

03097
3



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE APRENDIZAJE Y MEMORIA

**PARTICIPACIÓN DEL HIPOCAMPO EN LA
MEMORIA DE LARGO PLAZO**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN NEUROBIOLOGÍA

PRESENTA

MARÍA ISABEL MARTÍNEZ GARCÍA

DIRECTOR

DR. ROBERTO PRADO-ALCALÁ

JURIQUILLA, QRO.

2003

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: MARTÍNEZ GARCÍA

MARÍA ISABEL

FECHA: 26 Feb 03

FIRMA: [Signature]

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial para el Dr. Roberto Prado-Alcalá, por su insustituible apoyo y estímulo.

A la Dra. Gina Quirate por su importante colaboración para la realización de esta tesis.

A la Dra. Sofía Díaz Miranda por su apoyo en la realización de la técnica histológica.

MUCHAS GRACIAS

A los miembros del comité tutorial

Dr. Miguel Condes Lara

Dr. León Cintra Mcglone

A las siguientes personas e instituciones, por el apoyo brindado al presente trabajo:

Sr. Ángel Méndez Olalde

M en C. Azucena Aguilar

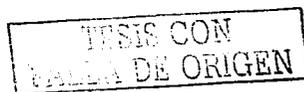
Lic. María del Pilar Galarza Barrios

Lic. María de Lourdes Lara Ayala

MVZ. Martín García Servín

Lic. Leopoldo González

**Laboratorio de Aprendizaje y Memoria
Instituto de Neurobiología, UNAM**



Universidad Autónoma de México
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
Dirección General de Asuntos del Personal Académico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. TIPOS DE APRENDIZAJE	3
El aprendizaje no asociativo	3
La habituación	4
La sensibilización	6
El aprendizaje asociativo	7
El condicionamiento clásico	7
El condicionamiento instrumental	7
I.2 TIPOS DE MEMORIA	8
La memoria de corto plazo	9
La memoria de trabajo	10
La memoria de largo plazo	10
La memoria declarativa	11
La memoria episódica	12
La memoria semántica	12
La memoria de procedimiento	13
I.3 HETEROGENEIDAD FUNCIONAL DE ALGUNAS ESTRUCTURAS SUBCORTICALES	14
El estriado	14
La amígdala	16
I.4 LA FORMACIÓN HIPOCAMPAL	17
El hipocampo	21
El hipocampo en los procesos de memoria	25
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
3 OBJETIVOS	33
4 HIPÓTESIS	33
5 MÉTODO GENERAL	33

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Animales	33
Lesión	33
Aparatos	35
Sesión de entrenamiento	36
Sesión de retención	37
Análisis histológico	37
Análisis estadístico	38
6 EXPERIMENTO 1	39
Resultados	39
7 EXPERIMENTO 2	44
Resultados	45
8 DISCUSIÓN	49
9 CONCLUSIÓN	52
10 REFERENCIAS	54

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

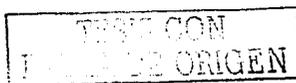
RESUMEN

El decremento en la ejecución en la tarea de evitación inhibitoria (EI) inducido por lesiones en el hipocampo dorsal o ventral ha sido interpretado como una deficiencia en la adquisición de información o aprendizaje. Una interpretación alternativa es que el aprendizaje de corto plazo se lleva a cabo a pesar de la lesión y que el decremento en la ejecución de largo plazo se deba a una falla de la consolidación de la memoria o de la recuperación de la información almacenada. Para explorar estas interpretaciones alternativas acerca del decremento en la ejecución, grupos independientes de ratas fueron lesionadas con ácido kaínico en el CA1 del hipocampo dorsal o en el CA3 del hipocampo ventral, ocho días antes del entrenamiento de la tarea de EI. La retención de la tarea fue probada 30 minutos ó 24 horas después del entrenamiento, de acuerdo al grupo experimental. Además, ambos campos hipocámpales fueron lesionados, en grupos independientes, un día después del entrenamiento y la prueba de retención se realizó ocho días después. El grupo probado 30 minutos después del entrenamiento de la tarea de evitación inhibitoria no presentó decremento significativo, mientras el resto de los grupos presentó una marcada deficiencia en la ejecución. Estos resultados avalan la idea de que la participación del hipocampo en la tarea de evitación inhibitoria no es esencial para la adquisición y sugieren que el hipocampo está íntimamente involucrado en la consolidación o en la recuperación de la información relacionada con esta tarea.



