiento. Sin embargo, no se observaron cambios significativos entre el grupo VIHgp120 y el control con respecto a la latencia ($F_{1,5} = 3.94$; $P=0.09$).

Adicionalmente, pudimos observar una clara reducción en la amplitud en la onda P3 comenzando 24 hrs después de la última inyección. Sin embargo, la prueba de ANOVA no muestra una diferencia significativa entre los días experimentales ($F_{1,5} = 1.55$; $P=0.20$). Al mismo tiempo no hay diferencias significativas en la latencia de la onda ($F_{1,5} = 0.89$; $P=0.49$) véase la tabla 3 y la figura 14a y 14b.

Fase	Grupo	N1		P3	
		Latencia	Amplitud	Latencia	Amplitud
Basal	HIVgp120	25.54±4.21	92.77±27.10	252.84 ±4.91	69.33±15.57
	Control	39.85±3.18	108±38.41	239.53±8.08	65.91±11.28
Inyección	HIVgp120	39.85±7.37	98.14±21.54	219.56 ±56.59	53.94±16.72
	Control	33.19± 3.84	71.77±24.57	216.25±15.6	55.89±18.79
24 Hrs	HIVgp120	26.54±10.28	84.47±38.81	212.19±76.17	34.17±15.32 *
	Control	33.19 ±4.18	94.23±42.86	232.87±1.66	74.47±16.49
Día 7	HIVgp120	46.51±11.18	80.56±20.51	NM	NM *
	Control	33.19± 3.18	71.77±16.10	232.87±1.92	54.19±13.56
Día14	HIVgp120	46.51±4.18	65.91±21.36	NM	NM *
	Control	39.85±3.18	110.83±26.17	239.53±6.29	58.59±15.71
Día 21	HIVgp120	46.51±1.66	77.63±18.01	NM	NM *
	Control	39.85±1.92	120.3±25.52	239.53±7.37	61.03±19

Tabla 3: Media ± E.S de la amplitud (μV) y la latencia (μsec), para la onda N1 y la P3 durante los diferentes días experimentales. Las letras NM significan que la onda no fue detectada. * $p=0.01$ VIHgp120 contra el control.

N1

El análisis del potencial N1 no muestra diferencias significativas entre los grupos en amplitud ($F_{1,5}=3.89$; $P=0.98$) o en latencia ($F_{1,5}=1.29$; $P=0.29$) en respuesta al estímulo blanco (véase tabla 3. figura 14a y 14b). A partir del séptimo día y hasta el día 21, tanto el componente P2 como el N2 desaparecen y solamente el componente N1 puede ser observado en el grupo VIHgp120 en respuesta al estímulo blanco. (véase la figura 14d, 14e, y 14f).

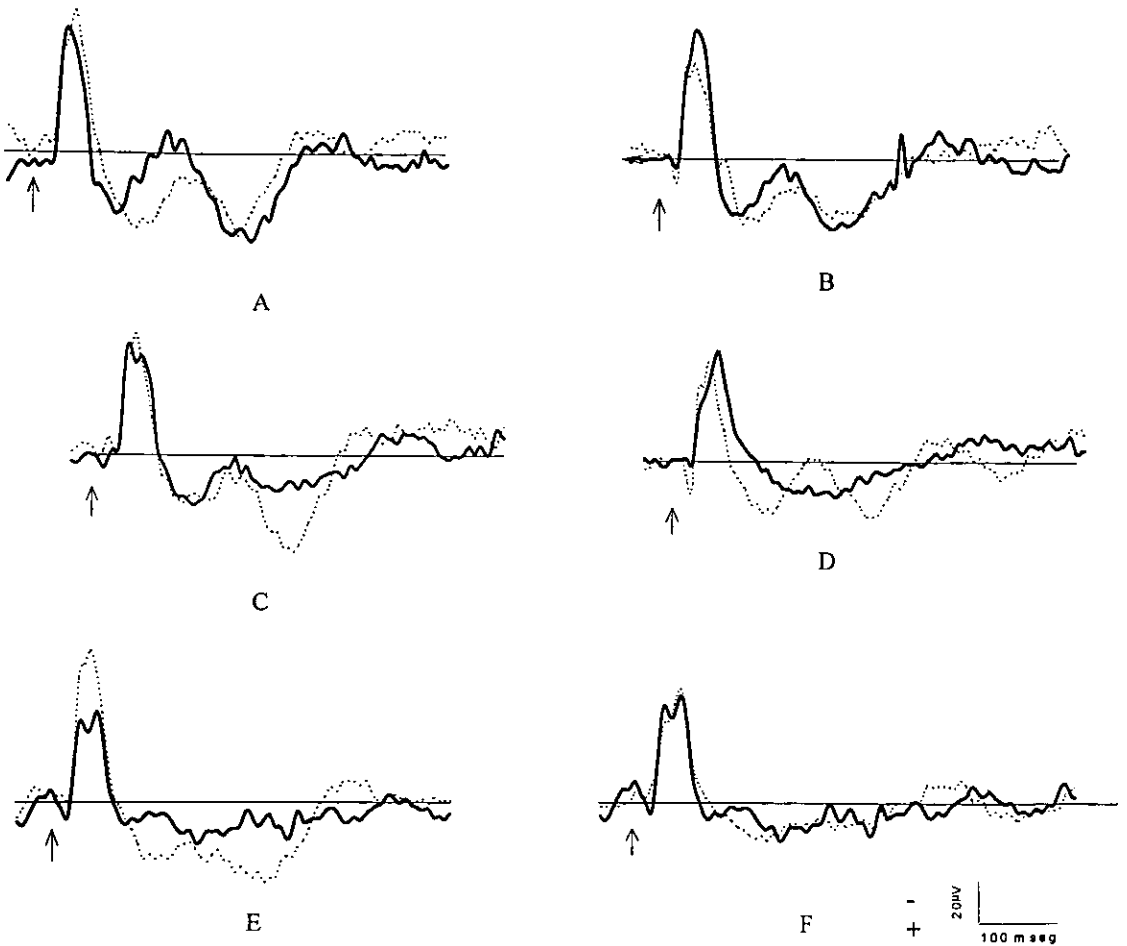
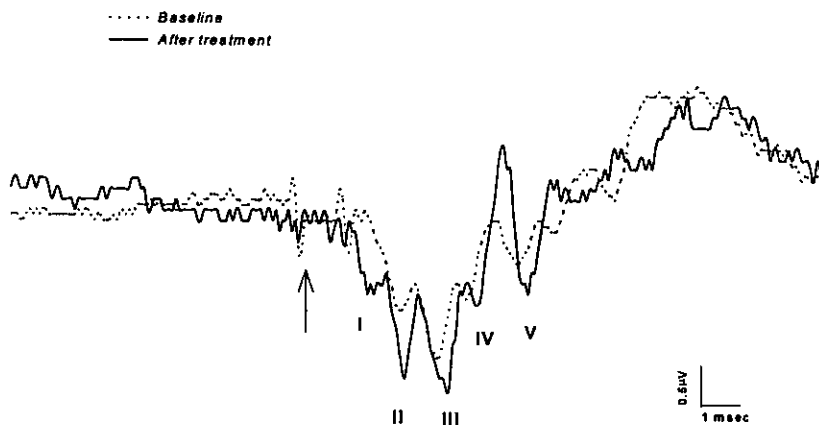


Fig 14: Se ilustra la secuencia de los PRE al estímulo blanco a diferentes tiempos en el grupo tratado con el VIHgp120 (línea continua) y el grupo tratado con salina (línea punteada). A, línea base. B, PRE después de tres días de tratamiento. C, PREs 24 hrs después de la última inyección. D, PREs siete días después de la última inyección. E, PREs catorce días después de la última inyección. F, comparación entre el estímulo blanco (línea continua) y el estímulo estándar (línea punteada) en el grupo VIHgp120, 21 días después de la última inyección. Las flechas muestran el momento de la presentación del estímulo.

BAEPs

No existen diferencias significativas entre el grupo VIHgp120 y el grupo control durante el registro en la línea base. En el registro post tratamiento no se presentan cambios en los primeros tres componentes de los BAEPs; sin embargo, el componente IV y V muestran un retardo significativo ($F_{1,5} 9.69$; $P=0.01$) en comparación al registro en línea base (véase Figura 15).



	I	II	III	IV	V
HIVgp120 pre tratamiento	2.27±0.045	3.03±0.038	3.66±0.073	4.36±0.035	5.14±0.0
HIVgp120 post tratamiento	2.33±0.057	3.03±0.117	3.74±0.092	4.67±0.088 *	5.61±0.170 *
Control Pre tratamiento	2.37±0.050	3.10±0.035	3.76±0.053	4.44±0.123	5.36±0.020
Control post tratamiento	2.38±0.027	3.14±0.036	3.78±0.051	4.35±0.043	5.37±0.025

Fig 15. BAEPs registrados de grupo VIHgp120 en la línea base (línea punteada) y 21 días después del tratamiento (línea continua). Los números romanos identifican a los componentes del BAEP. La tabla en la base de la figura muestra la latencia de cada componente (media±E.S). * p=0.01.

Discusión General

El significado del potencial

El potencial P3 es una respuesta electrofisiológica que se encuentra altamente conservada en los mamíferos. A pesar de las ligeras variaciones en cuanto a su latencia o amplitud a través de la filogenia, las tareas relacionadas a su generación, así como las áreas donde se localiza esta actividad son muy semejantes entre las especies.

Se ha reportado el registro de la actividad P3 en el mono (Ehlers 1988; Swick y cols 1994), el gato (Wilder y cols. 1981), el conejo (Wang y cols 1997; 1999) y la rata (Yamaguchi y cols 1993) donde es posible observar una respuesta de tres componentes (N1, P2 P3a) asociada al estímulo de baja probabilidad.

Estos resultados semejan a los descritos en este trabajo, donde observamos el componente N1 con una latencia media de 38.6 mseg, el componente P2 con una latencia media de 137 mseg y finalmente el componente P3a con una latencia de 247 mseg en el área del vértex.

Nuestros resultados muestran que el P3a aumenta su amplitud conforme menos probable es la aparición del estímulo blanco, independientemente de las características físicas del estímulo infrecuente, esto permite sugerir que el potencial no se presenta como resultado del estímulo sensorial *per se*. De tal forma, que el P3 podría ser la manifestación del análisis del estímulo por encima de las características físicas del mismo, reflejando la importancia "psicológica" de los estímulos como la sorpresa, el significado o la novedad. Esta respuesta de tipo automática aparece independientemente de la atención que el sujeto le preste al estímulo.

Este concepto se ve apoyado por los resultados del experimento de permutación de estímulos, el cual permite discriminar si la respuesta observada es resultado del estímulo empleado o más bien es la situación de probabilidad asociada a este el que produce la respuesta. En nuestro caso, pudimos observar que el estímulo que anteriormente se utilizó como estándar y no generó una respuesta; al ser presentado con baja probabilidad a manera de estímulo blanco es capaz de generar la respuesta P3a.

Para explicar el significado funcional del potencial P3a podemos retomar las conclusiones de Squires y cols (1975) quienes han sugerido que este puede ser el correlato de un procesamiento básico de la información, el cual es capaz de registrar cualquier cambio del estímulo sobre un contexto de estimulación sensorial.

Este proceso de contrastación de estímulos podría llevarse a cabo de acuerdo al arreglo propuesto por Sokolov (véase Näätänen 1992), quien sugiere que cada estímulo sensorial es capaz de formar un modelo neural dentro del sistema. Este modelo es comparado con los estímulos subsiguientes, de tal forma que la aparición de un estímulo sensorial novedoso que no concuerde con el modelo neural establecido por el estímulo estándar, produce una respuesta de orientación automática hacia este estímulo.

De tal forma que el P3a podría considerarse como la manifestación electrofisiológica evocada por un estímulo de potencial significancia biológica que demanda ser procesado.

Desde 1975, Squires y cols. describieron que la respuesta P3 se encontraba constituida por dos componentes. El componente P3a (del que ya hemos hablado) asociado a la novedad y saliencia del estímulo y que puede ser observado independientemente de que el sujeto esté atendiendo el estímulo de baja probabilidad y el P3b el cual solo puede ser observado cuando el estímulo es atendido activamente por el sujeto, lo cual requiere que el estímulo revierta importancia para el sujeto.

Nosotros solo pudimos observar el componente P3b cuando el estímulo auditivo de baja probabilidad (estímulo neutral EN) fue apareado con una descarga eléctrica (estímulo incondicional EI) en las patas del sujeto. De tal forma que el tono se convirtió en un estímulo condicional (EC) que permitía al sujeto predecir la inminencia de la descarga. Utilizando este condicionamiento nosotros observamos una aparición paulatina del componente P3b en el área del vértex, que se hacía claramente visible al tercer día de condicionamiento. Actualmente se ha reconocido que este tipo de condicionamiento se encuentra importantemente modulado por procesos emocionales y atencionales (Hoy 1989; Lipp y cols. 1997; Siddle y cols 1997).

El significado fisiológico de la aparición de esta respuesta en el vértex podrá inferirse de tenerse claro los generadores de la respuesta P3. Sin embargo, como ya se ha mencionado, los generadores de la respuesta P3 aún no son del todo conocidos. Una importante cantidad de trabajos utilizando registros intra craneales (Halgren y cols 1998; McCarthy y cols 1989), magnetoencefalografía (Rogers y cols 1991; Tarkka 1995), registros de alta densidad (Potts y cols 1998) y recientemente un análisis denominado de fuentes dipolares múltiples (Tarkka y cols 1996) han mostrado que la respuesta P3 no es una respuesta cerebral unitaria, sino más bien requiere de la activación coordinada de diferentes áreas cerebrales entre las que se encuentran la corteza auditiva (en el caso de la estimulación auditiva) la corteza parietal inferior, el sulco intraparietal, el sulco temporal superior, la corteza temporal, el hipocampo, la corteza prefrontal y la corteza lateral orbito-frontal.

Nuestros registros intracraneales en el hipocampo y en la corteza frontal, nos permitieron observar que la mayor amplitud para el potencial P3 se observa en los registros de mayor profundidad tanto en el hipocampo como en la corteza frontal.

En un estudio previo, McCarthy y cols. (1989) realizan un registro intracraneal de dos trayectorias. Una de ellas con el electrodo penetrando cerca del borde parieto-occipital, atravesando el hipocampo en toda su longitud y terminando cerca de la amígdala. En este observaron un aumento en la amplitud del P3 conforme el electrodo avanzaba en dirección al hipocampo. Asimismo, observaron una inversión del potencial a nivel del giro parahipocampal, sugiriendo que el dipolo generador del potencial había sido atravesado. En un segundo registro la trayectoria del electrodo comprendía la inserción del mismo desde el lóbulo frontal pasando el lóbulo hipocampal anterior en la región de la amígdala. Este registro mostró un aumento en la amplitud del potencial conforme aumentaba la profundidad del electrodo (sugiriendo una mayor cercanía al generador), sin embargo, no se observó una inversión del potencial.

En nuestro trabajo pudimos observar que es en el electrodo intracraneal de mayor profundidad en el hipocampo en el que se registra la mayor amplitud del potencial P3. Sin embargo, no pudimos apreciar una inversión del potencial. Al igual que en los trabajos previamente descritos de McCarthy y cols (1989) nuestros electrodos se encontraban colocados en el

lóbulo hipocampal anterior donde estos autores sólo registraron un aumento en la amplitud del potencial P3.

Esta evidencia nos permite sugerir que los electrodos de mayor profundidad se encontraban en mayor cercanía al generador. Sin embargo, la ausencia en la inversión del potencial permite sugerir que el generador nunca fue atravesado. Estos resultados corroboran los hallazgos de otros grupos y apoyan la hipótesis del hipocampo como uno de los generadores de la actividad P3.

Por otro lado la utilización de distintos fármacos con un efecto conocido sobre el potencial P3, nos permitió determinar si el P3 se comportaba tal como se esperaba al ser tratado con estos, de igual forma nos permitió sugerir una posible vía de neurotransmisión que pudiera reflejar el deterioro producido por la gp120.

La utilización de la escopolamina, un antagonista selectivo de receptores muscarínicos, bloquea completamente la aparición del P3 registrado tanto en el hipocampo como en la corteza frontal, haciendo evidente el importante papel del sistema colinérgico en la generación del potencial. La evidencia experimental ha mostrado que la destrucción del núcleo basal de Meynert en conejos produce la desaparición del potencial P3 (Wang y cols 1997). De igual forma, la inyección local de escopolamina en la corteza parietal de conejos suprime la aparición del P3 parietal (Wang y cols 1999).

Actualmente se reconoce la existencia de al menos dos grupos principales de neuronas colinérgicas. El primero de ellos se encuentra en el cerebro basal anterior, el cual comprende al núcleo septal medial, vertical y horizontal, la banda diagonal de Broca y el núcleo basalis magnocelularis, también llamada basalis de Meyner en humanos. El segundo se localiza en la formación reticular mesencefálica, en el núcleo tegmental pedúnculo pontino y en el núcleo tegmento pontino laterodorsal, del tallo cerebral (Everitt 1997).

Las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior inervan la neocorteza, la corteza cingulada, el hipocampo, la amígdala basolateral y el bulbo olfatorio, mientras que las neuronas colinérgicas del tallo cerebral proyectan principalmente a través de dos vías, una de ellas al núcleo reticular e intralaminar talámico y la otra al hipotálamo, a la banda diagonal

de broca, la sustancia inonimata, y al área preóptica lateral (Everritt 1997; Coenen 1998).

Baxter y cols (1997) han observado que la lesión de la vía colinérgica septo-hipocampal con 192 IgG-saporina impide un condicionamiento de estímulos semejante al utilizado en nuestro trabajo. Como se recordará, las lesiones del hipocampo no solo producen un deterioro conductual en la ejecución de tareas de tipo atento sino que también producen un déficit en la respuesta P3. Esto nos permite suponer que, al menos en principio, el aprendizaje de una respuesta condicionada de primer orden requiere tanto del componente atencional que le confiere relevancia al estímulo, así como el componente mnémico que registre la relación entre los estímulos (EI-EC). Tanto el componente atencional como el componente mnémico podrían integrarse a nivel del hipocampo.

Bajo este esquema Weinberger (1998) sugiere que la activación del sistema colinérgico puede tener dos funciones generales. Primero, liberar tónicamente acetilcolina en la corteza para mantener un estado cortical de alerta o vigilia, (cuya manifestación es la desincronización del EEG), lo cual facilita el procesamiento de estímulos. Segundo, en un estado de alerta ya presente, una liberación fásica adicional de acetilcolina podría llevarse a cabo en el hipocampo y en la corteza. Esta liberación fásica puede ser la indicación para señalar a estas estructuras que un evento importante ha ocurrido, lo que promovería que el estímulo fuera almacenado.

De acuerdo a este razonamiento el efecto de la escopolamina sobre el sistema colinérgico, es tipo tónico postsináptico, cuyo efecto produce la inhibición del sistema reticular mesencefálico, impidiendo que este último mantenga un estado de alerta adecuado y suficiente para el procesamiento de los estímulos.

Por otra parte la VIHgp120 también podría ejercer su efecto sobre el sistema colinérgico pero a otro nivel. Actualmente se ha reportado una homología significativa entre la secuencia 164-174 de la VIHgp120 y la de los sitios activos tanto de la α bungarotoxina, como de la glicoproteína del virus de la rabia. Estas últimas moléculas se unen selectivamente a receptores colinérgicos de tipo nicotínico, sobre los cuales la VIHgp120 ha mostrado ser capaz de inhibir la unión tanto de la α bungarotoxina (α -BgT) como de la glicoproteína del virus de la rabia (Bracci y cols 1992; 1997).

El tipo de receptor nicotínico en el SNC que une a la α BgT es de tipo homopentamérico, constituido por subunidades $\alpha 9$, $\alpha 8$ y $\alpha 7$. La subunidad $\alpha 7$ le confiere una fisiología particular a este receptor, el cual se caracteriza por su baja afinidad por la ACh y la nicotina. Asimismo, presenta una rápida desensibilización y participa en respuestas sinápticas de tipo fásico (Cordero-Erausquin y cols.2000), presenta una alta permeabilidad al Ca^{2+} ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ radio de $\sim 20:1$) y se localiza particularmente en el sistema límbico y en la corteza (McGehee y cols. 1995).

En el hipocampo se ha registrado que la actividad presináptica de este receptor colinérgico incrementa la concentración de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (Gray y cols. 1996). También se ha demostrado que la actividad de estos receptores incrementa la neurotransmisión excitatoria de tipo fásica mediada por receptores tipo NMDA (McGehee y cols. 1995).

Por lo menos en el hipocampo la VIHgp120 podría ejercer sus efectos tanto a nivel presináptico como postsináptico. El incremento en el $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mediado por receptores nACh (Gray y cols, 1996; McGehee y cols,1995) se sumaría al incremento del $[\text{Ca}^{2+}]_i$ inducido por la gp120 a través de canales de Ca^{2+} voltaje dependientes (Lo y cols, 1992), facilitando la liberación de glutamato. Por otra parte, la actividad de la VIHgp120 sobre la postsinapsis incrementa las corrientes de Ca^{2+} a través de canales tipo L (Lo y cols, 1992; Meucci y cols, 1998), facilitando la despolarización de la célula y aumentando el flujo de Ca^{2+} mediado por receptores tipo NMDA (Lo y cols, 1992).