ABSTRACT

Performance decrements of inhibitory avoidance (IA) induced by lesions in either the dorsal or ventral hippocampus have been interpreted as a deficiency in acquisition. Alternative interpretations are that short-term learning occurs despite the lesions and the long-term performance decrements reflect a failure of consolidation or retrieval. To assess the alternative explanations of the performance decrements, rats received lesions in either CA1 or CA3 fields of dorsal and ventral hippocampus, respectively, eight days before IA training. Retention was tested at 30 min or 24 h after training. Kainic acid lesions were also produced in either hippocampal field one day after training and retention measured eight days later. The group assessed 30 min after IA training showed no significant performance decrements, whereas the remaining groups did show marked performance decrements. These results do not support the conclusion that the hippocampus is essential for acquisition and support the idea that the hippocampus is highly involved in the consolidation or retrieval of information germane to these procedures.

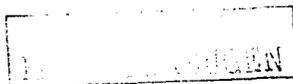


INTRODUCCIÓN

Entender la memoria es una de las metas más ambiciosas que persiguen los estudiosos del sistema nervioso pero que, desafortunadamente, está aún muy lejos de alcanzarse. A pesa de que las especulaciones iniciales encaminadas a explicar la memoria humana se remontan a los antiguos griegos, principalmente a Aristóteles, no fue sino hasta finales del siglo XIX cuando el estudio de los procesos mnemónicos trascendió el ámbito filosófico para adquirir las características de ciencia experimental. Esta transición se inició en 1885 cuando Hermann Ebbinghaus publicó su trabajo titulado *Sobre la memoria*, el cual contenía el primer análisis sistemático de la memoria humana. (Fernández Ruiz y Bermúdez Rattoni, 2001).

Aunado al trabajo de Ebbinghaus, las observaciones sobre la patología de la memoria hechas por Korsakoff (citado por Schacter, 1999) y los estudios pioneros sobre el condicionamiento en animales realizados por Pavlov (citado por Beggs et al., 1999) y Thorndike (citado por Rosenzweig et al., 1996) son las bases para la ciencia moderna de la memoria, que actualmente se ha expandido en diferentes direcciones.

La investigación sobre los mecanismos biológicos del aprendizaje y la memoria es un área de interés creciente. Esta investigación se realiza en todos los niveles de organización del sistema nervioso, desde organismos intactos hasta niveles subcelulares. Para descubrir las regiones neuronales involucradas en el aprendizaje y la memoria se emplean una gran variedad de técnicas; pacientes



con deterioro en el aprendizaje y la memoria, técnicas no invasivas, lesiones en cerebros de animales, por mencionar algunas (Rosenzweig et al., 1996).

Varias formas y aspectos del aprendizaje y la memoria involucran sistemas particulares, redes y circuitos en el cerebro, y ahora parece posible la identificación de estos circuitos, la localización de los sitios de almacenamiento de la memoria y el análisis de los mecanismos celulares y moleculares de estos procesos. Se han caracterizado las propiedades conductuales del aprendizaje y se han desarrollado análisis conceptuales y teóricos de la naturaleza de los procesos asociativos que forman la base del aprendizaje y la memoria. Por otro lado, se han reconocido e identificado sistemas neuronales de memoria y circuitos en el cerebro que pueden ser caracterizados y analizados (Thompson y Donegan, 1987).

Algunos principios generales que han emergido de la investigación, tanto con modelos de vertebrados como de invertebrados incluyen los siguientes (Beggs et al., 1999):

- En el cerebro existen múltiples sistemas de memoria
- La memoria de corto plazo requiere de cambios en circuitos neuronales
- Estos cambios pueden involucrar mecanismos celulares dentro de neuronas individuales
- El sistema de segundos mensajeros juega un papel de mediador en los cambios celulares
- Los cambios en las propiedades de los canales de membrana está, con frecuencia, relacionados con el aprendizaje y la memoria



- **La memoria de largo plazo requiere de la síntesis de nuevas proteínas**

Aunque el aprendizaje es entendido por todos, no es fácil dar una definición formal. La mayoría de las definiciones están basadas en inferencias a partir de los procesos conductuales. De forma implícita o explícita en la mayoría de las definiciones se acepta que el aprendizaje es una modificación de la conducta basada en la experiencia individual, y se hace énfasis en que el aprendizaje es un proceso progresivo y no un cambio instantáneo (Dudai, 1989). Así, el aprendizaje puede considerarse como una modificación en el sistema nervioso que resulta de la experiencia y que origina cambios duraderos en la conducta de los organismos.

TIPOS DE APRENDIZAJE

El aprendizaje se estudia exponiendo a los animales a información acerca del mundo, usualmente tipos específicos de experiencias sensoriales controladas. Dos grandes paradigmas han resultado de estos procedimientos, dando origen a la conceptualización de dos clases de aprendizaje: el aprendizaje no asociativo y el aprendizaje asociativo.

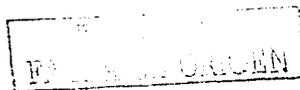
El Aprendizaje no Asociativo

Las formas más elementales de plasticidad conductual tienen carácter no asociativo; es decir, no requieren ningún tipo de asociación entre estímulos o entre estímulos y respuestas del entorno del organismo. Existen dos tipos de aprendizaje no asociativo: la habituación y la sensibilización.

La habituación. Es el proceso por el que una respuesta refleja disminuye ante la presentación repetida de un estímulo inocuo, es decir, de un estímulo que no daña la integridad física o funcional del organismo. Habituarse es aprender a ignorar estímulos irrelevantes. Este tipo de aprendizaje es la forma más generalizada que existe en la naturaleza y en la vida cotidiana. Tiene lugar en todos los organismos con musculatura esquelética y se da en la mayoría de los reflejos; pero también es propia de animales invertebrados, donde tiene una particular importancia como conducta adaptativa (Morgado, 1998).

En la rata, una de las respuestas de habituación más estudiadas ha sido la disminución de la respuesta de sobresalto ante la presentación de un tono alto. Se ha observado que la presentación repetida del tono produce en el animal una respuesta cada vez menor, pero esa misma respuesta vuelve a recuperarse instantáneamente cuando el tono o estímulo habitual es precedido, inesperadamente para el animal, de otro estímulo diferente como por ejemplo, una luz. Este proceso de la recuperación de la respuesta habituada se denomina deshabitación y es una prueba de que la habituación no se debe a la fatiga o a la adaptación sensorial del organismo (Morgado, 1998).

Este fenómeno ha sido ampliamente estudiado en el molusco *Aplysia californica*, el cual tiene un sistema nervioso muy simple formado por cerca de 20 mil células nerviosas centrales. Además presenta reflejos defensivos para retirar la cola, la branquia y el sifón (pequeño tubo carnosos situado por encima de la branquia). Por ejemplo, un estímulo táctil suave en el sifón produce una contracción del sifón y de la branquia, y un estímulo táctil sobre la cola provoca el retiro de la misma (Bailey y Chen, 1983). El fenómeno de habituación se



desarrolla administrando agua sobre el sifón a través de un tubo con presión controlada. Bajo un programa de intervalo fijo de 30 segundos, el sifón responde al estímulo contrayéndose. Los resultados indican que la habituación se obtiene en 10 ensayos cuando los sujetos son adultos, pero no sucede así con sujetos en estado juvenil lo que sugiere cierta inmadurez neuronal en estos sujetos (Marcus y Carew, 1990). Un estudio realizado en neuronas sensoriales de la cola, muestra que dicha inmadurez se relaciona con la activación paulatina de diferentes cascadas de señalización que se activan en forma secuencial al inicio del estado adulto (Marcus y Carew, 1998).

La contracción de la branquia ha sido estudiada con detalle. En respuesta a un estímulo en el sifón, las neuronas sensitivas que inervan al sifón generan potenciales sinápticos excitatorios en la interneurona y en la neurona motora. Estos potenciales sinápticos se suman espacial y temporalmente y provocan una descarga en la célula motora produciendo la contracción del órgano respiratorio. Si el estímulo se repite los potenciales de acción producidos por la neurona sensorial en las interneuronas y en las células motoras disminuyen progresivamente, lo que produce una disminución en la fuerza del reflejo. Se sugiere que esta disminución en la transmisión sináptica es el resultado de la disminución en la liberación del neurotransmisor hacia el espacio sináptico producida por cada potencial de acción. El mecanismo por el cual disminuye la liberación del neurotransmisor no es claro aún, ya que la sensibilidad de los receptores en la neurona motora no está disminuida. Se sugiere que puede deberse, en parte, a la disminución de la capacidad de las vesículas secretoras para ser movilizadas dentro de la zona activa (Kandel, 2000).