Si la VIHgp120 produce un deterioro de la actividad fásica mediada por receptores de tipo nicotínico en el hipocampo, esto podría impedir la señalización de un estímulo como un evento relevante para la naturaleza del individuo, afectando obviamente tanto la atención prestada al mismo como la capacidad para memorizarlo o evocarlo posteriormente.

La relación del hipocampo con el déficit electrofisiológico observado en este trabajo se ve apoyado por la evidencia conductual donde se ha mostrado que los sujetos tratados con VIF gp120 y con VIH gp120 (Sánchez-Alavéz y cols 2000), muestran claros déficits en el aprendizaje de una tarea en un laberinto de Barnes. Este déficit se manifiesta por un aumento en el tiempo requerido para aprender la tarea, así como cambios en la estrategia utilizada para ejecutarla en relación a los controles.

El deterioro conductual en la tarea de Barnes sugiere que tanto el hipocampo como la corteza prefrontal, estructuras que se han propuesto implicadas en la memoria espacial y en la memoria de trabajo respectivamente podrían sufrir algún deterioro como consecuencia del tratamiento con la gp120 (Sánchez-Alavéz y cols 2000).

Experimentos adicionales al respecto han mostrado que la potenciación a largo plazo (LTP) que se observa después de la estimulación de alta frecuencia de la vía perforante, se encuentra sensiblemente disminuida en ratas que recibieron VIH gp120, apoyando la visión de un deterioro en la función del hipocampo como consecuencia del tratamiento con la VIH gp120.

Por otra parte se ha establecido que los receptores nicotínicos en el estriado de los mamíferos se encuentran relacionados con la modulación y la liberación de varios neurotransmisores incluyendo la dopamina. La nicotina incrementa la liberación de dopamina en las terminales nerviosas provenientes de la sustancia nigra (Yu y cols.2000). Así como los receptores nicotínicos $\alpha 7$ en las terminales glutamatérgicas estriatales producen la liberación de glutamato, que a su vez estimula a sus receptores en las terminales dopaminérgicas estimulando la liberación de dopamina (Kaiser y Wonnacott 2000).

Esta modulación ejercida por los receptores nicotínicos estriatales podría no estar restringida a las terminales sinápticas, sino que las mismas interneuronas colinérgicas estriatales, son susceptibles a liberar acetilcolina en presencia de nicotina cuando el tono dopaminérgico se encuentra disminuido (Sandor y cols. 1991).

Dado que el estriado se ha considerado como una estructura clave de un sistema distribuido del control motor. La interacción de la VIHgp120 con el receptor $\alpha 7$ nicotínico podría generar una disfunción en el delicado equilibrio de la actividad estriatal que pudiera ser el responsable de algún deterioro motor. En algunas tareas de equilibrio y marcha coordinada, se ha observado un claro efecto sobre el control motor en ratas tratadas con VIHgp120 ICV (Sánchez-Narvaéz y cols. 1999; Sánchez-Alavéz y cols. 2000), sin embargo, se desconoce si este deterioro se encuentra directamente relacionado con algún sistema de neurotransmisión en el estriado.

La posibilidad de la disfunción nicotínica en el DAS no ha sido investigada, sin embargo, en otras patologías como el mal de Parkinson se ha observado por autoradiografía, una disminución significativa de la unión a nicotina en el estriado (Court y cols. 2000). La disfunción estriatal por si misma podría ser la responsable de la compleja gamma de síntomas motores, cognoscitivos y afectivos de los pacientes con DAS. Ya que en otras demencias subcorticales como el mal de Huntington, se ha observado que la prevalencia en la sintomatología depende del circuito estriatal que se encuentre afectado primordialmente, ya sea el circuito motor, el asociativo o el limbico (Joel 2001; Galicia y Brailowsky 1997).

Otro tipo de evidencia que apoya el efecto de la VIHgp120 sobre el sistema colinérgico, son las observaciones de Sánchez-Alavéz y cols (2000), que han mostrado una disminución significativa de la vigilia y una reducción igualmente significativa del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (Prospéro-García y cols 1999) en ratas tratadas con VIHgp120 y VIFgp120 respectivamente.

La participación del sistema colinérgico en la regulación de ambos estados se encuentra ampliamente documentada (para una revisión véase a Siegel 2000 y Steriade 2000). Los registros de actividad unitaria en neuronas colinérgicas ponto-mesencefálicas han mostrado que la mayoría de estas células presentan una alta frecuencia de disparo durante la vigilia y durante el sueño MOR en comparación con el sueño de ondas lentas (Detari y cols 1984). El deterioro observado en el sueño MOR, así como en la vigilia después de la administración de VIFgp120 y VIHgp120, sugiere que las neuronas colinérgicas ponto-mesencefálicas podrían ser también el blanco de la actividad neurotóxica de la gp120, afectando por lo tanto las funciones relacionadas a estas neuronas.

La desaparición del potencial P3 tanto en el área frontal como en el vértex por el tratamiento con escopolamina como por la inyección de la VIHgp120 sugiere que la integridad del sistema colinérgico es fundamental para la expresión del potencial. La evidencia conductual y electrofisiológica, sugiere que tanto el hipocampo como el cuerpo estriado, podrían ser susceptibles al daño por la HIVgp120, ya que ambas estructuras son sumamente relevantes para la adquisición de tareas de tipo condicionado. Además, en el caso del hipocampo, éste último, es también uno de los posibles generadores del P3 y por supuesto ambas estructuras son blanco de una exquisita regulación colinérgica,.

La utilización del haloperidol y la consecuente inhibición del receptor dopaminérgico D2 suprime el potencial P3 registrado en el hipocampo; mientras que, aunque disminuye significativamente la amplitud del potencial registrado en el frontal, esta respuesta aún puede observarse. En cuanto a la latencia, el uso del haloperidol produce un incremento significativo de la latencia del P3 en ambas áreas.

Además del efecto indirecto que ya hemos discutido mediado por las células colinérgicas, existe muy poca información sobre la interacción de la VIHgp120 con el sistema dopaminérgico. Algunos reportes muestran que tanto las neuronas dopaminérgicas, como las que son reguladas por el sistema dopaminérgico son altamente sensibles a esta proteína. Por ejemplo, Iyer y cols (1998) observan que la VIHgp120 en combinación con glucocorticoides produce un aumento significativo en la muerte de células estriatales en cultivo. A su vez Bennett y cols. (1995) observan también muerte celular inducida por VIHgp120 en células dopaminérgicas de la sustancia *Nigra* y del Area Ventral Tegmental (VTA), donde, adicionalmente muestran que la utilización de antagonistas del receptor tipo NMDA como el MK-801 o bloqueadores de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje como la Nifedipina atenúan la muerte celular por VIHgp120.

Estas observaciones junto con los síntomas parkinsonicos que se han observado en los pacientes infectados con el VIH (Kieburz y cols 1991), así como la alta carga de DNA viral que se encuentra en los ganglios basales (Godkin y cols 1997), correlacionan con los experimentos conductuales que muestran una disminución de la actividad motora espontánea en sujetos tratados con la VIHgp120 y la VIFgp120. (Sánchez-Alavéz y cols 2000; Sánchez-Narvaéz y cols. 1999). Estas observaciones en conjunto señalan que el sistema dopaminérgico muestra una alta susceptibilidad al daño por el VIH o por la VIHgp120. Sugiriendo que puede ser uno de los sistemas implicados en el deterioro motor-cognoscitivo asociado a la infección por VIH.

Por otra parte, el diazepam produce una esperada disminución de la amplitud del potencial P3. Este efecto podría estar mediado principalmente por dos mecanismos. El primero de ellos es un efecto de tipo directo determinado por la disminución de la excitabilidad cerebral producto del agonismo GABAérgico, lo cual haría menos responsivas a las células. Y un segundo mecanismo de tipo indirecto mediado por la inhibición de las

células noradrenérgicas del Locus Coeruleus (LC) (Aston-Jones y cols 1981; 1997; Redmond & Huang 1979; Pineda y cols 1989; Sara 1991).

De hecho, prácticamente no existen datos en la literatura sobre el efecto de la VIHgp120 sobre el sistema GABAérgico. No obstante, de los pocos trabajos al respecto, algunos de ellos relacionan nuevamente al hipocampo con el efecto de esta proteína. Por ejemplo, Fontana y cols.(1997), en estudios hechos en cultivos de células hipocampales, observan que la VIHgp120 actúa en el sitio de glicina del receptor NMDA y que este efecto es incluso 3 o 4 órdenes de magnitud más potente que la glicina. El efecto de la activación de los receptores NMDA produce un aumento en la liberación de GABA asociado a la actividad de estos receptores.

En otros trabajos se ha descrito un aumento en el nivel de los aminoácidos excitadores en líquido cefalorraquídeo de monos infectados con el SIV, simultáneo a una disminución de la concentración de GABA durante el transcurso del padecimiento, acentuándose estas diferencias al final del mismo (Koutsileri y cols. 1999).

Otra evidencia indirecta del posible efecto de la VIHgp120 sobre el sistema GABAérgico es aportada por Abdul-Ghani y cols en 1981, quienes mostraron que la bungarotoxina incrementa significativamente la liberación de GABA y glutamato en la corteza sensoriomotora. Como se recordará Bracci y cols (1992; 1997) reportaron una homología significativa entre la secuencia 164-174 de la VIHgp120 y las del sitio activo de la α bungarotoxina. Sugiriendo, por tanto, que esta liberación se encuentra mediada por células de tipo colinérgico.

Tal como es posible inferirse la VIHgp120 puede deteriorar la actividad de por lo menos los sistemas de neurotransmisión colinérgico, dopaminérgico, GABAérgico y glutamatérgico, sin descartar que también pueda tener efecto sobre otros sistemas.

En lo que respecta a nuestro trabajo queda demostrado que la VIHgp120 produce un profundo deterioro en el potencial P3 tal como lo hacen otro tipo de fármacos, pero a diferencia de estos, el o los sistemas relacionados con su efecto están lejos de estar totalmente descritos. Este deterioro no es reversible ya que no se observa recuperación de la respuesta P3 incluso 21 días después de la inyección de la VIHgp120.

De hecho no existe diferencia alguna entre los potenciales producidos por el estímulo estándar y por el estímulo target registrados en el grupo tratado con VIHgp120. Esto último sugiere que los sujetos no son capaces de discriminar entre ambos estímulos, por lo que la capacidad para discriminar o evaluar los eventos ambientales de acuerdo a sus características de saliencia como intensidad o novedad, probablemente también se encuentre afectada. Por lo que la interpretación de nuestros resultados en estos términos sugerirían un deterioro importante en la capacidad de los sujetos para dar cuenta de los cambios ambientales y orientar sus sentidos en dirección de estímulos potencialmente relevantes.

El mecanismo por el cual la VIH gp120 produce este deterioro funcional no es del todo conocido. Actualmente el debate se encuentra abierto entre dos posibles mecanismos, uno de ellos denominado mecanismo directo, el cual sugiere que el virus o alguno de sus productos produce el deterioro cerebral al actuar directamente sobre las neuronas; mientras que, por otro lado, se ha sugerido que el daño celular es el resultado de una acción indirecta del virus o alguno de sus productos sobre otras células promoviendo la liberación de factores tóxicos que afectarían posteriormente a las neuronas

Un hecho comúnmente aceptado es que una vez que el virus se encuentra dentro del cerebro, toma lugar un proceso de amplificación mediado por la infección de otras células. La microglía es un blanco altamente viable dado a que expresa tanto el receptor CD4 (Jordan 1991) como los receptores a quimiocinas CCR5, CCR3 (He y cols. 1997).

Es posible que la gp120 liberada de los macrófagos y de las células microgliales infectadas (Wiley y cols 1986), pudiera estimular la liberación de productos de secreción por parte de otros fagocitos mononucleares los cuales podrían mediar el daño neuronal.

Por ejemplo Giulian y cols (1990) reportaron que fagocitos mononucleares infectados con el VIH son capaces de destruir neuronas mediante la liberación de una pequeña molécula de aproximadamente 2 kD, estable al calor, resistente a proteasas, y cuyo efecto sobre la muerte neuronal se veía disminuido por la utilización de antagonistas del receptor a NMDA.

Algunos aminoácidos y sus metabolitos se han sugerido como posibles productos de liberación. Por ejemplo, el glutamato, la cisteína y el ácido quinolínico que son moléculas estables al calor, resistentes a proteasas, de bajo peso molecular y que pueden actuar como neurotoxinas por activar específicamente el receptor glutamatérgico del tipo NMDA.

Algunos otros productos de secreción que podrían ser liberados por la estimulación de la VIH gp120 podrían ser las citocinas. Las fuentes potenciales de citocinas en el cerebro son las neuronas, los astrocitos, los oligodendrocitos y la microglia.

Se ha descrito que las células del SNC (Sistema Nervioso Central) pueden producir IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF α , principalmente producidas por la microglia; mientras que las neuronas, los oligodendrocitos y los astrocitos, solo pueden ser inducidos a producirlas *In Vitro*, por lo que la contribución de estas células a la respuesta *In Vivo* no se encuentra determinada (Griffin 1997).

En el tejido de los pacientes con demencia asociada al SIDA se ha observado un aumento en el RNA-m de TNF- α y de la sintasa del óxido nítrico, mientras que el RNAm de la IL-1 β se encuentra muy disminuido, así como, el de la IL-4 prácticamente es inexistente (Griffin 1997).

El aumento o disminución de ciertas citocinas puede tener efectos determinantes en la supervivencia neuronal, por ejemplo el TNF α aumenta la replicación del VIH por activar a NFkB (un importante transactivador de la transcripción del VIH). Los oligodendrocitos son inducidos a presentar una respuesta apoptótica en presencia de TNF- α , mientras que los astrocitos son estimulados a proliferar. Por otra parte, el TNF- α produce daño neuronal *In Vivo*, posiblemente por la inhibición de la recaptura de glutamato por parte de los astrocitos. Mientras tanto la IL-4 suprime la activación de los macrófagos y el IFN- γ incrementa la síntesis de factor de crecimiento neuronal por parte de los astrocitos y protege a las neuronas de los efectos citotóxicos de la microglia (Griffin 1997).

Adicionalmente a los productos de secreción de los macrófagos y de la microglia existen otras posibilidades como es que la gp120 liberada por macrófagos y microglia afecte varios mecanismos críticos en el

mantenimiento del microambiente homeostático de las neuronas, regulado por los astrocitos.

La gp120 tiene una gran cantidad de efectos en los astrocitos, como por ejemplo, mediar la activación de una tirosina cinasa e incrementar las concentraciones de $[Ca^{2+}]_i$ (Codazzi y cols 1996).

Otro de los efectos de la gp120 sobre los astrocitos es descrito por Benos y cols (1994) quienes muestran que viriones de VIH y específicamente la gp120 puede substancialmente alterar el intercambiador de Na^+ / H^+ en los astrocitos llevando a la activación de corrientes salientes de K^+ , cuya acumulación en un espacio extracelular restringido puede llevar a cambios de hasta 30-40 mV en las células adyacentes al astrocito.

De esta manera, las elevadas concentraciones de $[K^+]_o$ externo y la alcalinización citoplasmática, pueden ocasionar tanto una disminución en la recaptura de glutamato, como un incremento en la liberación del mismo por el astrocito (Vesce y cols 1997). Este mecanismo podría revestir especial importancia, dada la sensibilidad de algunas áreas cerebrales al glutamato, lo que las hace altamente vulnerables.

Otro posible mecanismo indirecto para la muerte celular inducida por la VIHgp120 es el propuesto por Lannuzzel y cols. (1997), quienes demostraron que la apoptosis inducida por el tratamiento con VIHgp120 también produce una rápida activación de las vías de señalización intracelular JNK (c-Jun N-terminal kinase también llamada SAPK por stress activated protein kinase) y ERK (p42 extracellular regulated kinase).

Estas kinasas pertenecen a las denominadas MAP kinasas (mitogen-activated protein) las cuales convergen hacia la activación de endonucleasas y proteasas, para las que se han descrito tres diferentes cascadas, Raf-MEK-ERK, SEK-JNK y MKK3-p38.

Una hipótesis clásica considera que la activación de las cascadas SEK-JNK y MKK3-P38 se encuentran asociadas con la apoptosis, mientras que la activación de la cascada Raf-MEK-ERK se encuentra más asociada con la regulación del crecimiento y la diferenciación (Lannuzel y cols 1997).

La activación de estas vías de señalización interna a través de los receptores a quimiocinas han sido confirmadas por Bates y cols (2000)

quienes muestran que el ligando natural del receptor CCR5 como es la IL-8 es capaz de activar a la ERK1 y a la ERK2, mientras que por su parte el SDF-1, que es el ligando natural del receptor CXCR4 también activa a ERK (Biard-Piechaczyk y cols 2000).

Actualmente la actividad de estas kinasas en la inducción del proceso apoptótico es aún tema de debate (Biard-Piechaczyk y cols 2000), sugiriéndose la participación de otros elementos como la familia de las caspasas las cuales podrían también mediar la apoptosis generada por la gp120, dado que los inhibidores de la caspasa 3 bloquean la apoptosis inducida por la gp120. En todo caso, los mecanismos intracelulares implicados en la muerte celular por VIHgp120 aún no son del todo claros

Otra posibilidad para el daño inducido por la gp120 es que esta proteína actúe directamente sobre las neuronas. Las neuronas también poseen receptores a quimiocinas a los que potencialmente la gp120 podría unirse. Por ejemplo, las neuronas hipocámpales expresan los receptores CCR1, CCR4, CCR5, CCR9, CCR10, CXCR2, CXCR4, CX3CR1 (Meucci y cols 1998).

Adicionalmente Meucci y cols (1998) han mostrado que la gp120 induce apoptosis en células del hipocampo y que la utilización de los ligandos para los receptores a quimiocinas CCR5 (RANTES) y CXCR4 (SDF-1) bloquean la apoptosis inducida por gp120, asimismo, mostraron un incremento en la concentración de $[Ca^{+2}]_i$ cuando los cultivos fueron expuestos a gp120 o alguna quimiocina como el SDF-1 α , el MIP-1 α o el RANTES entre otras.

Otros de los efectos directos de la gp120 podrían estar mediados por la interacción de esta proteína con el receptor a NMDA. Una buena cantidad de estudios muestran un decremento en la muerte de células en cultivo cuando son previamente tratadas con antagonistas al receptor a NMDA (Véase Lipton 1994 para una revisión). Existen datos que sugieren que la gp120 actúa directamente sobre el sitio de glicina en el receptor a NMDA (Fontana y cols 1997), sitio que al que se le han descrito entre otras funciones, la modulación positiva del influjo de calcio a la célula (Liu & Euler 1999).

Como puede observarse los mecanismos por los cuales la VIH gp120 podría estar implicada en el daño celular y por tanto en un deterioro funcional producto del mismo son amplios. Sin embargo, a pesar de la

abrumante evidencia con que se ha descrito el potencial destructivo de esta proteína, algunas interrogantes sobre la posible relación de esta proteína con la demencia no pueden ser contestadas.

En el transcurso de la infección por VIH se ha detectado un ligero deterioro cognoscitivo incluso en los pacientes cero positivos. Este deterioro de evolución lenta, normalmente solo puede ser detectado mediante la utilización pruebas neuropsicológicas altamente exigentes.

En el 30 % de estos pacientes, el déficit cognoscitivo se agrava de manera abrupta, evolucionando rápidamente hasta el desarrollo de la demencia. Normalmente este deterioro se observa en fases tardías de la enfermedad y raramente precede a la presencia del SIDA.

Pero, ¿por que no todos los sujetos desarrollan la demencia?. En todo caso ¿si el cerebro se infecta en las fases tempranas de la enfermedad, por que no se desarrolla la demencia en etapas más tempranas?.

Desafortunadamente no existe respuesta a estas preguntas, sin embargo, podemos sugerir algunas hipótesis al respecto. Para ello es necesario que tomemos en cuenta que la principal vía de infección por VIH es la vía sexual (Piot y cols. 1988), y es precisamente en las mucosas donde se encuentran un buen número de células que potencialmente pueden ser el blanco del virus (células T CD4⁺, macrófagos/monocitos, células de Langerhans de la vagina, el recto o el colón) (Berger 1999). Los virus m-trópicos, son los que comúnmente son transmitidos en la primera fase de la infección (Donaldson et al 1994). Su éxito en la infección es facilitado por la presencia de altos niveles de receptores CCR5 en la mucosa del colón y en la mucosa cervical (Berger 1999).

Los macrófagos circulan constantemente a través de todo el organismo incluyendo al cerebro. La hipótesis mas viable (el caballo de Troya) señala, que es a través de los macrófagos infectados que el virus es capaz de ingresar al cerebro. En el cerebro la infección de las células macrófago/monocíticas por el VIH se encuentra mediada por la unión de la región V3 de la gp120 del virus con el receptor CD4 y el receptor a quimocinas CCR5 del macrófago (González-Scarano y Baltuch 1999).

En esta primera fase de la infección el carácter m-trópico del VIH se encuentra favorecido sobre otros tropismos, confiriendo al virus un contacto

de manera inmediata con blancos potenciales. Sin embargo, el progreso de la infección, así como el desarrollo de la DAS, podrían estar asociados a un cambio en el tropismo viral.

Por ejemplo Connor y cols (1997) han mostrado este cambio en el tropismo viral asociado a la progresión de el SIDA. Este grupo observa en sus pacientes infectados con VIH que en las primeras etapas de la enfermedad predominan los virus m-trópicos, que utilizan tanto al receptor CD4 como al receptor a quimiocinas tipo CCR5, mientras que en las fases tardías del padecimiento se observa un cambio en tropismo viral en el que predominan los virus del tipo T- trópico, que utilizan tanto al receptor CD4 como a diferentes receptores a quimiocinas como el CXCR4.