La sensibilización. Es un proceso a través del cual el organismo incrementa la respuesta ante un estímulo después de la aplicación de otro estímulo de mayor intensidad. La sensibilización es una forma compleja del aprendizaje no asociativo. El mecanismo neuroquímico de este tipo de aprendizaje también ha sido estudiado en la *Aplysia*.

Seguido por un sólo estímulo en la cabeza o en la cola, varias sinapsis involucradas en el circuito neuronal del reflejo de contracción de la branquia se modifican, cuando se aplica un estímulo en la cabeza o en la cola, incluyendo las hechas por la neurona sensitiva, la motoneurona y las interneuronas. Así, un sólo conjunto de sinapsis puede participar en dos formas de aprendizaje, la transmisión en este circuito puede disminuir en la habituación o aumentar en la sensibilización. Algunas de las interneuronas facilitadoras con las que hacen sinapsis las neuronas sensoriales de la cola son serotoninérgicas (Byrne y Kandel, 1996; Marinesco y Carew, 2002). La activación de los receptores serotoninérgicos acoplados a proteínas G en las neuronas sensoriales favorece la síntesis de AMPc y produce a su vez la activación de la proteína kinasa A (PKA). La PKA puede actuar a través de tres rutas diferentes; fosforilando canales de potasio, lo que favorece un potencial de acción más prolongado que incrementa el flujo de Ca^{++} , facilitando la liberación del neurotransmisor. Una segunda vía es aumentando la eficiencia de la exocitosis y la tercera vía es abriendo canales de Ca^{++} tipo L (Kandel, 2000).

TEMAS CON
FALLA DE ORIGEN

El Aprendizaje Asociativo

La mayoría de los aprendizajes en los mamíferos son asociativos. La asociación es uno de los mecanismos fundamentales del aprendizaje y la memoria. Es un potente mecanismo para la modificación adaptativa de la conducta y para la adquisición de conocimiento. En este tipo de aprendizaje se asocia un estímulo con una respuesta. Dentro de este tipo de aprendizaje se incluyen al condicionamiento clásico y al condicionamiento instrumental.

El condicionamiento clásico. También es llamado Pavloviano, ya que fue el fisiólogo ruso Iván Pavlov (Thompson, 1993), quien hizo los primeros estudios sistemáticos acerca de este fenómeno. Este tipo de aprendizaje se establece asociando un estímulo neutro, que no produce respuestas reflejas específicas, llamado "estímulo condicionado" (EC), con un estímulo que puede producir una respuesta refleja específica, llamado "estímulo incondicionado" (EI); a la respuesta refleja producida por el EI se le llama "respuesta incondicionada" (RI). Después de un cierto número de asociaciones, el EC es capaz de producir, por sí solo, la respuesta refleja, que en este caso recibe el nombre de "respuesta condicionada" (RC). Como puede verse, el condicionamiento clásico involucra la asociación de dos estímulos (EC + EI). El aprendizaje (cambio en la conducta) consiste en que el sujeto da una respuesta (RC) que antes no era producida por el EC.

El condicionamiento instrumental. También llamado condicionamiento operante, es una forma de aprendizaje que implica la asociación entre una

conducta y un reforzador. Un reforzador es un estímulo generalmente agradable o placentero, o la ausencia de un estímulo desagradable, que aumenta la probabilidad de ocurrencia de la conducta a la que sigue. Lo que el sujeto aprende en el condicionamiento instrumental es que en una situación particular una determinada conducta tendrá consecuencias positivas; una rata hambrienta presiona una palanca (respuesta instrumental) para obtener comida (reforzador). Otro ejemplo de este tipo de condicionamiento es la prevención activa, en la que la conducta impide la presentación de un evento aversivo (por ejemplo, un choque eléctrico). Al igual que en el condicionamiento clásico, en el instrumental se requiere contingencia entre la conducta y el reforzador, y la asociación entre ellos suele producirse gradualmente, con los ensayos sucesivos. Asimismo, el retiro del reforzador origina la disminución progresiva y la desaparición o extinción de la conducta instrumental. Es decir, si la rata no obtiene comida deja de presionar la palanca (Morgado, 1998).