Este cambio en el tropismo viral induce también un cambio tanto en la efectividad con que el virus infecta a las células como en la tasa de replicación. Por ejemplo, los virus m-trópicos poseen una tasa de replicación lenta y una infectividad baja (lenta/baja), mientras que los virus T-trópicos poseen una tasa de replicación rápida y una alta infectividad (rápida/alta) (Björndal y cols 1997). Este cambio en la capacidad del virus para infectar de manera mas eficiente a las células, podría, en el caso del cerebro, inducir el rápido deterioro cognoscitivo que se observa en los pacientes con demencia.

Este cambio en el tropismo viral podría ocurrir en el cerebro de manera independiente al resto del organismo. Por ejemplo, los virus aislados en el SNC, el intestino, el bazo y el pulmón poseen diferencias genotípicas y fenotípicas con los virus aislados de células mononucleares de la sangre (Véase Chan y cols. 1999).

De hecho se considera que las presiones selectivas dentro de los microambientes de los diferentes compartimientos anatómicos podría generar cuasi especies de VIH (Zang y cols 2001). En el cerebro, estas cuasi especies podrían evolucionar de manera muy diferente al resto del organismo, debido a la presión selectiva del microambiente particular del cerebro y a su relativo aislamiento inmunológico, dando origen posiblemente a cepas neurotóxicas del VIH, que pudieran ser responsables de la génesis de la DAS (Pierson y cols. 2000; Power y cols 1998).

Evidencia sobre esta evolución independiente es aportada por Korber y cols (1994), quienes amplifican y secuencian el DNA proviral, de la región

V3-V5 del HIV-1 realizando un análisis filogenético de muestras obtenidas en sangre y cerebro. Sus resultados muestran que las secuencias derivadas del cerebro son significativamente menos diferentes entre si que las obtenidas en sangre, sugiriendo una alta compartimentalización del virus en el cerebro el cual evoluciona aisladamente de los virus circulantes en sangre en el 75% de los casos analizados.

Dada la ocurrencia de una evolución particular del VIH en el cerebro. Una de las hipótesis atractivas para explicar la génesis de la DAS podría implicar un cambio en el tropismo viral en el que la VIHgp120 M-tropical (seleccionada durante las primeras fases de la infección para asegurar un mayor número de blancos) cambie su preferencia celular a través de la utilización de una VIHgp120 T-tropical (que podría tener propiedades neurotóxicas). Este cambio podría presentarse de manera independiente al resto de los virus circulantes en sangre

Algunos datos experimentales apoyan esta hipótesis mostrando que los cambios cualitativos en el tropismo viral podrían ser el resultado de modificaciones tan sutiles como el de un solo aminoácido en la región V3 de la gp120 tal como lo sugieren Power y cols (1994), quienes describen que los pacientes con demencia, a diferencia de los pacientes no dementes, presentan una gp120 con predominio de una histidina en vez de una prolina en la posición 305 y una leucina en lugar de isoleucina en la posición 329 de la región V3. Posteriormente, este mismo grupo en 1998 describió que existen diferencias en las secuencias de las regiones V1 y V3 de la gp120 en pacientes con SIDA que presentan la demencia y aquellos que no la presentan. Estas diferencias influyen en la neurotoxicidad de los virus obtenidos de estos pacientes, convirtiendo a los virus de los pacientes con demencia en mas neurotóxicos que los de los pacientes no demenciados.

En nuestro estudio nosotros observamos una disminución importante de la amplitud del potencial P3 a las 24 horas de haber suspendido el tratamiento con la HIVgp120 y siete días después de la suspensión ya no era posible identificar el potencial. Estos resultados sugieren un alto deterioro en las estructuras responsables de generar esta actividad en un lapso muy corto de tiempo. La HIVgp120 utilizada en nuestro estudio fue aislada del virus SF-2, el cual es un virus de tipo T-tropical, por lo que nuestra proteína tendría preferencia para unirse a células con receptores tipo CXCR4. El corto periodo de tiempo para observar el déficit en el potencial

correlaciona con el rápido deterioro cognositivo observado en los casos clínicos.

Como ya se ha mencionado los virus T trópicos poseen una mayor tasa de replicación, lo cual aumentaría la carga viral en el cerebro. Sin embargo, se ha descrito que no existe una relación clara entre la carga viral en el cerebro y la presencia de la demencia (Johnson y cols 1996; Lazarini y cols. 1997) por lo que las diferencias clínicas entre los pacientes infectados podrían ser el resultado de cambios cualitativos en la gp120 del virus mas que a la carga viral en si. De tal forma que el cambio en el tropismo viral podría ser un evento indispensable pero una alta tasa de replicación podría ser totalmente irrelevante.

En todo caso el tratamiento oportuno con una terapia farmacológica adecuada (lo cual no es un asunto trivial), que no solo disminuya la mortalidad sino que disminuya la frecuencia de infecciones oportunistas y además, se encuentre constituido por al menos uno o dos fármacos que atraviesen consistentemente la barrera hematoencefálica, se hace indispensable en el tratamiento de los sujetos con infección con VIH(Clifford 2000; Soto 2000). Este tratamiento debe ser especialmente estudiado no solo para suprimir de forma sostenida al virus en el organismo, sino también para impedir que el VIH no se replique libremente dentro del SNC.

La detección temprana de un deterioro cognositivo previo a alguna manifestación conductual que permita orientar el tratamiento, resulta de especial relevancia en la clínica. La detección de estos déficits a través de técnicas electrofisiológicas como la de PRE y en particular de la P3, podría sin duda alertar sobre un posible deterioro cognositivo temprano en estos pacientes.

Asimismo, la utilización de la P3 como parámetro electrofisiológico, que pueda fungir como un indicador de deterioro cognositivo, el cual permita cuantificar junto con otras pruebas conductuales, el efecto del tratamiento farmacológico sobre el funcionamiento cerebral resulta de especial importancia para evaluar la eficacia de algún tratamiento.

Conclusiones

Nuestros resultados nos permiten concluir que es posible registrar una actividad temprana tipo P3 (P3a) en la rata con las características previamente descritas para esta especie.

El apareamiento de un estímulo neutral (tono) con un estímulo aversivo (Shock eléctrico) en un paradigma de miedo condicionado permite observar un componente tardío de la respuesta P3 (P3b) que preserva las características descritas para esta actividad tanto en humanos como para otras especies.

La utilización de distintos fármacos (Haloperidol, Escopolamina y Diazepam) que modifican distintos sistemas de neurotransmisión (Dopaminérgico, Colinérgico y GABAérgico respectivamente) producen diferentes estados de deterioro en la respuesta P3 registrada en el paradigma de miedo condicionado.

La utilización de la VIH gp120 produce un marcado deterioro en la respuesta P3 de las ratas tratadas con esta proteína.

El déficit observado no solo es distinto al producido por los fármacos de los estudios previos, sino que es permanente y modifica por completo la morfología del potencial.

El déficit observado sobre el potencial P3 comienza a los pocos días de terminar el tratamiento sugiriendo un efecto rápido de la proteína para inducir un deterioro neural.

La proteína VIHgp120 derivada del virus SF-2 del tipo T-tropico utilizada en este estudio sugiere la participación del receptor a quimiocinas CXCR4 en la génesis del daño neural.

Referencias

- Abdul-Ghani, A., Coutinho-Netto, J., Bradford, H., Summers, B., & Thompson, E. (1981). Effect of beta-bungarotoxin on the release of endogenous amino acids from sensorimotor cortex. J Neurochem, *37*(1), 251-4.
- An, S., Giometto, B., Scaravilli, T., Tavolato, B., Gray, F., & Scaravilli, F. (1996). Programmed cell death in brains of HIV-1 positive AIDS and pre AIDS patients. Acta Neuropathol, *91*(2), 169-73.
- Arendt, G., Hefter, H., Neuen-Jacob, E., Wist, S., Kuhlmann, H., Strohmeyer, G., & Freund, H. (1993). Electrophysiological motor testing MRI findings and clinical course in AIDS patients with dementia. J Neurol, *240*(7), 439-445.
- Aston-Jones, G., Rajkowski, J., & Kubiak, P. (1997). Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in a vigilance task. Neuroscience, *80*(3), 697-715.
- Astor-Jones, G., & Blom, F. (1981). Norepinephrine containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non noxious environmental stimuli. J Neuroscience, *1*, 887-900.
- Baggiolini, M. (2000). Reflections on chemokines. Immunol Rev, *177*, 5-7.
- Bates, M. E., Green, V., & Bertics, P. (2000). ERK1 and ERK2 activation by chemotactic factors in human eosinophils is interleukin 5 dependent and contributes to leukotriene C4 biosynthesis. The Journal of Biological Chemistry, *275*(15), 10968-10975.
- Baxter, M., Holland, P., & Gallagher, M. (1997). Disruption of decrements in conditioned stimulus processing by selective removal of hippocampal cholinergic input. J Neurosci, *17*(13), 5230-5236.
- Bennett, B., Rusyniak, D., & Hollingsworth, C. (1995). HIV-1 gp120-induced neurotoxicity to midbrain dopamine cultures. Brain Research, *705*, 168-176.
- Benos, D., Hahn, B., Bubien, J., Ghosh, S., Mashburn, N., Chakin, M., Shaw, G., & Benveniste, E. (1994). Envelope glycoprotein gp120 of human immunodeficiency virus type 1 alters ion transport in astrocytes: Implications for AIDS dementia complex. Proc Natl Acad Sci USA, *91*, 494-498.
- Berger, E., Murphy, P., & Farber, J. (1999). Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: Roles in viral entry, tropism and disease. Ann Rev Immunol, *17*, 657-700.
- Berman, N., Marcario, J., Yong, C., Raghavan, R., Raymond, L., Joang, S., Narayan, O., & Cheney, P. (1999). Microglial activation and neurological symptoms in the SIV model Neuro AIDS: association of MHC-II and MMP9 expression with behavioral deficits and evoked potentials. Neurobiol Dis, *6*(6), 486-98.
- Biard-Piechaczyk, M., Robeert-Hebmann, V., Richard, V., Roland, J., Hipskind, R., & Devaux, C. (2000). Caspase-dependent apoptosis of cells expressing the chemokine receptor CXCR4 is induced by cell membrane associated human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein (gp120). Virology, *268*, 329-334.
- Birdsall, H., Ozluoglu, L., Lew, H., Trial, J., Brown, D., Wofford, M., Jerger, J., & Rossen, R. (1994). Auditory P300 abnormalities and leukocyte activation in HIV infection. Otolaryngol Head Neck Surg, *110*(1), 53-59.

Bjorndal A, Deng H, Jansson M, Fiore JR, Colognesi C, Karlsson A, Albert J, Scarlatti G, Littman DR, Fenyo EM. (1997) Coreceptor usage of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates varies according to biological phenotype. *J Virol*, 71(10):7478-87.

Bracci, L., Ballas, S., Spreafico, A., & Neri, P. (1997). Molecular mimicry between the rabies virus glycoprotein and human immunodeficiency virus-1 GP120: Cross-reacting antibodies induced by rabies vaccination. *Blood*, 90(9), 3623-3628.

Bracci, L., Lozzi, L., Rustici, M., & Neri, P. (1992). Binding of HIV gp120 to the nicotinic receptor. *FEBS*, 311(2), 115-118.

Brenneman, D., Westbrook, G., Fitzgerald, S., Ennist, D., Elkins, K., Ruff, M., & Pert, C. (1988). Neuronal cell killing by the envelope protein of HIV and its prevention by vasoactive intestinal peptide. *Nature*, 335, 639-642.

Brew, B., Rosenblum, M., Cronin, K., & Price, R. (1995). AIDS dementia complex and HIV-1 brain infection: clinical virological correlations. *Ann Neurol*, 38(4), 563-570.

Clifford DB. (2000). Human immunodeficiency virus-associated dementia. *Arch Neurol* 57(3):321-4.

Coburn, K., Moore, N., Katner, H., Tucker, K., Pritchard, W., & Duke, D. (1992). HIV and the brain: evidence of early involvement and progressive damage. *Neuroreport*, 3(6), 539-41.

Codazzi, F., Racchetti, G., Grohovaz, F., & Meldolesi, J. (1996). Transduction signals induced in rat brain cortex astrocytes by the HIV-1 gp120 glycoprotein. *FEBS Letters*, 384, 135-137.

Coenen, A. (1998). Neuronal phenomena associated with vigilance and consciousness: from cellular mechanisms to electroencephalographic patterns. *Counciousness and Cognition*, 7, 42-53.

Connolly, S., Manji, H., McAllister, R., Fell, M., Loveday, C., Kirkis, C., Hems, M., Sweeney, B., Sartawi, O., Durrance, P., Griffin, G., Boland, M., Fowler, C., Newman, S., Weller, I., & Harrison, M. (1994). Long latency event related potentials in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1 infection. *Ann Neurol*, 35, 189-196.

Connor, R., Notermans, D., Mohri, H., Cao, Y., & Ho, D. (1993). Biological cloning of functionally diverse quasiespecies of HIV-1. *AIDS Res Hum Restroviruses*, 9(6), 541-546.

Connor RI, Sheridan KE, Ceradini D, Choe S, Landau NR. (1997). Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1—infected individuals. *J Exp Med* 17;185(4):621-8.

Court, J., Piggott, M., Lloyd, S., Cookson, N., Ballard, C., McKeith, I., Perry, R., & Perry, E. (2000). Nicotine binding in human striatum: elevation in schizophrenia and reductions in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease and in relation to neuroleptic medication. *Neuroscience*, 98(1), 79-87.

Datta, S., Calvo, J., Quattrochi, J., & Hobson, J. (1992). Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. I. Immediate and prolonged increases in ponto-geniculo-occipital waves. *Archives Italiennes de Biologie*, 130, 263-284.

- Detari, L., Juhasz, G., & Kukorelli, T. (1984). Firing properties of cat basal forebrain neurons during sleep-wakefulness cycle. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, *58*, 362.
- Donaldson, Y., Bell, J., Holmes, E., Hughes, E., Brown, H., & Simmonds, P. (1994). In vivo distribution and cytopathology of variants of human immunodeficiency virus type 1 showing restricted sequence variability in the v3 loop. Journal of virology, *68*(9), 5991-6005.
- Ehlers, C. (1988). ERP response to ethanol and diazepam administration in squirrel monkeys. Alcohol, *5*(4), 315-320.
- Epstein, J., Frederick, W., Rook, A., Jackson, L., Mainschewitz, J., Mayner, R., Masur, H., Eterline, J., Djeu, J., & Quinnan, G. (1985). Selective defects in cytomegalovirus and mitogen induce lymphocyte proliferation and interferon release in patients with acquired immunodeficiency syndrome. J. Infect. Dis., *152*(4), 727-733.
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1997). Central cholinergic systems and cognition. Annu Rev Psychol, *48*, 649-684.
- Fein, G., Biggins, C., & Mackay, S. (1995). Delayed latency of the event related brain potential P3a component in HIV disease. Arch Neurol, *52*, 1109-1118.
- Filipovic, S., Kostic, V., Stermic, N., Marinkovic, Z., & Ocic, G. (1990). Auditory event related potentials in different types of dementia. Eur Neurol, *30*(4), 189-93.
- Fontana, G., Valenti, L., & Raiteri, M. (1997). Gp120 Can revert antagonism at the glycine site of NMDA receptors mediating GABA release from cultured hippocampal neurons. Journal of Neuroscience Research, *49*, 732-738.
- Frank, Y., & Pahwa, S. (1993). Serial brainstem auditory evoked responses in infants and children with AIDS. Clin Electroencephalogr, *24*(4), 160-165.
- Frankel, A., & Young, J. (1998). HIV-1: Fifteen proteins and an RNA. Annu Rev Biochem, *67*, 1-25.
- Gabuzda, D., He, J., Ohagen, A., & Vallat, A.-V. (1998). Chemokine receptors in HIV-1 infection of the central nervous system. Immunology, *10*, 203-213.
- Gabuzda, D., Ho, D., Monte, S. d. l., Hirsch, M., Rota, T., & Sobel, R. (1986). Immunohistochemical identification of HTLV-III antigen in brains of patients with AIDS. Ann Neurol, *20*(3), 289-295.
- Galicia, O., & Brailowsky, S. (1997). El cuerpo estriado mas alla de las funciones motoras. Ciencia, *47*, 282-289.
- Galicia, O., & Brailowsky, S. (1999). Atención: La compuerta de la conciencia. Salud Mental, *22*(3), 48-59.
- Galicia, O., Sánchez-Alavéz, M., Díaz-Ruiz, O., Sánchez-Narvaéz, F., Elder, J., Navarro, L., & Prospéro-García, O. (2000). HIV-derived protein gp120 suppresses P3 potential in rats: potential implications in HIV-associated dementia. Neuroreport, *11*(6), 1351-5.
- Ganju, R., Brubaker, S., Meyer, J., Dutt, P., Yang, Y., Qin, S., Newman, W., & Groopman, J. (1998). The alpha chemokine stromal cell-derived factor 1alpha, binds to the transmembrane G protein coupled CXCR4 receptor and activates multiple signal transduction pathways. The Journal of Biological Chemistry, *273*(36), 23169-23175.
- Giulian, D., Vaca, K., & Noonan, C. (1990). Secretion of neurotoxins by mononuclear phagocytes infected with HIV-1. Science, *250*, 1593-1596.

Giulian, D., Wendt, E., Vaca, K., & Noonan, C. (1993). The envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 stimulates release of neurotoxins from monocytes. Proc Natl Acad Sci, 90, 2769-2773.

Gonzalez-Scarano F, Baltuch G. (1999) Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases. Annu Rev Neurosci; 22:219-40.

Goodin, D., Aminoff, M., Chernof, D., & Hollander, H. (1990). Long latency event related potentials in patients infected with human immunodeficiency virus. Ann Neurol, 27, 414-419.

Goodkin, K., Wilke, F., Concha, M., Asthana, D., Shapshak, P., Douyon, R., Fujimura, R., & LoPiccolo, C. (1997). Subtable neuropsychological impairment and minor cognitive motor disorder in HIV-1 infection. Neuroradiological, neurophysiological, neuroimmunological an virological correlates. Neuroimaging Clin. North Am., 7, 561-579.

Grant, I., Adam K. (1996). Neuropsychological assessment of neuropsychiatric disorders. New York, Oxford.

Grant, I., Heaton, R., & Atkinson, J. (1995). Neurocognitive disorders in HIV-1 infection. In M. Oldstone & L. Vitkovic (Eds.), HIV and Dementia, (pp. 11-32). Berlin: Springer-Verlag.

Gray, R., Rajan, A., Radcliffe, K., Yakehiro, M., & Dani, J. (1996). Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. Nature, 383, 713-716.

Haas, D. W., Clough, L. A., Johnson, B. W., Harris, V. L., Spearman, P., Wilkinson, G. R., Fletcher, C. V., Fiscus, S., Raffanti, S., Donlon, R., McKinsey, J., Nicotera, J., Schmidt, D., Shoup, R. E., Kates, R. E., Lloyd, R. M., & Larder, B. (2000). Evidence of a source of HIV-1 within the central nervous system by ultraintensive sampling of cerebrospinal fluid and plasma. AIDS Res Hum Retrovirus, 16(15), 1401-502.

Halgren, E., Marinkovic, K., & Chauvel, P. (1998). Generators of the late cognitive potentials in auditory and visual oddball task. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 106, 156-164.

He, J., Chen, Y., Farzan, M., Choe, H., & Ohagen, A. (1997). CCR3 and CCR5 are coreceptors for HIV-1 infection of microglia. Nature, 385, 645-649.

Hillyard, S., & Woods, D. (1979). Electrophysiological analysis of human brain function. In M. Gazzaniga (Ed.), Handbook of behavioral neurobiology, (Vol. 2, pp. 345-378): Plenum Press.

Hillyard, S., Mangun, G., Woldorff, M., & Luck, S. (1995). Neural systems mediating selective attention. In M. Gazzaniga (Ed.), The cognitive Neurosciences, (pp. 665-681). Cambridge: Mit Press.

Hillyard, S., & Picton, T. (1987). Electrophysiology of cognition. In V. Mountcastle (Ed.), Handbook of physiology, (Vol. V,). Bethesda Maryland: American Physiology Society.

Hoy, R. (1989). Startle, categorical response, and attention in acoustic behavior of insects. Ann Rev of Neurosci, 12, 355-375.

Iyer, A., Brooke, S., & Sapolsky, R. (1998). Glucocorticoids interact with gp120 in causing neurotoxicity in striatal cultures. Brain Research, 808, 305-309.

- Joel, D. (2001). Open interconnected model of basal ganglia thalamocortical circuitry and its relevance to clinical syndrome of huntington' disease. Mov Disord, 16(3), 407-23.
- Johnson, R., Glass, J., McArthur, J., & Chesebro, B. (1996). Quantitation of human immunodeficiency virus in brains of demented and nondemented patients with acquired immunodeficiency syndrome. Ann Neurol, 39(3), 392-395.
- Jordan, C., Watkins, B., Kufta, C., & Dubois-Dalcq, M. (1991). Infection of brain microglial cells by human immunodeficiency virus type 1 is CD4 dependent. J Virol., 65, 736-742.
- Kaiser, S., & Wonnacott, S. (2000). Alpha-bungarotoxin sensitive nicotinic receptors indirectly modulate 3H dopamine release in rat striatal slices via glutamate release. Mol Pharmacol, 58(2), 312-8.
- Kalayam, B., Alexopoulos, S., Kindermann, S., Kakuma, T., Brown, G., & Young, R. (1998). Am J Psychiatry, 155(3), 425-427.
- Kellaway, P. (1979). An Orderly approach to visual analysis : Parameters of the normal EEG in adults and children. In W. Klass & D. Dalay (Eds.), Current practice of clinical electroencephalography. New York: Raven Press.
- Kieburz, K. D., Epstein, L. G., Gelbard, H. A., & Greenamyre, J. T. (1991). Excitotoxicity and dopaminergic dysfunction in the acquired immunodeficiency syndrome dementia complex: therapeutic implications. Arch. Neurol, 48, 1281-1284.
- Knight, R., Grabowecky, M., & Scabini, D. (1995). Role of human prefrontal cortex in attention control. In J. Riggio & P. Goldman-Rakic (Eds.), Epilepsy and the functional anatomy of the frontal lobe, (pp. 21-36). New York: Raven Press.
- Knight, R., Scabini, D., & Woods, D. (1989a). Prefrontal cortex gating of auditory transmission in humans. Brain Research, 504, 338-342.
- Knight, R., Scabini, D., Woods, D., & Clayworth, C. (1989b). Contributions of temporal-parietal junction to the human auditory P3. Brain Research, 502, 109-116.
- Korber BT, Kunstman KJ, Patterson BK, Furtado M, McEvilly MM, Levy R, Wolinsky SM. (1994). Genetic differences between blood- and brain-derived viral sequences from human immunodeficiency virus type 1-infected patients: evidence of conserved elements in the V3 region of the envelope protein of brain-derived sequences. J Virol. Nov;68(11):7467-81.
- Koutsilieri, E., Sopper, S., Heinemann, T., Scheller, C., Lan, J., Stahl-Hennig, C., Meulen, V. t., Riederer, P., & Gerlach, M. (1999). Involvement of microglia in cerebrospinal fluid glutamate increase in SIV-infected rhesus monkeys. AIDS Res Hum Retroviruses, 15(5), 471-7.
- Kuby, J. (1998). Immunology. New York: Library of Congress.
- Kugler, C. (1996). Can age dependent cognitive functions be mesured?. P300 potentials concept of brain aging early diagnosis of dementia processes. Fortschr Med, 114(28), 357-360.
- Kure, K., Lyman, W., Weidenheim, K., & Dickson, D. (1990). Cellular localization of an HIV-1 antigen in subacute AIDS encephalitis using an improved double labeling immunohistochemical method. Am J Pathol, 136(5), 1085-1092.
- Lannuzel, A., Barnier, J. V., Hery, C., Tan, H. V., Guibert, B., Gray, F., Vincent, J. D., & Tardieu, M. (1997). Human immunodeficiency virus type 1 and its coat protein

gp120 induce apoptosis and activate JNK and ERK mitogen activated protein kinases in human neurons. American Neurological Association, 42(6), 847-856.

Lazarini, F., Seilhean, D., Rosenblum, O., Suarez, S., Conquy, L., Uchihara, T., Sazdovitch, V., Mokhtari, K., Maisonnobe, T., Boussin, F., Katlama, C., Bricaire, F., Duyckaerts, C., & Hauw, J. (1997). Human immunodeficiency virus type 1 DNA and RNA load in brains of demented and non demented patients with acquired immunodeficiency syndrome. J Neurovirol, 3(4), 299-303.

Levy, J. (1994). HIV and the pathogenesis of AIDS. (First ed.). Washington D.C: ASM Press.

Levy, J., Shimabukuro, J., Hollander, H., Mills, J., & Kaminsky, L. (1985). Isolation of AIDS associated retroviruses from cerebrospinal fluid and brain of patients with neurological symptoms. Lancet, 2(8455), 586-588.

Lipp, O., Siddle, D., & Dall, P. (1997). The effect of emotional and attentional processes on blink startle modulation and electrodermal responses. Psychophysiology, 34, 340-347.

Lipton, S. (1992). Models of Neural injury in AIDS: another role for the NMDA receptor? TINS, 15(3), 75-79.

Lipton, S. (1994). AIDS related dementia and calcium homeostasis. Ann NY Acad Sci, 15(747), 205-24.

Lipton, S. (1998). Neuronal injury associated with HIV-1 : Approaches to treatment. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 38, 159-177.

Liu, Y., & Euler, G. (1999). Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ antagonize the glutamate and glycine induce decrease of {3h} MK-801 binding observed in the presence of Mg²⁺ at low pH. Neurochem Int, 34(4), 291-301.

Lo, T.-M., Fallert, C., Piser, T., & Thayer, S. (1992). HIV-1 envelope protein evokes intracellular calcium oscillations in rat hippocampal neurons. Brain Research, 594, 189-196.

Luria. (1986). La atención. Barcelona: Martinez Roca.

McCarthy, G., Wood, C. C., Williamson, P. D., & Spencer, D. D. (1989). Task-dependent field potentials in human hippocampal formation. The Journal of Neuroscience, 9(12), 4253-4268.

McGehee, D., Heath, M., Gelber, S., Devay, P., & Role, L. (1995). Nicotine Enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. Science, 269, 1692-1695.

Meucci, O., Fatatis, A., Simen, A., Bushell, T., Gray, P., & Miller, R. (1998). Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. Proc Natl Acad Sci USA, 95, 14500-14505.

Meucci, O., & Miller, R. (1996). gp120-induced neurotoxicity in hippocampal pyramidal neuron cultures: Protective action of TGF-beta1. The Journal of Neuroscience, 16(13), 4080-4088.

Nääätänen, R. (1992). Attention and automaticity in information processing. In R. Nääätänen (Ed.), Attention and brain function. London: Erlbaum associates publishers.

Ollo, C., Johanson, R., & Grafman, J. (1991). Signs of cognitive change in HIV disease: an event related brain potential study. Neurology, 41, 209-215.

ONUSIDA, & OMS. (2000). Latest HIV/AIDS Statistics : <http://www.unaids.org/>.

Ortiz, T., Loeches, M., Miguel, F., Abad, E., & Puente, A. (1994). P300 latency and amplitude in the diagnosis of dementia. J Clin Psychol, 50(3), 381-388.

Ostrosky-Solis, F. (1996). Demencias tratables y no tratables. In F. Ostrosky, A. Ardila, & R. Chayo (Eds.), Rehabilitación Neuropsicológica, (pp. 203-219). México: Planeta.

Petito, C., & Roberts, B. (1995). Evidence of apoptotic cell death in HIV encephalitis. Am J Pathol, 146(5), 1121-30.

Petito, C., Roberts, B., Cantando, J., Rabinstein, A., & Duncan, R. (2001). Hippocampal injury and alterations in neuronal chemokine co-receptor expression in patients with AIDS. J Neuropathol Exp Neurol, 60(4), 377-85.

Pierson T, Hoffman TL, Blankson J, Finzi D, Chadwick K, Margolick JB, Buck C, Siliciano JD, Doms RW, Siliciano RF.(2000). Characterization of chemokine receptor utilization of viruses in the latent reservoir for human immunodeficiency virus type 1. J Virol. Sep;74(17):7824-33.

Phillips, T. R., Prospéro-García, O., Puaoli, D. L., Lerner, D. L., Fox, H. S., Olmsted, R. A., Bloom, F. E., Henriksen, S. J., & elder, J. H. (1994). Neurological abnormalities associated with feline immunodeficiency virus infection. Journal of General Virology, 75, 979-987.

Pineda, J., Foote, S., & Neville, H. (1989). Effects of Locus Coeruleus lesions on auditory long latency event related potentials in monkey. The journal of neuroscience, 9(1), 81-93.

Piot, P., Plummer, F., Mhalu, F., Lamboray, J.-L., Chin, J., & Mann, J. (1988). AIDS: An international Perspective. Science, 239, 573-579.

Power C, McArthur JC, Johnson RT, Griffin DE, Glass JD, Perryman S, Chesebro B. Demented and nondemented patients with AIDS differ in brain-derived human immunodeficiency virus type 1 envelope sequences. J Virol. 1994 Jul;68(7):4643-49.

Power, C., McArthur, J., Nath, A., Wehrly, K., Mayne, M., Nishio, J., Langelier, T., Johnson, R., & Chesebro, B. (1998). Neuronal death induced by brain derived human immunodeficiency virus type 1 envelope genes differs between demented and nondemented AIDS patients. Journal of virology, 72(11), 9045-9053.

Price, R., Brew, B., Sidtis, J., Rosenblum, M., Scheck, A., & Cleary, P. (1988). The brain and AIDS: central nervous system HIV-1 infection and AIDS demential complex. Science, 239, 586-592.

Price, R., & Perry, R. (1996). HIV, AIDS and the brain. New York: Raven Press.

Prospéro-García, O., Herold, N., Phillips, T. R., Elder, J. H., Bloom, F., & Henriksen, S. J. (1994). Sleep patterns are disturbed in cats infected with feline immunodeficiency virus. Proc Nat Acad Sci Usa, 91, 12947-12951.

Prospéro-García, O., Resendiz, S. H., Casalman, S. C., Sánchez-Alavez, M., Díaz-Ruiz, O., Navarro, L., Lerner, D. L., Phillips, T. R., Elder, J. H., & Henriksen, S. J. (1999). Feline immunodeficiency virus envelope protein (FIV gp120) causes electrophysiological alterations in rats. Brain Research, 836, 203-209.

Pumarola-Sune, T., Navia, B., Cordon-Cardo, C., Cho, E., & Price, R. (1987). HIV antigen in the brains with the AIDS dementia complex. Ann Neurol, 21(5), 490-496.

Redmond, D., & Huang, Y. (1979). New evidence for a Locus Coeruleus norepinephrine connection with anxiety. Lif Sci, 25, 2149-2162.

Rijkevorsel-Harmant, v. (1992). P3 after acoustic and somatosensory stimulation in patients with Huntington disease. Neurophysiol Clin, 22(1), 17-25.

Rogers, R., Baumann, S., Papanicolaou, A. C., Bourbon, T., Alagarsamy, S., & Einsenberg, H. (1991). Localization of the P3 sources using magnetoencephalography and magnetic resonance imaging. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 79, 308-321.

Rosenberg, C., Nudleman, K., & Starr, A. (1985). Cognitive evoked potentials P300 in early Huntington's disease. Arch Neurol, 42(10), 985-987.

Rottenberg, D., Sidtis, J., Strther, K., Anderson, J., Nelson, M., & Price, R. (1996). Abnormal cerebral glucose metabolism in HIV-1 seropositive subjects with and without dementia. J. Nucl. Med., 37, 1133-1141.

Sánchez-Alavéz, M., Criado, J., Gómez-Chavarín, M., Jiménez-Anguiano, A., Navarro, L., Díaz-Ruiz, O., Galicia, O., Sánchez-Narvaez, F., Murillo-Rodríguez, E., Henriksen, S., Elder, J., & Prospéro-García, O. (2000). HIV and FIV derived gp120 alter spatial memory, LTP and sleep in rats. Neurobiol Dis, 7(4), 384-394.

Sánchez-Alavéz, M., Navarro, L., Díaz-Ruiz, O., Castillo, O. G., Sánchez-Narvaez, F., Murillo-Rodríguez, E., Gómez-Chavarín, M., Rivero-Palomero, M., & Prospéro-García, O. (1999). Aspectos Moleculares de la demencia asociada al SIDA. Salud Mental, 22(2), 49-65.

Sánchez-Narvaez, F., Sánchez-Alavéz, M., Méndez-Díaz, M., Díaz-Ruiz, O., Navarro, L., Elder, J. H., Drucker-Colín, R., & Prospéro-García, O. (1999). HIV gp120 and FIV gp120 causes motor control alterations which are prevented by MK801. Abstracts: Society for Neuroscience, 29 Annual Meeting for Neuroscience(October 23-28).

Sandor, N., Zelles, T., Kiss, J., Seshen, H., Torocsik, A., Lajtha, A., & Vizi, E. (1991). Effect of nicotine on dopaminergic-cholinergic interaction in the striatum. Brain Res, 567(2), 313-6.

Sara, G., Gordon, E., Kraiuhin, C., Coyle, S., Howson, A., & Meares, R. (1994). The P300 ERP component: an index of cognitive dysfunction in depression? J Affect Disord, 31(1), 29-38.

Sara, S., & Segal, M. (1991). Plasticity of sensory responses of locus coeruleus neurons in behaving rat: implications for cognition. Prog Brain Res, 88, 571-585.

Shaw, G., Harper, M., Hahn, B., Epstein, L., Gajdusek, D., Price, R., Navia, B., Petito, C., O'Hara, C., Groopman, J., Cho, E., Oleske, J., Wong-Staal, M., & Gallo, R. (1985). HTLV-III infection in brains of children and adults with AIDS encephalopathy. Science, 227, 177-182.

Siddle, D., Lipp, O., & Dall, P. (1997). The effect of unconditional stimulus modality and intensity on blink startle and electrodermal responses. Psychophysiology, 34, 406-413.

Siegel, J. (2000). Brainstem mechanisms generating REM sleep. In M. Kryger, T. Roth, & W. Dement (Eds.), Sleep Medicine, (pp. 112-133). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Smith, M., Halgren, E., Sokolin, M., Baudena, P., Musolino, A., Liegeois-Chauvel, C., & Chauvel, P. (1990). The intracranial topography of the P3 event related potential elicited during auditory oddball. Electroencephalogr Clin Neurophysiology, 38, 387-401.

Soto-Ramirez L. (2000) Fisiopatología y tratamiento del síndrome de inmunodeficiencia humana. *Revista de investigación clínica*, 52(1), 60-71.

Squires, N., Squires, K., & Hillyard, S. (1975). Two varieties of long latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 38(4), 387-401.

Steriade, M. (2000). Brain electrical activity and sensory processing during waking and sleep states. In M. Kryger, T. Roth, & W. Dement (Eds.), *Sleep Medicine*, (pp. 93-111). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Sutton, S., Braresn, M., Zubin, J., & John, E. (1965). Evoked potential correlates of stimulus uncertainty. *Science*, 150, 1187-1188.

Swick, D., Pineda, J., Schacher, S., & Foote, S. (1994). Locus Coeruleus neuronal activity in awake monkeys: relationship to auditory p300 like potentials and spontaneous EEG. *Exp Brain Res*, 101, 86-92.

Szelies, B., Mielke, R., Grond, M., & Heiss, W. (1995). P300 in Alzheimer's disease: relationships to dementia severity and glucose metabolism. *J Neurol Sci*, 130(1), 77-81.

Tarkka, I. M., Micheloyannis, S., & Stokic, D. S. (1996). Generators for human P300 elicited by somatosensory stimuli using multiple dipole source analysis. *Neuroscience*, 75, 275-287.

Tarkka, I. M., Stokic, D. S., Basile, L. F. H., & Papanicolaou, A. C. (1995). Electric source localization of the auditory P300 agrees with magnetic source localization. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 96, 538-545.

Toggas, S., Masliah, E., Rockenstein, E., Rall, G., & Mucke, C. A. L. (1994). Central nervous system damage produced by expression of the HIV-1 coat protein gp120 in transgenic mice. *Nature*, 367, 188-193.

Turetsky, B., Colbath, E., & Gur, P. (1998). P300 subcomponent abnormalities in schizophrenia. II Longitudinal stability and relationship to symptom change. *Biol Psychiatry*, 43(1), 31-39.

Turner, B., & Summers, M. (1999). Structural Biology of HIV. *J. Mol. Biol.*, 285(1), 1-32.

Vandoolaeghe, E., Hunsel, F. V., Nuyten, D., & Maes, M. (1998). Auditory event related potentials in major depression: prolonged P300 latency and increased P200 amplitude. *J. Affect. Disord.*, 48, 105-113.

Vesce, S., Bezzi, P., Rossi, D., Meldolesi, J., & Volterra, A. (1997). HIV-1 gp120 glycoprotein affects the astrocyte control of extracellular glutamate by both inhibiting the uptake and stimulating the release of the amino acid. *FEBS Letters*, 41, 107-109.

Wang, Y., Nakashima, K., Shiraishi, Y., Kawai, Y., Ohama, E., & Takahashi, K. (1997). P300 like potential disappears in rabbits with lesions in the nucleus basalis of Meynert. *Expl Brain Res*, 114, 288-292.

Wang, Y. P., Kawai, K., & Nakashima, K. (1999). Rabbit P300 like potential depends on cortical muscarinic receptor activation. *Neuroscience*, 89(2), 423-427.

Weinberger, N. (1998). Tuning the brain by learning and by stimulation of the nucleus basalis. *Trends in Cognitive Sciences*, 2(8), 271-273.

Wilder, M. B., Farley, G. R., & Starr, A. (1981). Endogenous late positive component of the evoked potential in cats corresponding to P300 in humans. Science, 211, 605-607.

Wiley, C., Schrier, R., Richmann, D., Nelson, J., Lambert, P., & Oldstone, M. (1986). Cellular localization of human immunodeficiency virus infection within the brains of acquired immune deficiency syndrome patients. Proc. Natl. Acad. Sci., 83, 7089-7093.

Wiley, C. A. (1995). Quantitative neuropathologic assessment of HIV-encephalitis. In M. B. A. Oldstone & L. Vitkovic (Eds.), HIV and Dementia. New York: Springer.

Woods, D., Knight, R., & Scabini, D. (1993). Anatomical substrates of auditory selective attention: behavioral and electrophysiological effects of posterior association cortex lesions. Cognitive Brain Research, 1, 227-240.

Wu, P., Price, P., Du, B., Hatch, W., & Terwilliger, E. (1996). Direct cytotoxicity of HIV-1 envelope protein gp120 on human NT neurons. Neuroreport, 7(5), 1045-1049.

Yamaguchi, S., Globus, H., & Knight, R. T. (1993). P3 like potential in rats. Electroencephalography and clinical Neurophysiology, 88, 151-154.

Yamaguchi, S., & Knight, R. (1991). Anterior and posterior association cortex contributions to the somatosensory P300. The Journal of Neuroscience, 11(7), 2039-2054.

Yu, H., Matsubayashi, H., Amano, T., Cai, J., & Sasa, M. (2000). Activation by nicotine of striatal neurons receiving excitatory input from the substantia nigra via dopamine release. Brain Res, 872, 223-6.

ACTUALIZACION POR TEMAS

Atención: la compuerta a la conciencia

Oscar Galicia*,**
Simón Brailowsky***

Summary

Attention is a term designating a highly complex cognitive process whose deficit substantially alters the individual's ability to adapt himself to his environment at the emotional, social and intellectual level. The study of the brain processes for selecting environmental stimuli will help to understand and define some clinical manifestations in several neuropsychiatric illnesses. Attention itself is a process difficult to be defined in conceptual or operational terms. However several theories have attempted to do it. Most of them agree that the individual's capacity to analyze the environmental stimuli is limited. As a result of this limitation, low relevant stimuli have to be filtered out. However, the anatomo functional brain structure (s) is difficult to locate, therefore, it is still in debate if the filter is central or peripheral. In this brief review we attempt to present the state of the relevant literature on this subject and critically analyze the electrophysiological findings in the context of the psychological models.

Key words: Attention, startle reflex, neurotransmission, event related potentials, P300.

Resumen

La atención es un proceso cognoscitivo de alto orden cuyo déficit modifica de manera importante las estrategias adaptativas del individuo en el aspecto intelectual, social y emocional. El conocimiento de los mecanismos que subyacen a la selección y procesamiento de los estímulos ambientales, podría explicar algunas manifestaciones clínicas que se observan en algunos padecimientos neuropsiquiátricos. La atención es un proceso que es difícil definir en términos conceptuales e incluso operacionales. Sin embargo, se han propuesto diversas teorías para explicar dicho proceso. La mayoría de ellas coincide en que los individuos tienen una capacidad limitada para analizar los estímulos del medio, por lo que en algún momento los estímulos poco relevantes se deben filtrar. La ubicación de dicho filtro en el sistema nervioso es aún tema de debate ya que es difícil ubicar anatómicamente este

filtro a nivel periférico o central. En el presente trabajo se hace una revisión crítica de la bibliografía relevante acerca de las teorías que apoyan una u otra visión; asimismo, se presenta una panorámica general de los avances en los estudios conductuales y electrofisiológicos que subyacen al proceso de atención.

Palabras clave: Atención, reflejo de orientación, neurotransmisión, potenciales evocados, P300

Introducción

La mayoría de los lectores estará de acuerdo en que la atención es una conducta crucial para llevar cabo la mayoría de las experiencias intelectuales, y para llevar a cabo los procesos de aprendizaje y memoria. Por lo mismo, los déficits de atención influyen de manera importante en la conducta, el desarrollo académico y la vida social y emocional de los individuos. Las alteraciones de la atención pueden observarse desde los trastornos neuropsiquiátricos de las poblaciones infantiles hasta las geriátricas. Las etiologías son de carácter diverso incluyendo factores tales como la falta de desarrollo del sistema nervioso, traumatismos craneoencefálicos, accidentes vasculares, trastornos neurodegenerativos y psiquiátricos, abuso de sustancias de adicción, como el alcohol y la marihuana, entre otras. Una vez que los procesos de atención han sido dañados, el individuo parece perder contacto con su mundo, pierda conciencia de él. De allí que creamos que la atención es la compuerta que tienen que atravesar los estímulos para llegar a la conciencia.