Al igual que el aprendizaje, la memoria también ha sido clasificada en diferentes tipos, tomando en cuenta el tipo de información que en cada una de ellas se evoque.

TIPOS DE MEMORIA

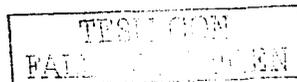
En general, se entiende por memoria el almacenamiento de información. Donald Hebb, en su libro *La Organización de la Conducta* (1949; citado por Ruiz-Vargas, 1994), sugirió la necesidad de asumir dos sistemas de memoria: uno de corto plazo, cuya base fisiológica estaría en la actividad de los circuitos neuronales reverberantes y otro de largo plazo, que implicaría un cambio estructural

permanente en el sistema nervioso. Pero fue hasta mediados de 1960, cuando empezó a acumularse evidencias a favor de la existencia de estos dos sistemas de memoria (Eichenbaum et al., 1999; Ruiz-Vargas, 1994).

La Memoria de Corto Plazo

Es el sistema que retiene la información sólo temporalmente mientras es transferida a un almacén más estable, o bien es borrada del sistema. Este tipo de memoria aparece en la propuesta original de W. James bajo el nombre de "Memoria Primaria". El término "memoria inmediata" descrita por los neurólogos se refiere al mismo fenómeno (Squire, 1987).

Hay varias formas de memoria de corto plazo. Existe un tipo de memoria de corto plazo muy breve para los fenómenos visuales llamada memoria icónica, debida probablemente a la permanencia corta de una imagen visual en la retina seguida del estímulo visual. Si a una persona se le muestran brevemente una matriz de pocos números o letras podrá recordar los elementos específicos de la matriz, pero a diferencia de la mayoría de otros aprendizajes la exactitud del recuerdo disminuye rápidamente, en pocos segundos. La imagen visual en la retina depende del proceso fotoquímico en la misma. Así, una memoria de corto plazo parece ser codificada por un cambio físico transitorio en el receptor secundario. Pero una memoria de corto plazo ligeramente mayor (minutos u horas) puede ser mediada por cambios plásticos en la transmisión sináptica, tales como una potenciación postetánica y una inhibición presináptica. Otro posible mecanismo para codificar la memoria de corto plazo es el almacenamiento de la información en una forma de actividad neural continua que se mantiene por

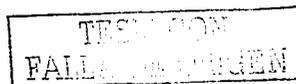


conexiones retroalimentadoras entre neuronas. Esta actividad puede reverberar dentro de un circuito cerrado de neuronas y puede ser sostenida por un cierto período. La idea del circuito reverberante es interesante porque no involucra ningún cambio físico duradero en la célula nerviosa; así la memoria de corto plazo es mantenida simplemente por la actividad nerviosa continua (Kupfermann, 1991).

La memoria de trabajo. Este tipo de memoria está considerada dentro de la memoria de corto plazo. Es usada para tener información "en línea de servicio" semejante a actividad cognitiva como la comprensión, el razonamiento y la resolución de problemas. Los estudios con pacientes amnésicos revelan que la habilidad para recordar una lista pequeña de dígitos permanece inalterada (Eichenbaum et al., 1999).

La Memoria de Largo Plazo

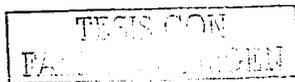
Es un sistema para almacenar una gran cantidad de información en forma más o menos permanente, y es poco susceptible a la interferencia. El proceso por el que la memoria de corto plazo se convierte en memoria de largo plazo ha sido denominado consolidación de la memoria. Una vez consolidadas, las memorias son relativamente estables, pero el proceso mismo de consolidación parece ser gradual y la memoria de largo plazo suele presentar grados crecientes de estabilidad a medida que pasa el tiempo, así como con la repetida evocación de la información almacenada (Morgado, 1998). La memoria de largo plazo está relacionada con cambios plásticos más que dinámicos, como cambios funcionales persistentes en el cerebro. Un experimento simple puede distinguir entre estas dos alternativas. Si la actividad neuronal es detenida temporalmente, la memoria



representada por mecanismos dinámicos, como los circuitos reverberantes quedaría permanentemente abolida. La actividad neuronal puede ser disminuida por la anestesia profunda, o por anoxia. Cuando esto sucede los recuerdos recientes se pierden pero no los recuerdos anteriores. Se cree que los recuerdos viejos no son mediados por cambios dinámicos sino que involucran cambios físicos en el cerebro (Kupfermann, 1991).