No obstante la variedad de los factores etiológicos que subyacen a los trastornos de la atención, se ha mostrado que la mayoría de ellos incide sobre algunas estructuras del sistema nervioso, alterando así los sistemas de neurotransmisión y algunas respuestas electrofisiológicas. Sabemos que estas estructuras cerebrales no sólo se encuentran implicadas en el funcionamiento del proceso, sino que las alteraciones pueden reflejar la serie de manifestaciones conductuales relacionadas con los déficits de atención.

*Laboratorio de Neuroinfecciones. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM. A.P 70-250. México, D.F.

**Departamento de Procesos Básicos, Facultad de Psicología, UNAM A.P 70-250. México, D.F.

*** (In Memoriam) Laboratorio de Neurofarmacología. Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. A.P 70-250. México, D.F.

A pesar de la importancia que tiene estudiar el proceso de la atención para comprender algunos trastornos neuropsiquiátricos, los mecanismos mediante los cuales los sujetos seleccionan los estímulos medioambientales y actúan en consecuencia, se encuentran poco estudiados.

Por ser la atención un proceso cognoscitivo crucial, es necesario saber en qué estado se encuentra su estudio para seleccionar las mejores estrategias para ampliarlo.

La presente revisión pretende mostrar brevemente algunas de las teorías que se han propuesto para explicar los procesos que subyacen a la selección de estímulos ambientales; asimismo, para detallar las manifestaciones conductuales de la atención, los sistemas de neurotransmisión y las respuestas electrofisiológicas implicadas en el proceso de atención.

Una definición

A diferencia de otros procesos en los que se pueden observar de manera más o menos clara las manifestaciones conductuales reguladas por un mecanismo central, la atención es un proceso neurofisiológico elusivo, por lo que resulta difícil definirla en términos conceptuales y, aún más, en términos operacionales. Esta dificultad radica en que la atención es un constructo psicológico que no sólo incluye el estado de alerta (*arousal*), la atención selectiva y la intención motora (11), sino además los estados emocionales y la experiencia anterior. Además, las características físicas de los estímulos pueden modificar la forma en que percibimos y seleccionamos tanto los estímulos externos como internos. Por todo lo anterior, es difícil generar una definición que abarque todos estos factores, mientras que, por otro lado, una definición muy general resulta deficiente e inadecuada para explicar lo selectivo que es el proceso de atención.

Un factor común de la mayoría de las definiciones es asumir que el sistema posee una capacidad limitada de procesamiento y que, por tal razón, resulta indispensable un filtro o un seleccionador de la información que va a ser procesada. Por ejemplo, el pionero de la psicología experimental, William James, diría en relación con la atención:

Todo el mundo sabe qué es la atención. Es eso que toma posesión de la mente en una forma clara y vívida, seleccionando de los varios objetos simultáneos o trenes de pensamiento. La focalización y la concentración de la conciencia son su esencia. Esto implica abstenerse de algunas cosas para tratar efectivamente con otras, y es una condición de verdadera oposición a los estados de confusión y de aturdimiento (17).

James diferenciaba entre dos variedades de atención; la pasiva y la activa. La atención pasiva implica la reacción de orientarse a un estímulo novedoso inesperado; mientras que la atención activa implica el examen dirigido a un mensaje sensorial esperado.

Esta definición de William James fue retomada recientemente por David Woods (56), quien definió la atención como aquel proceso que se refiere a la *detección preferencial*, a la *identificación* y al *reconocimiento*

de un estímulo selectivo. Como puede verse, la definición de W. James es aun de actualidad. Sin embargo, la atención se considera, en general, como una función del sistema nervioso central que permite que las respuestas perceptuales o motoras se dirijan selectivamente a un aspecto o a una configuración de estímulos con preferencia a otros. Los mensajes "irrelevantes" son parcial o completamente rechazados de la experiencia perceptual y del control de la conducta. Por virtud de su influencia selectiva sobre el procesamiento sensorial, el proceso de atención debe poderse distinguir de la activación generalizada, del alertaamiento, de la movilización, y de la excitabilidad, las cuales ejercen una influencia facilitadora más general en el procesamiento sensorial y afectan un gran número de estímulos de manera no selectiva (38).

Las primeras investigaciones

Aunque el concepto de atención ha ocupado la mente de filósofos y psicólogos por muchos años, no fue sino hasta finales de la década de los años cincuenta cuando se empezó a investigar sistemáticamente la conducta atenta. Durante la primera mitad de este siglo, el movimiento conductista de América, encabezado por Watson, Holt, Weiss y algunos otros, rechazaron la idea de las descripciones subjetivas de la experiencia y abandonaron el uso de los conceptos de atención y de conciencia.

Otra importante razón de la psicología por la que se descuidó la atención fue el largo dominio de la psicología de la Gestalt y su gran influencia en el pensamiento contemporáneo. Los psicólogos de la Gestalt enfatizaban sus leyes gestálticas intrínsecas como determinantes centrales de nuestros preceptos y, por supuesto, la atención no tenía ningún papel en la organización perceptual.

Sin embargo, el advenimiento de la Segunda Guerra Mundial, junto con el desarrollo tecnológico producto de ésta, fomentó la investigación para dar respuestas a algunos problemas prácticos que surgieron durante el conflicto.

Los primeros estudios realizados por Hick, Hayman y Davis en la década de los años cincuenta mostraron que la capacidad de los seres humanos para manejar la información y tomar decisiones sobre las alternativas que tienen es limitada. Para funcionar efectivamente y evitar sobrecargar nuestra limitada capacidad de procesamiento, nos vemos forzados a elegir entre una variedad de estímulos competentes que alcanzan a nuestros receptores (29).

En 1953, Cherry (9) llevó a cabo varios experimentos en los que les transmitía a sus sujetos un mensaje por un oído pidiéndoles que lo repitieran palabra por palabra, mientras que por el otro les daba otro mensaje irrelevante. El mensaje irrelevante se cambió de varias maneras, por ejemplo a otro idioma (de inglés a alemán), o se daba el mismo mensaje pero con una voz femenina si la primera vez lo había transmitido una voz masculina. También se transmitían tonos puros o el mensaje al revés. Después de la sesión se le preguntaba a los sujetos el mensaje irrelevante y todos pudie-

ron notar el cambio de palabras a tonos puros y también el cambio de voz; sin embargo, no pudieron identificar el idioma ni el contenido del mensaje, y muchos de ellos no notaron nada raro en el mensaje transmitido al revés. Si bien es cierto que el procesamiento disminuyó en el canal no atendido, éste no estuvo totalmente bloqueado ya que el sujeto pudo darse cuenta de algunos de los cambios.

Los modelos psicológicos se basan en la existencia de un filtro

En 1958, Broadbent resumió en su teoría del "Filtro" el resultado de un buen número de investigaciones con el paradigma de "escucha dicótica". En ella asume que cuando varios mensajes alcanzan los sentidos, éstos son procesados paralelamente y convergen posteriormente en un canal perceptual o de decisión que posee una capacidad limitada; éste filtra los mensajes irrelevantes antes de que alcancen niveles superiores de procesamiento. De esta forma, sólo una limitada cantidad de señales puede ser identificada y almacenada en la memoria a largo plazo (figura 1). En el modelo original de Broadbent, el filtro selectivo se encuentra ubicado de manera periférica bloqueando los mensajes sensoriales (34,37,50).

El trabajo experimental de Broadbent lo llevó a observar que el número de estímulos a los cuales podemos responder en algún momento se encuentra determinado por la cantidad de información que contengan estos estímulos. En otras palabras, se pueden manejar datos de un grupo de más a la vez, siempre y cuando la demanda de información de cada tarea sea pequeña.

En una formulación posterior de su teoría, Broadbent distinguió entre dos maneras fundamentales de seleccionar los estímulos, denominándolos *stimulus-set* y *response set*. La atención tipo *stimulus-set* actúa por el bloqueo selectivo o la atenuación de algunos canales sensoriales más que de otros. El canal puede ser definido como una categoría del estímulo que posee un solo atributo (por ejemplo tono, color, posición espacial) o que ocurre sobre o contiguo a la superficie de un receptor (un oído o un *locus* retinal). El modo *response-set* opera después de este atenuador e implica la comparación serial de los patrones de los estímulos más o menos analizados, con un *set* de representaciones de memoria ("categorías" o "unidades de diccionario") para el estímulo seleccionado. La coincidencia del estímulo con la unidad de memoria lleva al reconocimiento y a una respuesta selectiva (37).

Por otra parte, Treisman resume una serie de experimentos en su modelo de búsqueda visual. En él retoma el modelo de Broadbent, ubicando el filtro selectivo a nivel más central, permitiendo algunos análisis perceptuales (pero no un análisis de contenido verbal) (51).

En este modelo propone que un estímulo registrado en el área V1 (corteza visual primaria) es separado en sus componentes. Entonces esta información es serialmente procesada en vías paralelas (por ejemplo en las áreas visuales V3, V4 y V5). Todas las características son unidas o integradas y en algún lugar del procesamiento posterior (24,50,51) (figura 2).

En contraste con Broadbent y Treisman, algunos autores, como Selfridge y Deutsch, proponen que todas las entradas sensoriales son totalmente analizadas por contenido y significancia antes de que se lleve a cabo cualquier selección (Citado en 37).

Algunos autores, como Sokolov, apoyan esta concepción centralista y analítica del procesamiento de la información. Mediante sus estudios sobre el reflejo de orientación propone que la atención es dirigida por mecanismos de amplificación, los cuales, se asume, operan en la formación reticular cerebral (figura 3). Sin embargo, la atención también puede verse gobernada por un "mecanismo de modelamiento" en la corteza cerebral, el cual analiza las entradas sensoriales y las compara con un registro neural permanente de las entradas anteriores. Los estímulos viajan por vías separadas a la corteza cerebral (vía 1) y a la formación reticular (vía 2). Si el estímulo que llega concuerda con algún modelo ya existente (esto es, un estímulo familiar), la corteza manda un mensaje inhibitorio (por la vía 3) que bloquea la recepción del estímulo en la formación reticular.

Cuando el estímulo que llega no concuerda con ningún modelo existente que tenga las características de dicho estímulo (i.e. que sea novedoso), la corteza permite que la formación reticular produzca una respuesta de orientación (por la vía 7).

Sokolov no describe la función de la vía 5 ni de la 6 pero se ha sugerido que la vía 5 posiblemente facilite el reflejo de orientación a un estímulo, que aunque concuerde con modelos existentes, tenga un significado personal especial para el individuo. La vía 4 representa la habilidad de la formación reticular para activar a la corteza, lo cual se ilustra por los cambios del EEG que ocurren cuando la atención es dirigida a un estímulo (34).

Bajo circunstancias normales, las estrategias de atención de los seres humanos requieren de la interacción de ambos modos de atención. Por ejemplo, si tomamos el ya famoso efecto de *cocktail party** de Cherry, es necesario establecer un *stimulus-set* que favorezca la posición y el tono de la voz del que nos está hablando y la cual atendemos, junto con una sucesión de *response sets* para reconocer la secuencia de palabras que estamos escuchando.

Sin embargo, en esta situación, cuando los mecanismos *stimulus-set* dirigen la atención a un canal, un *response set* altamente "cargado de significado" (por ejemplo, nuestro nombre) puede permitir reconocer estos estímulos por un canal diferente (37).

El debate sobre el filtrado temprano o tardío de los estímulos continúa hasta nuestros días. Hay pruebas

* En un interesante ejemplo Cherry nos ubica en una reunión (cocktail party) en donde hay una gran cantidad de estímulos visuales y auditivos (otros invitados y otras conversaciones). De entre toda esta gama de estímulos, nosotros no escuchamos las conversaciones de los otros invitados y nos limitamos a escuchar y a observar a la persona con la que platicamos. Sin embargo, si en medio del ruido de fondo escuchamos nuestro nombre, de inmediato surgirá una respuesta de orientación en la dirección de donde proviene el sonido, de tal forma que aunque se favorezca la entrada sensorial por los canales atendidos, esto no implica que otra señal que no se genere en estos canales no pueda ser atendida, si las características de ésta son relevantes para el individuo.

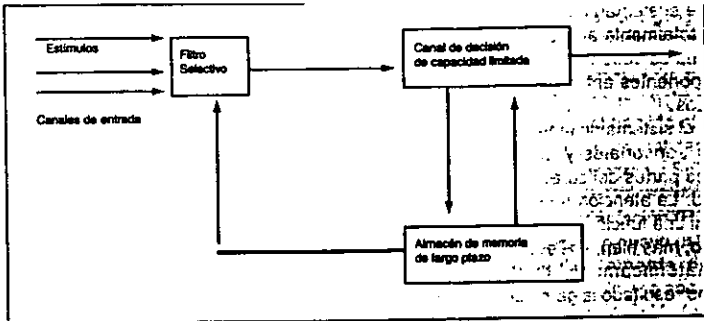


Figura 1. Esquema que resume la Teoría del Filtro, de Broadbent.

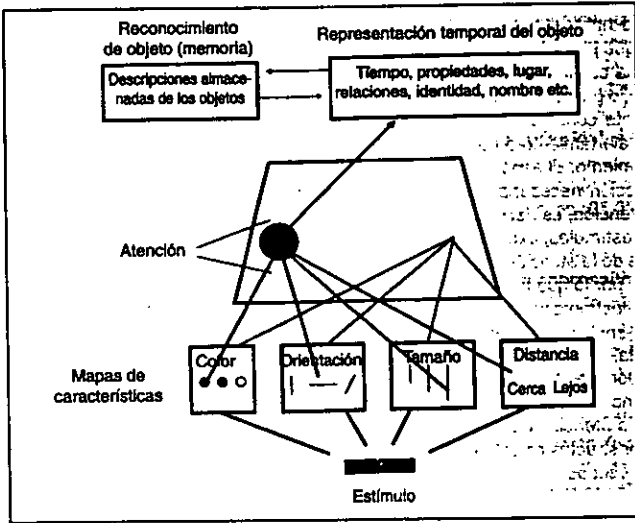


Figura 2. Modelo de Treisman de búsqueda visual, en el que propone que la visión codifica para algunas propiedades útiles y simples de la escena, las cuales pueden preservar las relaciones espaciales del mundo visual. Por medio de la representación de las características físicas del estímulo, el foco de atención, selecciona e integra las características del estímulo de una ubicación particular, favoreciendo su análisis sobre el de otros estímulos (modificada de Kolb, 24).

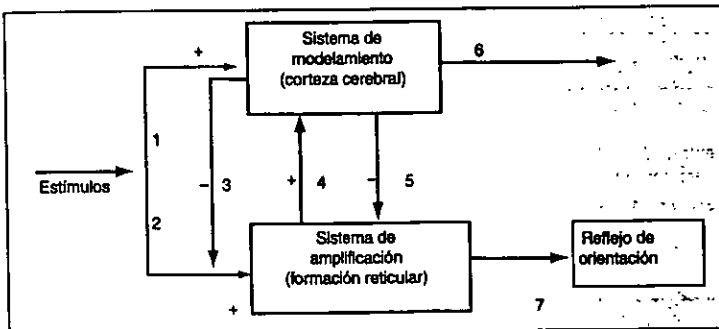


Figura 3. Representación esquemática de la respuesta de orientación de Sokolov (explicada en el texto). Los signos +, -, . representan activación, inhibición y modulación, respectivamente (modificada de McGhie, 31).

experimentales que sustentan ambas posiciones que, por cierto, no son totalmente antagónicas: ambas señalan que los estímulos deben ser totalmente reconocidos en sus componentes antes de ser rechazados, filtrados o atenuados.

En este sentido, el sistema de atención es semejante a los sistemas sensoriales y motores. Esto es, interactúa con otras partes del cerebro pero mantiene su propia identidad. La atención no es una propiedad de un solo centro ni una función del cerebro que opera como un todo, si no, más bien, se lleva a cabo por una red de áreas anatómicamente asociadas, cuya interacción da como resultado la gama de operaciones cognitivas consideradas como la atención (40).

Substratos anatomofuncionales de la atención

Tradicionalmente se ha aceptado que la atención implica dos variables que pueden ser consideradas independientemente; una cualitativa y otra cuantitativa. El aspecto cuantitativo, o grado de "alertamiento o vigilancia", está usualmente considerado en relación directa con el grado de alertamiento o de activación de los sistemas de alertamiento. El aspecto cualitativo se relaciona con la selección necesaria que subyace a cualquier estado de atención, es decir, a la relativa ignorancia de todos los estímulos, excepto de uno (3).

Las manifestaciones de la atención dependen de las demandas de la tarea, por lo que hay varias condiciones conductuales que ilustran diferentes manifestaciones de la atención. El simple alertamiento, el reflejo de orientación, la vigilancia, la atención selectiva, la atención dividida, la atención sostenida, el esfuerzo para poner atención, la intención y la atención dirigida, son partes del proceso de la atención que muestra que en éste, como en otros constructos psicológicos, es posible hablar de varios procesos. A continuación trataremos algunos de ellos.

Arousal (alertamiento)

Podríamos ver esta conducta como un continuo estado de actividad. Las condiciones de sueño y de excitación pueden representar los extremos de este continuo, los cuales reflejan la capacidad del organismo para responder a los estímulos del medio. El alertamiento está relacionado con el proceso de atención debido a que las condiciones de hiper o hipoalertamiento tienden a impedir dicho proceso, de tal forma que las relaciones entre la ejecución y el alertamiento de los sujetos describe una curva "U" invertida, en la que la ejecución es óptima a los niveles medios de alertamiento, y disminuye en los extremos de la curva en condiciones de mucho o poco alertamiento (6).

El alertamiento se ha definido como una respuesta de orientación relacionada con varios correlatos fisiológicos; se presenta un cambio en el estado del sujeto (p.e. de dormido a despierto), se incrementa el tono muscular, ocurren cambios autonómicos (dilatación pupilar, vasoconstricción periférica o dilatación y alteraciones en el ritmo cardíaco y en la respiración). En los estados de hipoalertamiento, el EEG se lentifica y la reactividad autonómica se reduce, mientras que en

los estados de hiperalertamiento, el EEG muestra una actividad asincrónica de alta frecuencia y la mayoría de las medidas autonómicas se encuentran elevadas. Estos cambios son independientes de la conducta evocada por el estímulo y de la estrategia que se exhiba como una respuesta (6,11).

En 1949, los experimentos clásicos de Moruzzi y Magoun mostraron que la estimulación eléctrica de la formación reticular del mesencéfalo podía evocar una desincronización del EEG, similar a la que ocurre durante el alertamiento natural, mientras que las lesiones bilaterales de la formación reticular mesencefálica producían un estado de coma irreversible. Esta fue la primera demostración de que una área no específica del cerebro podía afectar la manera en que el cerebro interactúa con su medio. Estos resultados se utilizaron tanto para explicar el alertamiento como los estados de vigilia (11).

Los trabajos de Moruzzi y Magoun dieron pie a que en 1951, Lindsley propusiera la llamada teoría de la activación. Esta propone que la corteza es activada por la descarga proveniente de centros inferiores, como el tálamo, el hipotálamo y la formación reticular, de tal forma que cuando el nivel de descarga es bajo, el sujeto se encuentra dormido o somnoliento, por lo que su nivel de activación es bajo.

El otro extremo del continuo se caracteriza por la emoción extrema, como en los estados de terror o de rabia, por lo que representa un nivel alto de activación. En esta teoría está implícita la idea de que el estímulo aumenta el nivel de activación. Esta activación, a su vez, suministra al organismo una mayor capacidad para reaccionar apropiadamente (26).

Desde que se postuló, la teoría de la activación, ésta ha recibido importantes críticas; por ejemplo, la actividad rápida de bajo voltaje es característica del estado de vigilia (19). Sin embargo, se ha encontrado esta actividad incluso en estados de coma (44). De igual forma, algunas drogas, como la atropina, lentifican la actividad del EEG sin un efecto aparente en la conducta (53). Es decir, podemos encontrar disociaciones electro-clínicas que impiden sostener que los cambios electroencefalográficos sean indicadores inequívocos de un determinado estado de alerta.

Los sistemas del proceso de alerta

Actualmente se sabe que la formación reticular aloja los cuerpos celulares que dan origen a la inervación colinérgica y monoaminérgica del cerebro, los cuales, según se ha demostrado, modulan en diferente medida el estado de alerta.

Por ejemplo, el complejo de los núcleos pedúnculo pontinos y laterodorsal tegmental (PPT/DT) del tallo cerebral contiene neuronas colinérgicas que se proyectan difusamente a una variedad de estructuras, incluyendo, notablemente, la corteza prefrontal, el tálamo y la sustancia nigra. La actividad de estas células está particularmente influida por estímulos visuales condicionados, por la presentación de reforzadores y por estímulos aversivos. Por otra parte, se ha observado que la microinyección de carbacol (un agonista colinérgico) en el núcleo parabraquial (llamado así por

estar junto a *brachium conjunctivum*) del gato induce de manera inmediata la presentación de espigas ponto genículo occipitales (PGO) e incrementa notablemente el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (7,40).

La estimulación del sistema reticular activador no sólo induce una respuesta de alertamiento, sino que también incrementa la liberación de acetilcolina en la neocorteza. Asimismo, los agonistas colinérgicos inducen la desincronización cortical, mientras que los antagonistas la bloquean (11).

El *locus coeruleus* se localiza en la cara dorsal del puente y está constituido por cuerpos celulares exclusivamente noradrenérgicos. Este núcleo se proyecta profusa y difusamente al telencéfalo, particularmente a la corteza, y también al bulbo olfatorio, al hipotálamo, al hipocampo, al *tectum*, al tálamo, al cerebelo y a la médula espinal. Las neuronas del *locus coeruleus* se activan ante los estímulos sensoriales novedosos, por lo que se le ha implicado en la respuesta de alertamiento así como en las tareas de vigilancia (1,40,41).

El más extenso sistema de neurotransmisión aminérgica del tallo cerebral es el sistema serotoninérgico, el cual tiene su origen en los núcleos del rafe, y cuyas proyecciones incluyen la corteza cerebral, el estriado, las estructuras límbicas, el tubérculo olfatorio, el hipocampo y el diencefalo (41). Los registros de la actividad unitaria de las células del rafe han mostrado cambios en su frecuencia de disparo dependientes de los estados alternos de sueño-vigilia (40).

Finalmente, el sistema dopaminérgico no ha mostrado ninguna actividad relacionada con el ciclo sueño-vigilia ni con la actividad circádica; sin embargo, interviene notablemente en los procesos relacionados con el reforzamiento (27,40). Aunque el sistema dopaminérgico puede ser crítico para los sistemas intencionales del cerebro, la dopamina y la serotonina no parecen ser transmisores importantes en los sistemas neurales que median el alertamiento, debido a que el bloqueo de la síntesis y de los receptores de ambos no parece afectar la desincronización del EEG (11).

Reflejo de orientación

El reflejo de orientación se refiere a esa conducta automática que expresamos como respuesta a un estímulo súbito, que de pronto se hace conspicuo en el medio que nos rodea.

Ivan Pavlov fue uno de los primeros investigadores que observó el reflejo de orientación, que en un primer momento llamó reflejo "investigatorio" o reflejo ¿"qué es esto"? En 1927 escribió en relación con éste:

Este reflejo es el que lleva a cabo las respuestas inmediatas de los hombres y de los animales a los pequeños cambios que ocurren en el mundo que los rodea; tanto, que pueden orientar inmediatamente el órgano receptor apropiado de acuerdo con la cualidad perceptible del agente que causó el cambio, haciendo una investigación completa acerca de éste. La importancia biológica de este reflejo es obvia. Si un animal no estuviera provisto de dicho reflejo, su vida pendería de un hilo a cada momento. Este reflejo ha sido enormemente desarrollado en el hombre, con resultados de gran alcance, como su alto grado de curio-

sidad, que es el padre del método científico por medio del cual esperamos comenzar algún día a orientarnos verdaderamente en el conocimiento del mundo que nos rodea (citado en 26).

Ahora este reflejo es normalmente llamado "reflejo de orientación", el cual ha sido el foco de atención de un buen número de personalidades científicas de la extinta URSS, como Razran y Sokolov, por mencionar a algunos.

La respuesta de orientación (RO) marca la reacción inicial de un animal a un nuevo estímulo. Esta reacción ocurre independientemente de las propiedades reforzadoras del estímulo y se encuentra poderosamente relacionada con la Intensidad y los atributos físicos de la señal (6).

El reflejo de orientación se manifiesta por una serie de reacciones electrofisiológicas, vasculares y motoras evidentes que aparecen cuando en el lugar que circunda al sujeto surge algo insólito o inesperado. Entre dichas reacciones figuran la orientación de los sentidos hacia donde se halla el nuevo objeto, el aumento del tono muscular, la depresión del ritmo alfa, la desaparición de las ondas lentas en el EEG; se dilatan los vasos del músculo y aparece taquicardia seguida de bradicardia. Se suspende cualquier acción que se estuviera llevando a cabo (26,29).

Si el estímulo novedoso es muy poderoso, la respuesta toma la forma de una respuesta de sobresalto. La respuesta de sobresalto es la típica respuesta conductual que exhibimos cuando algo nos asusta. No hay diferencias cualitativas entre el reflejo de orientación y la respuesta de sobresalto. Si el estímulo es demasiado fuerte, se produce la respuesta de sobresalto la cual incorpora una marcada respuesta de orientación; si es débil, entonces sólo se presenta el reflejo de orientación. La respuesta de sobresalto es muy rápida, mientras que la respuesta de orientación es menos rápida y puede continuar por algún tiempo.

Näätänen (34) propone que el patrón de efectos fisiológicos, conocido como reflejo de orientación, puede separarse en dos componentes, uno controlado por los efectos energéticos (alertamiento o *arousal*) y otro por el aspecto informativo o de atención de la función cerebral.

1. Uno de los componentes de la respuesta de orientación consiste en los efectos relacionados con el alertamiento, los cuales facilitan las funciones sensoriales y motoras así como su integración central. Todas estas respuestas pueden considerarse como resultado de la súbita activación reticular y talámica no específica.
2. El componente de orientación o informativo de la respuesta de orientación, consiste en un tipo de interruptor del reflejo de la atención, producido por el estímulo, así como los efectos corporales que se asocian específicamente con el interruptor atencional.

Por otra parte, se distinguen dos tipos de propiedades de los estímulos que afectan la respuesta de orientación. El primer tipo de estímulo varía en relación con las características físicas, tales como la brillantez, la matriz y el contorno; el segundo tipo varía en relación

con sus características notables, tales como su complejidad, su importancia o lo novedoso que sea.

Sokolov postula que la incongruencia entre el estímulo que llega y el molde o memoria neuronal creada por el estímulo anterior, es la base de la RO (véase el modelo neuronal descrito previamente). La incongruencia que ocurre cuando se presenta esta desigualdad entre el nuevo estímulo y el anterior está determinada por la novedad del primero. Por tanto, la novedad refleja las diferencias entre el nuevo estímulo relativo al entorno ambiental y las memorias del estímulo anterior (6).

De igual forma, la información contenida en el estímulo (la complejidad) modifica la RO. En una serie de estudios realizados por Fantz, se observó que los sujetos preferían responder a patrones de varios colores más que a estímulos constituidos por parches de color homogéneo; a arreglos visuales aleatorios, más que a arreglos ordenados; a diseños curvilíneos, más que a diseños lineales; a figuras en tres dimensiones, más que a figuras en dos dimensiones, habiendo, además, una tendencia natural a responder a las formas de la cara humana que a las figuras geométricas. Sin embargo, la respuesta a las caras humanas sugiere que la complejidad puede ser menos crítica que la saliencia del estímulo (6).

La incertidumbre sobre la aparición del estímulo determina, en gran medida, la respuesta de orientación: mientras más inesperado o improbable sea el estímulo, mayor será la respuesta de orientación. De igual forma, si el estímulo se repite de manera constante o se le esperaba, la respuesta de orientación disminuye. De hecho, este último punto es de extrema importancia, ya que una de las características más importantes del reflejo de orientación es la habituación. Esto es, la aparición repetida del mismo estímulo sin que traiga consigo ninguna información adicional, produce que el sujeto deje de presentar la respuesta de orientación.

La habituación a los estímulos irrelevantes es importante biológicamente, debido a la limitada capacidad de procesamiento de información del sistema. Para Sokolov, si el estímulo concuerda con el modelo neural dejado por el estímulo anterior, da como resultado la habituación a este estímulo. La habituación se considera como una función inhibitoria del sistema que forma el modelo neural sobre un sistema de amplificación. Sin la influencia inhibitoria del sistema de formación del modelo neural, el segundo sistema puede servir como base para el sistema de amplificación del alertamiento.

El circuito neural propuesto por Sokolov incluye la formación reticular, que se inhibe cuando se presentan semejanzas entre el nuevo estímulo y el modelo existente. El mecanismo neural responsable de esta inhibición se encuentra mediado por la actividad de las células hipocámpicas. La mayoría de las células del hipocampo responden a cualquier estímulo; esta respuesta disminuye con la estimulación repetida. La representación del estímulo relacionada con las exposiciones pasadas modifica las respuestas características del hipocampo. Las células del hipocampo reducen la frecuencia de su disparo por la inhibición ejercida por las interneuronas colaterales cuya respuesta es potenciada por la presentación repetida del estímulo (6).

Características electrofisiológicas

Los estudios clásicos de Raúl Hernández-Peón ya habían mostrado una disminución de la señales aferentes a nivel de la primera sinapsis sensorial cuando el sujeto deja de prestar atención. Por ejemplo, él registró la respuesta evocada por un estímulo auditivo en el núcleo coclear de un gato en reposo. Una vez establecida la línea basal, le presentó al gato unos ratones que no podía alcanzar pero sí ver (estímulo distractor). Mientras el gato observaba a los ratones, los potenciales evocados cocleares se redujeron significativamente; una vez retirados los ratones de la caja, los potenciales auditivos volvieron a los valores de la línea basal (12). Estos resultados se hicieron extensivos a otras modalidades sensoriales, como la visual y la somatosensorial.

De igual forma, Hernández-Peón observó esta inhibición en los seres humanos mientras solucionaban un problema aritmético. Sus resultados muestran una gran reducción de la respuesta sensorial ocular durante la ejecución del problema, que desapareció en cuanto los sujetos resolvieron la tarea. Asimismo, esta reducción se encuentra en función de la complejidad de la tarea aritmética: si ésta es muy compleja, la inhibición es casi completa, mientras que si es simple, no se observa ninguna inhibición.

Hernández-Peón concluyó que los impulsos se bloquean a bajos niveles de la vía sensorial cuando la atención se centra en un estímulo de diferente modalidad sensorial más significativo que el estímulo prueba. Estos mecanismos son ejercidos por la formación reticular. Hernández-Peón llamó a este mecanismo "control central de las aferencias sensoriales". Estos mecanismos inhibitorios selectivos pueden funcionar cuando la atención se centra en otro estímulo de la misma modalidad o, incluso, cuando la atención se centra en algún elemento interno, como la solución de problemas.

Los potenciales relacionados con sucesos

Algunos trabajos realizados por Butler y cols. (4), en los que registraron los potenciales evocados auditivos, apoyan los resultados descritos por Hernández-Peón. En estos trabajos se estimulaba el oído izquierdo con un tono de 1 kHz cada 5 segundos, mientras que presentaban un estímulo interferente de las mismas características (a) en el oído derecho, (b) en ambos oídos, (c) en el oído izquierdo. Sus resultados indican que el estímulo interferente en el oído derecho produce una disminución significativa de la respuesta del oído izquierdo. Cuando se presentó el estímulo interferente en el oído izquierdo, muy cerca temporalmente del otro estímulo, también disminuyó la amplitud de la respuesta. Asimismo, la habituación de la respuesta se presentaba más rápidamente cuando se aceleraba la presentación de un mismo patrón de estimulación.

Butler y cols., concluyeron que la habituación de un potencial evocado auditivo es más grande cuando el mismo patrón de actividad neural se inicia repetidamente. Cuando el estímulo interferente produce un patrón diferente de excitación neural, la habituación es menor. De igual forma, cuando el factor de la atención tien-

de a dividirse, disminuye la respuesta sensorial al estímulo.

Estos estudios podrían sugerir que la habituación está mediada por componentes relacionados con la atención, en los que una vez que el estímulo es percibido y analizado, habiéndole extraído toda la información que podía proporcionar, no es necesario que el sistema siga utilizando su limitada capacidad de análisis respondiendo a él. El estímulo habituado literalmente no es percibido, hasta que cambian sus características.

Los potenciales relacionados a eventos (PRE) es una de las técnicas más utilizadas para estudiar el proceso de la atención. Esta técnica permite seguir con gran resolución temporal el curso de la actividad eléctrica cerebral relacionada con el procesamiento de la información. Los PRE son respuestas eléctricas cerebrales asociadas en el tiempo a sucesos sensoriales, motores o cognoscitivos.

Los PRE se han clasificado de diversas maneras: de acuerdo con su polaridad, en positivos (P) y negativos (N); de acuerdo con su latencia, en potenciales de latencia corta (0 a 10 mseg), de latencia media (10 a 100 mseg) y de latencia larga (100 a 1000 mseg); de acuerdo con sus generadores (e.g. los potenciales de tallo cerebral y los corticales); de acuerdo con el sitio de mayor amplitud de registro (e.g. los potenciales de vertex); de acuerdo con lo que los genera: si son generados por estímulos externos (exógenos) o por procesos cognoscitivos internos (endógenos) (figura 4) (14, 15, 16).

Entre los potenciales exógenos se encuentran los potenciales evocados sensoriales. Estos representan la suma de los campos eléctricos generados por la activación sincrónica de poblaciones neurales en respuesta a un estímulo externo (14).

A diferencia de los potenciales exógenos, los potenciales endógenos están asociados con procesos motores, perceptuales o cognoscitivos. Los PRE endógenos son frecuentemente producidos por estímulos externos, pero su latencia no se encuentra determinada por las características físicas o por la modalidad sensorial, sino por los procesos cognoscitivos particulares activados por el estímulo. Dos de las respuestas electrofisiológicas más interesantes en relación con los procesos de atención han sido las denominadas N100 o N1 y la P300 o P3 (14).

El N100 se ha descrito como una gran respuesta negativa que se presenta alrededor de 100 milisegundos después de la presentación de un estímulo auditivo. En una tarea de escucha dicótica, Hillyard y cols. (16) estudiaron el efecto de la atención sobre la amplitud de dicho potencial. Para ello colocaron audífonos a un grupo de sujetos y se presentaron secuencias aleatorias de tonos de 800 y 1500 Hz, pidiéndole a los sujetos que atendieran sólo al tono de 1500 Hz que escucharan en el oído derecho. Posteriormente modificaron las instrucciones y le pidieron a los sujetos que atendieran únicamente al estímulo de 800 Hz en el oído izquierdo. Sus resultados muestran que se incrementa la amplitud del N100 ante el estímulo indicado sólo en el oído atendido. Esto es, a pesar de que el estímulo blanco también aparecía en el otro oído la amplitud del potencial no aumentó y sin importar su frecuencia sólo cuando se ponía atención al estímulo aumentaba la amplitud del N100.

Picton y cols. (38), obtuvieron resultados semejantes, pero además observaron que no hay cambios en los niveles inferiores de la vía auditiva (tallo cerebral), por lo que se puede suponer que los estímulos no se filtran a nivel de los primeros relevos sensoriales, sino

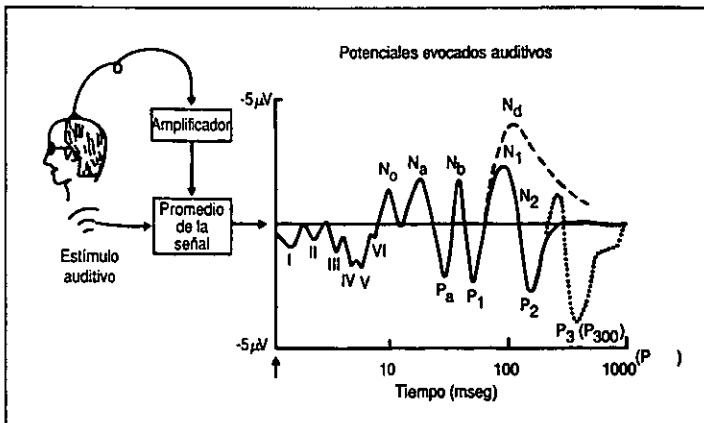


Figura 4. La figura ilustra un trazado idealizado de los potenciales evocados auditivos (PEA) que se registran en la superficie del cráneo como respuesta a un estímulo auditivo. Los PEA no pueden observarse en el EG; éstos emergen gradualmente después de varias presentaciones del estímulo. En el trazado se muestran los PEA después de promediar varias épocas de EEG de 1 seg. En el trazado se pueden observar los potenciales del tallo cerebral (I-VI), los potenciales de la latencia media (N0, PO, Na, Pa, Nb), los potenciales del vertex (P1, N1, P2) y los componentes endógenos relacionados con la tarea (Nd, N2 y P300) (modificada de Hillyard, Picton 15).

a nivel central, asimismo, proponen que la amplitud del N100 depende de la atención que se le dé al estímulo más que a su significado intrínseco. Una importante cualidad del componente N100 es que su amplitud disminuye sistemáticamente después de la estimulación repetida, encontrándose dos tipos de habituación: la que depende de la frecuencia con la que se presentan los estímulos y la que depende de su duración e intensidad (37).

La *habituación a corto plazo* se puede observar cuando se presentan los estímulos a intervalos cortos (frecuencias hasta de 0.1/sec); en este caso, las respuestas registradas en el vertex disminuyen su amplitud desde los primeros estímulos y tienden a permanecer estables, mientras que a intervalos de 10 segundos entre uno y otro estímulo no se aprecia este tipo de habituación.

La *habituación a largo plazo* se caracteriza por una lenta y progresiva disminución de la amplitud, la cual es difícil de medir porque cualquier cambio en el nivel de alerta del sujeto puede oscurecer el efecto de la habituación. Cuando los niveles de alerta se mantienen constantes y los estímulos se presentan a intervalos de hasta 28 segundos, la habituación de la amplitud del potencial se desarrolla claramente y se completa dentro de la primera media hora de estimulación.

Este tipo de evidencia ha llevado a sugerir que el proceso de la atención que subyace al N100 es una operación tónicamente mantenida que favorece a un oído más que al otro (en el caso de la escucha dicótica), por lo cual el N100 podría ser una manifestación electrofisiológica de lo que se conoce en el modelo de Broadbent como tipo de atención *stimulus set* (13,37). En este modelo, el *stimulus set* admite preferentemente todas las entradas sensoriales del canal al que se pone atención (estímulos que comparten un atributo sensorial simple, como es el tono, la posición en el espacio, la superficie del receptor, etc.) para un posterior análisis perceptual, y bloquea o atenúa los estímulos que llegan por otros canales sensoriales (por ejemplo por el oído al que no se le pone atención).

Por otra parte el P300 (o P3) es una respuesta (10 a 20 μ V) de superficie (i.e. se registra en el cuero cabelludo) de polaridad positiva que aparece alrededor de los 300 msec posteriores a la presentación de un estímulo. Sutton y cols. (47), lo describieron como un potencial asociado con la detección de un estímulo con pocas probabilidades de aparecer. El P300 se genera en las modalidades sensoriales auditiva, visual y somestésica después de detectar los estímulos ambientales potencialmente importantes (16,20, 22,57).

Tradicionalmente se ha evaluado el P300 presentando series de estímulos que tienen muchas probabilidades de aparecer (entre 85 y el 95 %) y otro estímulo que tiene pocas probabilidades de aparecer (entre 15 y 5 %). La tarea del sujeto consiste en contar los estímulos infrecuentes, y en una segunda etapa, pasarlos por alto, generalmente mientras lee algún texto. Este tipo de paradigma genera dos respuestas P3, las cuales difieren en latencia, topografía y correlatos psicológicos (43). Al primer componente le denominaron P3a: este se produce por la aparición repentina del estímulo infrecuente y tiene una latencia de alrededor de 240

mseg. Mientras tanto, un componente tardío, denominado P3b se presenta solamente cuando el sujeto pone atención a los estímulos (46).

El P3a se ha identificado como la primera fase del P300, el cual presenta una máxima amplitud en las regiones prefrontales y un máximo de alrededor de 50 msec antes de la actividad parietal de una segunda fase de P300, la respuesta P3b (23).

Un potencial de esta naturaleza nos hace preguntarnos acerca de sus generadores. Localizarlos nos daría una clave importante acerca de las estructuras que intervienen en los procesos de atención.

Los generadores de la P300

Sutton y cols. (47) indicaron que este potencial se observa claramente en el área del vertex, y se propuso que las áreas temporales y parietales podrían participar en su generación. Posteriormente se observó que los pacientes con lesiones en la unión tiempo-parietal no presentan ni el componente P3a ni el P3b, sin embargo, en los pacientes con lesiones parietales no disminuye ninguno de los componentes (21).

Woods y cols. (56) observaron resultados similares, indicando que las lesiones tiempo-parietales eliminan tanto el componente P3b como el P3a; además, estos autores observaron que las lesiones de lóbulo parietal inferior no afectan ninguno de los potenciales. Estas investigaciones revelaron que el P300 no es una respuesta cerebral unitaria.

Por otro lado, McCarthy y cols. (30) observaron una inversión del P300 cuando hicieron registros de profundidad en el hipocampo de sujetos epilépticos, por lo que esta estructura podría ser uno de los generadores del potencial. Los potenciales P300 hipocámpales registrados en una tarea de detección simple se presentan 50 msec después de la respuesta p3b parietal y alrededor de 100 msec después de la respuesta P3a prefrontal.

En el mismo sentido, Smith y cols. (45) hicieron una topografía intracraneal del P300 en seres humano, encontrando inversiones en la polaridad del potencial (lo cual se interpreta como el sitio de generación de la respuesta) en estructuras como el hipocampo y la corteza prefrontal.

Las lesiones unilaterales de la corteza prefrontal izquierda producen un decremento en el P3a contralateral a la lesión, en respuesta a un estímulo novedoso. La lesión de la corteza prefrontal derecha produce un mayor decremento en la amplitud del potencial en ambos hemisferios. Esta disminución ha sido observada en las diferentes modalidades del potencial: somestésica, auditiva o visual (20,23,57), y se correlaciona con las observaciones clínicas en las que los pacientes con infartos cerebrales que incluyen el área 46 y los campos oculares frontales, presentan heminatención contralateral (22,32). Esto ha sugerido que el lóbulo frontal izquierdo sólo es capaz de distribuir la atención en el hemisferio contralateral, mientras que el lóbulo frontal derecho puede centrar la atención tanto del hemisferio contralateral como del ipsilateral (22).

Por otro lado nuestro grupo está interesado en determinar estos generadores en la rata. Esta señal se

puede observar en los roedores y hemos podido obtenerla en regiones tales como el hipocampo y la corteza prefrontal. En futuros experimentos esperamos determinar la participación de estas estructuras en la generación o modulación del P300 en la rata.