Los datos sobre la amnesia en humanos han sugerido que es necesaria una clasificación de la memoria de largo plazo. De acuerdo con los resultados obtenidos esta memoria podría clasificarse en memoria declarativa y de procedimiento (Squire, 1987).

La Memoria Declarativa. Es a la que se puede acceder por medio de un recuerdo consciente y puede ser declarada verbalmente. Existe una relación entre los hechos y los datos que son adquiridos por medio del aprendizaje, este tipo de memoria se deteriora en la amnesia. La memoria declarativa ha sido explorada a través de los efectos de lesiones del lóbulo temporal o del diencefalo. Estas lesiones interfieren principalmente con la retención de nuevas memorias y tienen poco efecto sobre la memoria añeja. Estas estructuras no son en sí mismas bancos de memoria, sino que están involucradas de alguna manera en el proceso por medio del cual los recuerdos son colocados dentro del almacén o son recuperados. Penfield (citado por Kupfermann, 1991) estimuló eléctricamente los lóbulos temporales de pacientes conscientes. Los pacientes reportaron experiencias vívidas de eventos pasados. En otro experimento en los que se estimuló el giro medial temporal se obtuvo una breve amnesia anterógrada y



retrograda. Dependiendo de la duración de la estimulación la amnesia retrógrada se extendía por varias horas o varios días y podía recuperarse en pocos minutos o varias horas (Kupfermann, 1991).

La memoria episódica. Es una recolección explícita de incidentes individuales que ocurrieron en un tiempo y espacio determinados. En el laboratorio, los investigadores intentan medir este tipo de memoria preguntando a las personas acerca de información adquirida en un tiempo y un lugar determinados, en el pasado. El daño en la parte media de los lóbulos temporales, incluyendo la formación hipocampal, produce grandes deterioros en la adquisición de nuevas memorias episódicas (Eichenbaum et al., 1999).

La memoria episódica es dependiente del contexto, es decir, que los recuerdos de experiencias personales van normalmente unidos al contexto temporal y espacial en que tales experiencias se han vivido, de forma que, por ejemplo, volver a un lugar que hace tiempo no hemos visitado reactiva en nuestra memoria experiencias a él ligadas que quizá creíamos haber olvidado. Este tipo de memoria se adquiere en un solo ensayo. Datos en pacientes humanos con daño en el hipocampo, muestran un deterioro mayor en las tareas de tipo episódico que semántico (Vargha-Khadem et al., 1997).

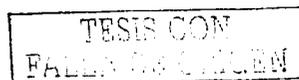
La memoria semántica. Este tipo de memoria se refiere al conocimiento general de los hechos y conceptos que no están relacionados con un tiempo y espacio particulares. Los pacientes amnésicos tienen gran dificultad para adquirir vocabulario y conocimientos factuales nuevos, aunque pueden adquirir nuevos conocimientos semánticos cuando la información es repetida. Al parecer la

adquisición de nuevas memorias semánticas y episódicas depende de la integridad de los lóbulos temporomediales (Kupfermann, 1991). La información de tipo semántico suele ser independiente del contexto en que se ha adquirido y tiene un carácter más abstracto y general, es resultado de la repetición y la acumulación progresiva de información.

La Memoria de Procedimiento

Se refiere a la adquisición de habilidades y hábitos; este tipo de memoria es adquirido gradualmente a través de la práctica. Los estudios con pacientes amnésicos con incapacidad para recordar experiencias pasadas pueden adquirir gradualmente habilidades motoras y cognitivas y hábitos que incluyen la categorización y la clasificación. Estos resultados muestran claramente que la memoria de procedimiento no depende de las estructuras del lóbulo temporal que están dañadas en los pacientes amnésicos. Se sugiere que este tipo de memoria dependa del sistema corticoestriatal; pacientes con enfermedad de Huntington, en la cual se presenta daño en los ganglios basales, tienen dificultades para adquirir nuevas habilidades motoras, pero mantienen relativamente intacta la memoria implícita, patrón opuesto al que presentan los pacientes amnésicos (Eichenbaum et al., 1999).