Estas investigaciones han revelado que el proceso de la atención puede considerarse como un continuo, que al igual que otros constructos psicológicos, se encuentra constituido por subprocesos que se manifiestan dependiendo del tipo de tarea que se establezca para estudiarlos (vigilancia, detección, habituación, etc).

No hay una estructura cerebral relacionada exclusivamente con el proceso, más bien éste depende de un circuito neural distribuido en el que participan varias áreas del cerebro para su inducción, mantenimiento y decaimiento. Estas áreas no pueden reducirse exclusivamente al hipocampo o a la corteza tampo-ro-parietal ya que otras estructuras, como la corteza prefrontal, la formación reticular y el tálamo, podrían participar también en su regulación.

La P300 y la neuropsiquiatría

Por sus características la respuesta P300 se ha evaluado en un gran número de padecimientos neuropsiquiátricos, en los que se han observado déficits en la ejecución de tareas en las que interviene la atención. Se han encontrado correlaciones entre estos déficits conductuales con disfunciones en la latencia o amplitud del P300. De esta forma, aquellos padecimientos en los que los déficits de atención son parte preponderante del cuadro clínico constituyen las poblaciones en las que se ha estudiado más intensamente este potencial.

Entre los trastornos en los que se ha estudiado la respuesta P300 se encuentra el trastorno hiperactivo con déficit de la atención (DHDA), la esquizofrenia, la depresión y las demencias, en especial la de tipo Alzheimer.

En los niños con DHDA se ha observado que disminuye la amplitud del componente P3b cuando ejecutan una tarea que requiere de la atención sostenida a U7 estímulo. La medicación con estimulantes aumenta la amplitud del componente P3b, lo cual se acompaña de una mejoría sustancial en la ejecución de la tarea (8).

Los estimulantes, como el metilfenidato, se usan ampliamente en el tratamiento del trastorno por déficit de atención; sin embargo, sus efectos dependen de la edad del paciente. Dicho efecto puede reflejarse en la latencia del potencial. Por ejemplo, Syrigou-Papavasiliou y cols. (48), observaron que la latencia del P300 en los adolescentes con DHDA tiende a ser más corta que en los niños con este mismo padecimiento. Estas observaciones sugieren que el mejoramiento depende de la maduración central. Asimismo, la latencia del P300 en los adolescentes con altas dosis de metilfenidato se vuelve más corta, mientras que en los niños tiende a alargarse.

Aunque el tratamiento con estimulantes es el más difundido, se han utilizado algunos otros fármacos. Por ejemplo Sangal y cols. (42) observaron que el tratamiento con imipramina disminuye la latencia y aumenta la amplitud del P300 en los pacientes con DHDA. Esto se relaciona con la respuesta exitosa al tratamiento con dicho antidepressivo; mientras que en los pacientes

que no responden al tratamiento no se observan cambios en la amplitud ni en la latencia del potencial.

En otro tipo de trastorno, como la esquizofrenia, se ha encontrado constantemente una reducción de la amplitud del potencial P300. Estos pacientes presentan dicha disminución en las áreas parietales y temporales, y no se han observado cambios significativos en la amplitud del potencial a través del tiempo a pesar de la disminución significativa de la sintomatología (48).

A pesar de que la disminución en la amplitud del potencial es una respuesta constante en estos pacientes, los resultados no son claros respecto a la latencia. Se han encontrado desde latencias semejantes entre los esquizofrénicos y los controles hasta el aumento de la latencia del potencial en los pacientes esquizofrénicos (2).

Por otra parte, los resultados en el trastorno depresivo muestran una latencia del P300 significativamente mayor en los pacientes con trastorno depresivo mayor, en comparación con los controles normales (18,54). En contraste, otros estudios no muestran diferencias en la latencia del P300 entre los controles y los pacientes deprimidos; sin embargo, señalan que la amplitud del potencial en los pacientes deprimidos es menor que la de los sujetos normales, y esta amplitud aumenta significativamente cuando se recuperan (10). En algunos trabajos, como en el de Sara y cols. (43), en el que se observaron diferencias entre los tiempos de reacción de los sujetos normales y de los sujetos deprimidos, no se hallaron diferencias en la amplitud o latencia del P300, por lo que se ha cuestionado su utilidad como un índice de la integridad del procesamiento de la información.

Por otra parte, en un interesante estudio de Kugler (25), en el que evalúa la latencia y amplitud del P300 en 330 sujetos de 18 a 98 años, se muestra un ligero alargamiento de la latencia de alrededor de 10 mseg, y una disminución de la amplitud de $1 \mu V$ por cada década. Su análisis le permitió observar que estos cambios se dan lentamente hasta antes de los 60 años, después se acelera el proceso.

El alargamiento en la latencia del P300 es un hallazgo común en el mal de Alzheimer* (35,49), sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas en la amplitud al compararla con la de los sujetos normales o deprimidos.

Además, el tiempo de reacción para responder a un estímulo es significativamente mayor en los pacientes con demencia de Alzheimer (36).

La mayoría de los estudios en pacientes neuropsiquiátricos confirman que hay una relación entre la integridad funcional del paciente y la respuesta P300. Mucho de la polémica generada por este potencial en los estudios clínicos se ha derivado del intento de utilizarlo como un medio de diagnóstico, en el que la amplitud o latencia del potencial pudieran utilizarse como indicadores fiables para distinguir entre los diferentes tipos de patologías. Hasta el momento, sigue siendo de poca utilidad en la clínica.

* La confirmación del mal de Alzheimer es de tipo histopatológico. Esta confirmación sólo puede hacerse postmortem, por lo que los sujetos incluidos en estos informes deben ser considerados como probables casos de Alzheimer hasta poder confirmarlo histopatológicamente.

Conclusiones

A pesar de que en varias entidades neurológicas y psiquiátricas está bien caracterizado el déficit en los procesos de atención, y que desde el punto de vista conductual es un proceso crucial para que cualquier conducta en la que intervenga la memoria y el aprendizaje pueda llevarse a cabo, aún no sabemos qué sistemas neuronales ejercen dicha acción. En los últimos 40 años se han llevado extensas investigaciones encaminadas a describir estos sistemas neuronales, las cuales han arrojado evidencias sobre la participación de algunas estructuras y sistemas de neurotransmisión en este proceso.

No obstante el avance que se ha dado en este campo, nuestro conocimiento actual aún no nos permite contestar algunas preguntas clave para comprender este proceso. Por ejemplo, si partimos del hecho de que poseemos una capacidad limitada para analizar los estímulos ambientales, nos preguntamos: ¿Estos estímulos se filtran a nivel central o periférico? En tal caso, si este filtro es capaz de seleccionar los estímulos entonces ¿cuánto de nuestra percepción depende de la atención? o dicho de otra manera ¿la atención puede modificar la forma en que percibimos?

Las respuestas no son simples, de hecho, estas preguntas no surgieron recientemente, sino que fueron formuladas hace poco más de 40 años, y hasta el momento no ha sido posible contestarlas de manera satisfactoria y concluyente. A pesar de ello, las constantes investigaciones han permitido generar un esquema básico de las estructuras y los sistemas de neurotransmisión que están activos durante la ejecución de tareas relacionadas con la atención, sin embargo, sus patrones de actividad, modulación e interacción no son del todo claros.

El conocimiento de estos sistemas, además del de sus neurotransmisores, permitirían predecir un mejor manejo de las enfermedades neuropsiquiátricas y, además, sugerir la posibilidad de mejorar dicho proceso en aquellas personas a las que, sin estar diagnosticadas como enfermas, se les dificulta mantenerse atentas.

Agradecimientos

Agradezco profundamente la ayuda del doctor Oscar Prospero García por sus atinados comentarios en la revisión del manuscrito, y por su apoyo incondicional en los momentos difíciles, y lo dedico a la memoria del doctor Simón Brailowsky Klipstein, tutor, maestro, jefe y amigo a quien tuve la fortuna de conocer y ahora tengo la pena de extrañar.

1. ASTON-JONES G, RAJKOWSKI J, KUBIAK P: Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in vigilance task. *Neuroscience*, 80(3):697-715, 1997.
2. BEIGLEITER H, PORJESZ B: The P300 component of the event-related brain potential in psychiatric patients. En: *Evoked Potentials*. Alan R Liss, Inc. 529-535, 1986.
3. BUSER P: Attention: A brief survey of some of its electrophysiological correlates. En: Koukkou M, Lehmann D (ed). *Functional States of Brain. Their Determinants*. Angst J Elsevier. North Holland Biomedical Press, Holanda, 1980.
4. BUTLER R, SPRENG M, KEIDEL W: Stimulus repetition rate factors which influence the auditory evoked potential in man. *Psychophysiology*, 5(6):665-672, 1969.
5. BROADBENT DE: *Perception and Communication*. Pergamon Press, Londres, 1958.
6. COHEN R, O'DONNELL B: Physiological substrates of attention. En: Cohen R (ed). *The Neuropsychology of Attention*. Plenum Press. Nueva York, 1993.
7. DATTA S, CALVO J, QUATTROCHI J, HOBSON J: Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. I Immediate and prolonged increases in pontogeniculo-occipital waves. *Archives Italiennes de Biologie*, 130:263-284, 1992.
8. DESMOND P, AYLWARD G: Attention deficits in school-aged children and adolescents. *Pediatrics Clinics of North America*, 39(3):487-512, 1992.
9. EGETH H: Selective attention. *Psychological Bulletin*, 67(1):41-57, 1967.
10. GANGADHAR B, ANCY J, JANAKIRAMAIAH N, UMAPATHY C: P300 amplitude in non-bipolar, melancholic depression. *J Affect Disord*, 28(1):57-60, 1993.
11. HEILMAN K, WATSON R, VALENSTEIN E, GOLDBERG M: Attention: Behavior and neural mechanisms. En: Mountcastle V (ed). *Handbook of Physiology. Higher Functions of the Brain*. American Physiological Society. Bethesda, 1987.
12. HERNANDEZ-PEON R: Physiological mechanisms in attention. En: Rusell R (ed). *Frontiers in Physiological Psychology*. Academic Press. Nueva York, 1968.
13. HILLYARD S, HINK V, SCHWENT T, PICTONT: Electrical signs of selective attention in the human brain. *Science*, 182:177-180, 1973.
14. HILLYARD S, WOODS D: Electrophysiological analysis of human brain function. En: Gazzaniga M (ed). *Handbook of Behavioral Neurobiology*, 2:345-378. Plenum Publishing Corporation, Nueva York, 1979.
15. HILLYARD S, PICTON T: Electrophysiology of cognition. En: Mountcastle V (ed). *Handbook of Physiology. The Nervous System V*, 519-584. American Physiological Society, Bethesda, 1987.
16. HILLYARD S, MANGUN G, WOLDORFF M, LUCK S: Neural systems mediating selective attention. En: Gazzaniga M (ed). *The Cognitive Neuroscience*. MIT Press, Cambridge, 1995.
17. JAMES W: *The Principles of Psychology*. Henry Holt and Company, Nueva York, 1890.
18. KALAYAM B, ALEXOPOULOS S, KINDERMANN S, KAKUMAT, BROWN G, YOUNG R: P300 latency in geriatric depression. *Am J Psychiatry*, 155(3):425-427, 1998.
19. KELLAWAY P: An orderly approach to visual analysis: Parameters of the normal EEG in adults and children. En: Klass W, Dalay D (ed). *Current Practice of Clinical Electroencephalography*. Raven Press, Nueva York, 1979.
20. KNIGHT R, SCABINI D, WOODS D: Prefrontal cortex gating of auditory transmission in humans. *Brain Research*, 504:338-342, 1989a.
21. KNIGHT R, SCABINI D, WOODS D, CLAYWORTH C: Contributions of temporal parietal function to the human auditory P3. *Brain Research*, 502:109-116, 1989b.
22. KNIGHT R, GRABOWECKY M, SCABINI D: Role of human prefrontal cortex in attention control. En: Riggio J, Goldman-Rakic P (ed). *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Frontal Lobe*, Raven Press, Nueva York, 21-36, 1995a.
23. KNIGHT R, GRABOWECKY M: Escape from linear time: Prefrontal cortex and conscious experience. En:

- Gazzaniga M (ed). *The Cognitive Neuroscience*. MIT Press, Cambridge, 1995b.
24. KOLB B, WHISHAW I: Attention, imagery, an consciousness. En: Kolb B (ed). *Human Neuropsychology*. WH Freeman and Company. Nueva York, 1996.
 25. KUGLER C: Can age dependent cognitive functions be measured? P300 potentials-concept of brain aging-early diagnosis of dementia processes. *Fortschr Med*, 114(28):357-360, 1996.
 26. LADER M, WING L: Review of previous studies. En: Lader M (ed). *Physiological Measures, Sedative Drugs, and Morbid Anxiety*. Oxford University Press, Nueva York, 1966.
 27. LE MOAL M, SIMON H: Mesocorticolimbic dopaminergic network: Functional and regulatory roles. *Physiological Reviews*, 71(1):155-234, 1991.
 28. LINDSLEY DB: Emotion. En: Stevens SS (Ed). *Handbook of Experimental Psychology*. Nueva York, 1951.
 29. LURIA A: *La Atención*. Martínez Roca, Barcelona, 1986.
 30. MCCARTHY G, WOOD C, WILLIAMSON P, SPENCER D: Task-dependent field potentials in human hippocampal formation. *The Journal of Neuroscience*, 9(12):4253-4268, 1989.
 31. MCGHIE A: *Pathology of Attention*. Penguin Books Ltd, Gran Bretaña, 1969.
 32. MESULAM M: A cortical network for directed attention and unilateral neglect. *Ann Neurol*, 10:309-325, 1981.
 33. MORUZZI G, MAGOUN HW: Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 1:455-73, 1949.
 34. NÄÄTÄNEN R: Attention and automaticity in information processing. En: Nääätänen R. Lawrece (ed). *Attention and Brain Function*. Erlbaum Associates Publishers, Londres, 1992.
 35. ORTIZ T, LOECHES M, MIGUEL F, ABDAD E, PUENTE A: P300 latency and amplitude in the diagnosis of dementia. *J Clin Psychol*, 50(3):381-388, 1994.
 36. PATTERSON J, MICHALEWSKI H, STARR A: Latency variability of the components of auditory event-related potentials to infrequent stimuli in aging, Alzheimer-type dementia, and depression. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 71(6):450-460, 1988.
 37. PICTON T, HILLYARD S, GALAMBOS R: Habituation and attention in the auditory system. En: Keidel W, Neff W (ed). *Handbook of Sensory Physiology*. Vol V. Springer Verlag, Berlin, 1973.
 38. PICTON TW, CAMPBELL KB, BARIBEAU-BRAUN J, PROULX GB: The neurophysiology of human attention: a tutorial review. En: Requin (ed). *Attention and Performance*, J Wiley, Nueva York, 1978.
 39. POSNER M, PETERSEN S: The attention system of the human brain. *Annu Rev Neurosci*, 13:25-42, 1990.
 40. ROBBINS T, EVERITT B: Arousal systems and attention. En: Gazzaniga M (ed). *The Cognitive Neuroscience*. The Mit Press, Cambridge, 1995.
 41. ROLE L, KELLY J: The brain stem: Cranial nerve nuclei and the monoaminergic systems. En: Kandel E, Schwartz J, Jessell T (ed). *Principles of Neural Science*. Elsevier, Nueva York, 1991.
 42. SANGAL J, SANGAL R, PERSKY B: Prolonged P300 latency in attention deficit hyperactivity disorder predicts poor response to imipramine. *Clin Electroencephalogr*, 27(4):191-201, 1996.
 43. SARA G, GORDON E, KRAIUHIN C, COYLE S, HOWSON A, MEARES R: The P300 ERP component: an index of cognitive dysfunction in depression? *J Affect Disord*, 31(1):29-38, 1994.
 44. SAUNDERS M, WESTMORELAND B: The EEG evaluation of disorders affecting the brain diffusely. En: Klass W, Daly D (ed). *Current Practice of Clinical Electroencephalography*. Raven Press, Nueva York, 1979.
 45. SMITH M, HALGREN E, SOKOLIK M, BAUDENA P, MUSOLINO A, LIEGEOIS-CHAUVÉL C, CHAUVÉL P: The intracranial topography of the P3 event-related potential elicited during auditory oddball. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 76(3):235-248, 1990.
 46. SQUIRES N, SQUIRES K, HILLYARD S: Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 38:387-401, 1975.
 47. SUTTON S, BRAREN M, ZUBIN J, JHON ER: Evoked potential correlates of stimulus uncertainty. *Science*, 150:1187-1188, 1965.
 48. SYRIGOU-PAPAVASILIOU A, LYCAKI H, LEWITT P, VERMA N, SPIVAK D, CHAYASIRISOBHON S: Dose-response effects of chronic methylphenidate administration on late event-related potentials in attention deficit disorder. *Clin Electroencephalogr*, 19(3):129-133, 1988.
 49. SZELIES B, MIELKE R, ROND M, HEISS W: P300 in Alzheimer's disease: relationships to dementia severity and glucose metabolism. *J Neurol Sci*, 130(1):77-81, 1995.
 50. TREISMAN A: Strategies and models of selective attention. *Psychol Rev*, 76:282-289, 1969.
 51. TREISMAN A: The perception of features and objects. En: Braddley A, Weiskantz L (ed). *Attention: Selection, Awareness, and Control*. Oxford Science Publications. Nueva York, 1993.
 52. TURETSKY B, COLBATH E, GUR R: P300 subcomponent abnormalities in schizophrenia: II Longitudinal stability and relationship to symptom change. *Biol Psychiatry*, 43(1):31-39, 1998.
 53. VANDERWOLF H, ROBINSON T: Reticular-cortical activity and behavior: A critique of arousal theory and a new synthesis. *Behav Brain Sci*, 4:459-514, 1981.
 54. VANDOOALAEHGE E, VAN HUNSEL F, NUYTEN D, MAES M: Auditory event related potentials in major depression: prolonged P300 latency and increased P200 amplitude. *J Affect Disord*, 48(2-3):105-113, 1998.
 55. WOODS D: The physiological basis of selective attention. En: Rohrbaugh J, Parasuraman R (ed). *Event Related Brain Potentials*. Oxford University Press, Nueva York 1990.
 56. WOODS D, KNIGHT R, SCABI, II D: Anatomical substrates of auditory selective attention: Behavioral and electrophysiological effects of posterior association cortex lesions. *Cognitive Brain Research*, 1:227-240, 1993.
 57. YAMAGUCHI S, KNIGHT R: Anterior and posterior association cortex contributions to the somatosensory P300. *The Journal of Neuroscience*, 11(7):2039-2054, 1991.

DIRECTORIO DEL INSTITUTO MEXICANO DE PSIQUIATRÍA

- Dr. Ramón de la Fuente
Director General
- Dr. Gerardo Heinze Martín
Jefe de la División de Servicios Clínicos
- Dr. Humberto Nicolini S.
Jefe de la División de Investigaciones Clínicas
- Dr. Augusto Fernández-Guardiola
Jefe de la División de Investigaciones en Neurociencias
- Dra. Ma. Elena Medina-Mora
Jefe de la División de Investigaciones Epidemiológicas y Sociales
- Dra. Blanca E. Vargas
Jefe de la División de Enseñanza

HIV-derived protein gp120 suppresses P3 potential in rats: potential implications in HIV-associated dementia

O. Galicia,^{1,2} M. Sánchez-Alavez,¹ O. Díaz-Ruiz,¹ F. Sánchez Narváez,¹ J. H. Elder,³ L. Navarro¹ and O. Prospéro-García^{1,CA}

¹Grupo de Neurociencias, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina; ²Departamento de Procesos Básicos, Facultad de Psicología UNAM, Apdo. Postal 70-250, México D.F., 04510, México; ³Department of Molecular Biology, The Scripps Research Institute, 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA

^{CA}Corresponding Author

Received 24 January 2000; accepted 16 February 2000

Acknowledgements: This work was supported by Grant IN209797 from DGAPA-UNAM to O.P.-G. and Grant 201408 from PAEP-UNAM to O.G. The authors wish to thank Dr Nancy Higwood for providing HIV gp120.

Between 20 and 30% of AIDS patients have neurological symptoms characterized by motor impairment, memory loss and progressive dementia. Previous studies have implicated the HIV derived gp120, which produces behavioral deficits and electrophysiological alterations in rats. The goal of the present study was to describe the effect of this protein on the P3 event-related potential (ERP), evoked by a passive discrimination task in rats. We used 11 rats divided into two groups: HIV gp120 ($n=6$) and control ($n=5$). We recorded the P3 wave before any treatment (baseline), during the i.c.v. administration of either HIVgp120 (700 ng/5 days) or saline (pH 7.2), and 24 h, 7, 14 and 21 days after the last injection. There were no changes between groups in the amplitude or latencies of the

observed components (N1, P2, N2 and P3) evoked by target stimuli, during baseline or during the injection period. However, the HIV gp120 group showed a significant amplitude reduction in P3 wave 24 h after the last injection, while the N1, P2 and N2 waves remained unchanged. However, from the 7th day through the 21st day, P2 and N2 components also disappeared and only the N1 component could be observed in the HIV gp120-treated group. These changes in the N2, P2 and P3 potentials, suggesting an alteration in cognitive processes, further support the neurotoxic activity of HIV gp120 and its role in AIDS dementia. *NeuroReport* 11:1351-1355 © 2000 Lippincott Williams & Wilkins.

Key words: AIDS dementia complex; Cognition; Event related potentials; HIV gp120; N100; P300

INTRODUCTION

HIV associated dementia (HAD), characterized by attention, memory and motor deficits, has been found in 20–30% of AIDS patients [1]. However, at present, the etiology of HAD is unknown. The P3 is an event-related potential (ERP) characterized by its reliability as an indicator of several cognitive processes related to relevant or novel stimulus detection [2,3]. P3 abnormalities have been described in HIV+ subjects with dementia. Some studies have suggested that P3 potential is sensitive enough to detect subclinical damage in people who had been HIV+ for 3 months to 8 years [4,5]. An increased P3 latency in HIV-demented untreated patients has also been documented [6]. Likewise a delay in the auditory and visual evoked P3 latency was highly correlated with the severity of the cognitive impairment of HIV- patients [7]. In this context, P3 potential seems to be a reliable indicator of cognitive deficits in HIV patients. In addition, these electrophysiological abnormalities strongly suggest neuronal damage.

However, despite the fact a number of studies have shown high HIV antibodies and proviral DNA levels in the cerebrospinal fluid (CSF) of AIDS patients [8], neurons are not directly infected. Therefore the pathophysiological manifestations of this syndrome may be caused by an indirect mechanism [9]. One of the potential mechanisms causing neuronal damage that may alter P3 expression, involves HIV derived proteins, i.e. gp120 and gp41, as several studies in animal preparations have indicated. For example, Brenneman [10] showed that nanomolar and picomolar concentrations of HIV gp120 cause neuronal death *in vivo* and *in vitro*. In addition, we have found that HIV gp120 produces alterations in at least two other electrophysiological signals: the sleep-wake cycle and long-term potentiation [11]. Moreover in the feline model, infected with the feline immunodeficiency virus (FIV), we have documented visual and brain stem auditory evoked potentials alterations resembling human abnormalities [12]. In addition, FIV gp120 causes abnormalities in visual and

suggest an involvement of gp120 in the electrophysiological alterations observed in HIV+ subjects and AIDS patients.

In AIDS patients or HIV+ subjects, it is difficult to determine whether the symptoms are caused by HIV itself, or by derived proteins or by opportunistic infections. Therefore, determining the effect of HIV gp120 on the CNS and its potential role in AIDS dementia is precluded by several factors, including opportunistic infections. In this context, the use of animal models is necessary, in particular if our goal is to determine whether the HIV gp120 participates in the generation of abnormalities in the P3 evoked potential, similar to those detected in patients suffering from HAD.

MATERIALS AND METHODS

Subjects: Eleven male Wistar rats (250g at the time of implantation) were housed individually and kept in a normal 12:12h light:dark cycle (lights on at 08.00h). They were implanted under halothane anesthesia (2% halothane) with one stainless steel screw electrode into the vertex (A -4.5, L 2.0) and reference on the sino frontalis (A 7.0, L 2.0). In addition, a stainless steel cannula (1 cm long and 23 gauge) was stereotaxically positioned in to the right lateral ventricle (A 2.70, L 1.20, H 3.80).

Materials: The HIV gp120, donated by Dr Nancy Haigwood, is from the SF2 isolate of HIV, with purity >95%, determined by gel electrophoresis analysis.

We used a sound-isolated box (30 x 30 cm), equipped with six speakers distributed three on the front and three on the rear of the chamber. We use a GRASS S10CTCM stimulator to produce an auditory stimulus. Both a standard (4 kHz pitch) and a target (3 kHz pitch) stimulus were presented by a PC 286/20 MHz computer. Additionally, the stimulation system and the chamber lights were computer controlled. The stimulus was filtered by a 10 band equalizer and amplified in a 700 W amplifier.

The recording system was composed by an intronix amplifier with a filter set at 0.5–100 Hz and an analogue/digital board DT2821 by Data Translation Inc installed in a PC 486/66 MHz Computer. The sampling frequency was 250 Hz. The recording and analyzing program was purchased from Brain Wave System Corporation. Additionally,

frequency and 4 kHz pitch). The sampling frequency was 34 kHz to obtain brain stem evoked potentials (BAEPs). Averages were made from 1200 samples of EEG of 15 ms duration, filters set at 300–3000 Hz.

Procedure: Seven days after surgery we started the behavioral procedure. During the habituation period, rats were handled for 5 min over 5 consecutive days, followed by 20 min during which they were allowed to explore the chamber. In this period, we made an audiometric study to determine the subject's auditory threshold, by means of recording BAEPs.

Baseline recordings were established by delivering two auditory stimuli: a 4 kHz standard stimulus was presented with a 95% probability, and a 3 kHz target stimulus delivered with a 5% probability. The stimuli had 50 ms duration, 70 dB above threshold and a random 2.0–3.5 s interstimulus interval. This procedure was repeated over 3

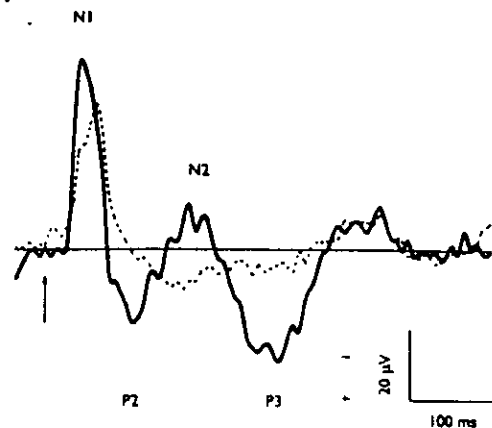


Fig. 1. Illustration of the classical ERP response in the passive discrimination task for the HIV gp120 group. Target stimulus ERP response is drawn with a continuous line and the standard stimulus ERP response is drawn with a dashed line. The arrow shows the time when the stimulus was delivered.

Table 1. Mean \pm s.e.m. amplitude (μ V) and latency (μ s) for the N1 and P3 waves during different experimental days.

Phase	Group	N1 Latency	N1 Amplitude	P3 Latency	P3 Amplitude
Baseline	HIV gp120	25.54 \pm 4.21	92.77 \pm 27.10	252.84 \pm 4.91	69.33 \pm 15.57
	Control	39.85 \pm 3.18	108 \pm 38.41	239.53 \pm 8.08	65.91 \pm 11.28
Injection	HIV gp120	39.85 \pm 7.37	98.14 \pm 21.54	219.56 \pm 56.59	53.94 \pm 16.72
	Control	33.19 \pm 3.84	71.77 \pm 24.57	216.25 \pm 15.6	55.89 \pm 18.79
24h	HIV gp120	26.54 \pm 10.28	84.47 \pm 38.81	212.19 \pm 76.17	34.17 \pm 15.32*
	Control	33.19 \pm 4.10	94.23 \pm 42.86	232.87 \pm 1.66	74.47 \pm 16.99
Day 7	HIV gp120	46.51 \pm 11.10	80.56 \pm 20.51	NM	NM*
	Control	33.19 \pm 3.18	71.77 \pm 16.10	232.87 \pm 1.92	54.19 \pm 13.56
Day 14	HIV gp120	46.51 \pm 4.18	65.91 \pm 21.36	NM	NM*
	Control	39.85 \pm 3.18	110.83 \pm 26.17	239.53 \pm 6.29	58.59 \pm 15.71
Day 21	HIV gp120	46.51 \pm 1.66	77.63 \pm 18.01	NM	NM*
	Control	39.85 \pm 1.92	120.3 \pm 25.52	239.53 \pm 7.37	61.03 \pm 19

* $p < 0.01$ HIV gp120 vs control group. NM = wave was not detectable.

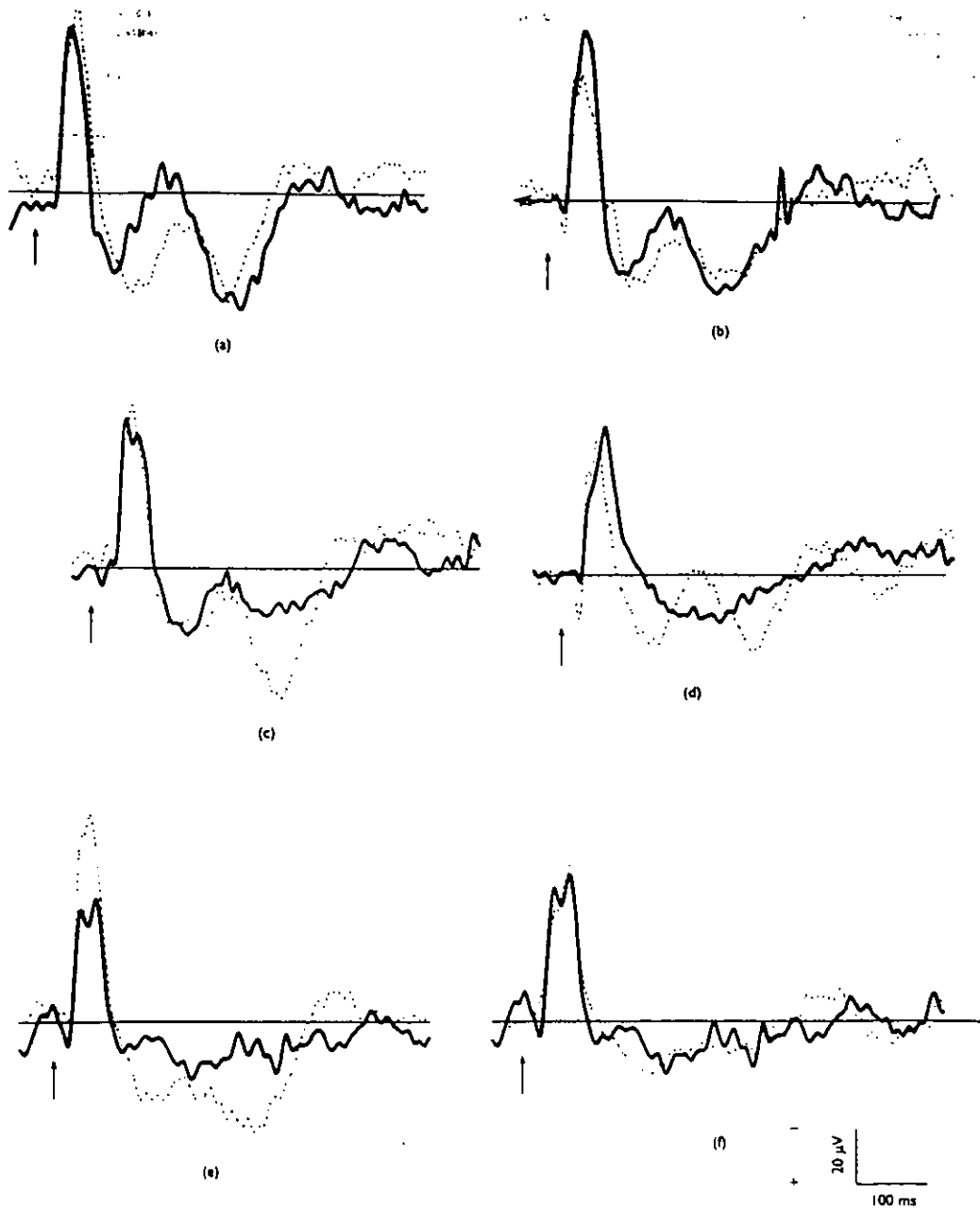


Fig. 2. Illustration of the sequence of ERP responses to the target stimulus at different times in the HIV gp120-treated group (continuous line) and saline-treated group (dashed line). (a) Baseline. (b) ERPs after 3 days of treatment. (c) ERPs 24 h after the last injection. (d) ERPs 7 days after the last injection. (e) ERPs 14 days after the last injection. (f) comparison between target (continuous line) and standard (dashed line) stimuli ERP responses in the HIV gp120 group, 21 days after the last injection. The arrow shows the time when the stimulus was delivered.

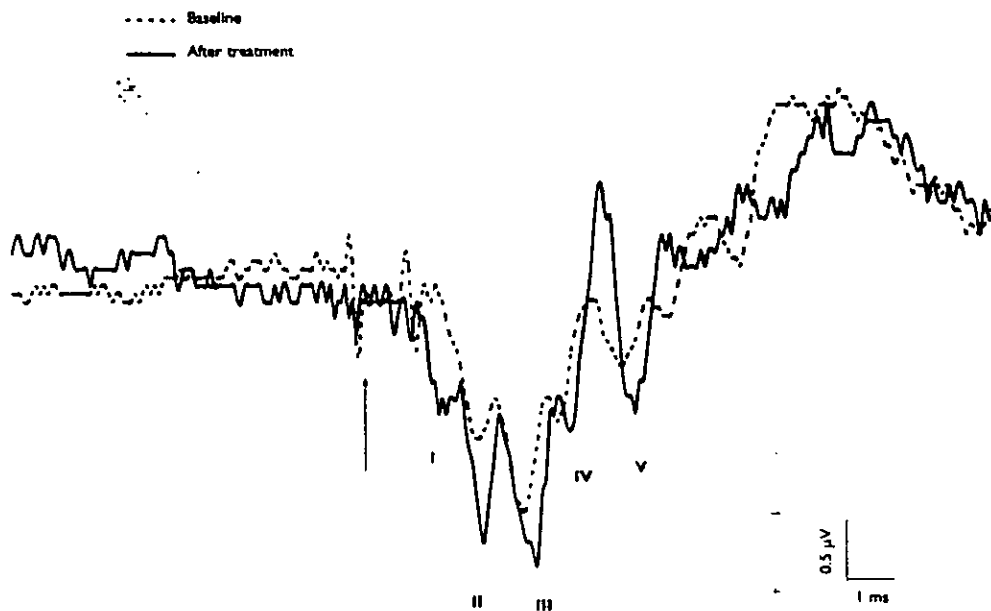
days. Thirty-five EEG traces (2s duration) in response to each stimulus by session, were captured.

Once the baseline was established, subjects were randomly assigned to HIV gp120 or saline groups. The HIV gp120 group received an i.c.v. injection of HIV gp120 (140 ng/5 μ l) for 5 consecutive days (total dose 700 ng). The control group received an i.c.v. injection (5 μ l) of saline daily. The subjects were recorded blind on the third day of injection, 2h after the injection with the same baseline procedure. Rats were also recorded at 24 h and 7, 14 and 21 days after last injection. At the end of the study we obtained a last recording to evaluate the BAEPs in both groups.

Analysis: Latency and amplitude of ERPs were measured individually and an ANOVA test for repeated observations and a *post hoc* Scheffé test were used to detect statistical differences.

RESULTS

At baseline, we observed the previously reported difference between the ERPs evoked by the standard and target stimulus wave [2,3]. In both groups, target stimuli elicited a parietal-maximal P3 wave. We identified three additional components. They were N1, P2 and N2 waves, in response to the target stimuli. In contrast, the standard stimuli produced only a N1 potential. Grand average ERPs of the



	I	II	III	IV	V
HIV gp120 pre treatment	2.27 \pm 0.045	3.03 \pm 0.038	3.66 \pm 0.073	4.36 \pm 0.035	5.14 \pm 0.0
HIV gp120 post-treatment	2.33 \pm 0.057	3.03 \pm 0.117	3.74 \pm 0.092	4.67 \pm 0.088*	5.61 \pm 0.170*
Control pre-treatment	2.37 \pm 0.050	3.10 \pm 0.035	3.76 \pm 0.053	4.44 \pm 0.123	5.36 \pm 0.020
Control post-treatment	2.38 \pm 0.027	3.14 \pm 0.036	3.78 \pm 0.051	4.35 \pm 0.043	5.37 \pm 0.025

Fig. 3. BAEPs recorded from the HIV gp120 group at the baseline (dashed line) and 21 days after the treatment (continuous line). Roman numbers label the wave components of the BAEPs. The table at the base of the figure, shows the latency of each component (mean \pm s.e.m.). * $p = 0.01$ HIV gp120 21 days after the treatment vs pretreatment and control group.

HIV gp120 group ($n=6$) for the target and non-target stimuli are shown in Fig. 1.

P3: The evoked response to target stimuli between the control and HIV gp120 groups was compared and a significant amplitude reduction in the P3 wave was observed in the HIV gp120 group ($F_{1,5}=8.24$; $p=0.02$). The amplitude reduction observed was maintained over the 21 days after the treatment. Significant latency changes between HIV gp120 and control group were not detected ($F_{1,5}=3.94$; $p=0.09$).

We also observed a clear amplitude reduction in the P3 wave beginning 24 h after the last injection. However, the ANOVA test does not show a significant difference between experimental days ($F_{1,5}=1.55$; $p=0.20$). At the same time there was no significant difference in the latency of the wave ($F_{1,5}=0.89$; $p=0.49$; see Table 1 and Fig. 2a,b).

N1: The analysis of the N1 potential shows no significant differences between groups in amplitude ($F_{1,5}=3.89$; $p=0.98$) or latency ($F_{1,5}=1.29$; $p=0.29$) in response to target stimuli (Table 1, Fig. 2a,b).

Starting on the 7th and up to the 21st day, both P2 and N2 components disappeared and only N1 component could be observed in the HIV gp120 group in response to target stimuli (Fig. 2d-f).

BAEPs: There were no significant differences between the HIV gp120 and control group at the baseline recording. At the post treatment recording there were no changes in the first three components of BAEPs; however, the IV and V components showed a significant ($F_{1,5}=9.69$; $p=0.01$) delay in comparison to baseline recording (Fig. 3).

DISCUSSION

The present findings show that P3 and N1 waves are sensitive to HIV gp120 toxicity. There is a significant amplitude reduction in the P3 component beginning 24 h after the last injection day. The amplitude drop was not regained by the HIV gp120 group throughout the rest of the experiment.

The amplitude reduction in the HIV gp120 group is not explained by habituation to target stimuli, as previously suggested [14], since the control group did not show a significant P3 amplitude reduction during the experiment. No variations in the P3 amplitude were observed in the control group when baseline and the last experimental day were compared (Table 1), suggesting that habituation does not occur, probably because we use large inter-block intervals [15] and several days elapsed between experimental sessions.

It is worth remarking that P3 disappearance in humans has been reported but it is frequently found only to be delayed. For example, Birdsall *et al.* [4] observed a delayed latency or undetectable P3 in HIV infected patients without clinical evidence of neurological disease. Similar results were observed by Gil *et al.* [5] and Olo *et al.* [16], who

showed a significant prolongation of P3 latency in the seropositive subjects.

Regarding the BAEPs, they were affected by this treatment, as much as it has been demonstrated in humans. We have also observed these changes in cats and monkeys infected with FIV or SIV, respectively. However, the administration of FIV gp120 does not affect them in rats, at least at the dose used [12]. HIV gp120 may be causing damage due to the higher dose we used or rats may be more susceptible to HIV gp120. Due to the abnormalities observed in BAEPs, an alternative explanation for the changes observed in P3 is that the HIV gp120 produced a peripheral damage and the amplitude reduction was the result of a perceptual deficit as BAEPs are suggesting. However, N1 wave was observed at every experimental day, with no changes in its latency or amplitude. It is believed that this wave is generated by the primary auditory cortex [17]; therefore the presence of N1 wave in the HIV gp120 group suggests that the auditory stimuli are arriving normally to the auditory cortex.

CONCLUSION

In our animal model, which is free of opportunistic infections, the HIV gp120 produces a long-lasting electrophysiological deficit, such as P3 disappearance and delay in the latency of IV and V components of BAEPs. Therefore, these findings further support the potential role of HIV gp120 in neuropsychiatric disorders associated with AIDS.

REFERENCES

1. Jaason RS, Comblat DR, Epstein IG *et al.* *Neurology* 39, 119-122 (1989).
2. Hillyard S, Mangun G, Woldorff M and Luck S. Neural systems mediating selective attention. In: Gazzaniga M, ed. *The Cognitive Neurosciences*. Cambridge, MA: MIT Press, 1995: 665-681.
3. Knight RT, Grabowecy M and Scabini D. Role of human prefrontal cortex in attention control. In: Riggio J and Goldman-Rakic P, ed. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Frontal Lobe*. New York: Raven Press, 1995: 21-36.
4. Birdsall H, Ostluoglu L, Low H *et al.* *Otolaryngol Head Neck Surg* 110, 53-9 (1994).
5. Gil R, Breux J, Neou J *et al.* *Ann Med Intern* 142, 297-302 (1991).
6. Lunville SE, Elliot FS and Larson GE. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 8, 293-304 (1996).
7. Fein G, Biggers CA and MacKay S. *Arch Neurol* 52, 1109-1118 (1995).
8. Kure K, Lyman WD, Weidenheim KM and Dickson DW. *Am J Pathol* 136, 1085-1092 (1990).
9. Lipton SA. *Ann Neurol* 30, 110-114 (1991).
10. Brennerman DE, Westbrook GL, Fitzgerald SP *et al.* *Nature* 335, 639-642 (1988).
11. Sánchez-Alavez M, Cnado JR, Gomez-Chavann M *et al.* (submitted) (2000).
12. Phillips P, Prospero-García O, Puaci D *et al.* *J Gen Virol* 75, 979-987 (1994).
13. Prospero-García O, Huitron-Resendiz S, Casalman S *et al.* *Brain Res* 836, 203-209 (1999).
14. Polich J and Michaux H. *Int J Psychophysiol* 17, 25-34 (1994).
15. Lammers W and Badia P. *Physiol Behav* 45, 395-601 (1989).
16. Olo C, Johnson R and Craftman J. *Neurology* 41, 209-215 (1991).
17. Giard M, Perrin F, Echallier J *et al.* *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 92, 238-252 (1994).