Cualquiera que sea su naturaleza, es claro que los trazos de la memoria de diferentes tipos de aprendizajes no están en una sola estructura cerebral. Por otro lado, se ha observado que una misma estructura puede presentar heterogeneidad funcional: tal es el caso del cuerpo estriado y la amígdala.



HETEROGENEIDAD FUNCIONAL DE ALGUNAS ESTRUCTURAS SUBCORTICALES

Existen evidencias experimentales sobre la heterogeneidad funcional de algunas estructuras subcorticales. Dicha heterogeneidad se refiere al comportamiento diferenciado de alguna región específica, respecto de otra, de una misma estructura ante un evento determinado. Se tiene datos sobre la heterogeneidad funcional de la amígdala (Roozendaal y McGaugh 1996; Quirarte et al. 1997), sobre la diferenciación funcional del estriado (Neill y Grossman, 1970; Prado-Alcalá et al., 1980; Quirarte, 1991; Salado-Castillo et al., 1996) y sobre la heterogeneidad funcional del hipocampo (Ambrogi Lorenzini et al, 1997; Hock y Bunsey, 1998; Moser y Moser, 1998; Bannerman et al., 1999; Ferbinteanu y McDonald, 2001). A continuación se abunda sobre estos reportes.

El Estriado

Los resultados de una serie de experimentos demuestran que existe heterogeneidad funcional en el estriado con respecto a los diferentes procesos de la memoria. Neill y Grossman (1970) realizaron pequeñas lesiones en la porción dorsal del caudado o en la porción ventral del mismo y observaron deterioro en la adquisición de una tarea de evitación activa que consistía en que la rata evitará un choque eléctrico en las patas pasando al compartimiento en el que no había choque . Resultados similares se observaron cuando administraron escopolamina (anticolinérgico) en la porción dorsal del caudado. Por el contrario en la porción ventral la administración del anticolinérgico facilitó la adquisición. Utilizando una



prueba de evitación inhibitoria y administrando atropina (antagonista muscarínico) en las porciones anterior y posterior del núcleo caudado de ratas, se observó que sólo los animales con administración en la parte anterior del caudado presentaron déficit en la ejecución de la tarea (Prado-Alcalá et al., 1980).

Utilizando la misma tarea, administrando atropina y explorando una regionalización más específica de esta estructura, Quirarte (1991) encontró que el bloqueo anticolinérgico produce un deterioro cuando es administrado en las regiones ventral anterior y dorsal anterior, pero no hubo efecto en las regiones posteroventral y posterodorsal.

En otro estudio, utilizando el mismo paradigma, se les administró a las ratas en diferentes regiones del estriado una inyección de picrotoxina después del entrenamiento. El deterioro de la retención fue mayor cuando la inyección se aplicó en las regiones posterior y lateral que en las regiones anterior y medial. Estos resultados evidencian la heterogeneidad neuroquímica del estriado y la participación GABAérgica estriatal en la consolidación de la memoria (Salado-Castillo et al., 1996).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro1. Resumen de los efectos de lesión y tratamientos en diferentes regiones del núcleo caudado

Tarea	Región	Tratamiento	Resultados	Autores
Evitación activa	Dorsal	Escopolamina	Deterioro	Neill y Grossman, 1970
		Lesión	Deterioro	
	Ventral	Escopolamina	Facilitación	
		Lesión	Deterioro	
Evitación inhibitoria	Anterior	Atropina	Deterioro	Prado-Alcalá y Cols., 1980
	Posterior	Atropina	Sin efecto	
Evitación inhibitoria	Ventral anterior	Atropina	Deterioro	Quirarte, 1991
	Dorsal anterior	Atropina	Deterioro	
	Dorsal posterior	Atropina	Sin efecto	
Evitación inhibitoria	Lateral posterior	Picrotoxina	Deterioro mayor	Salado-Castillo y cols., 1996
	Medial anterior	Picrotoxina	Deterioro	

La Amígdala

Otra estructura que presenta heterogeneidad funcional es la amígdala. Roozendaal y McGaugh (1996), utilizando una prueba de evitación inhibitoria encontraron que la lesión con ácido iboténico en el núcleo central, produce deterioro en la retención de la prueba, pero cuando la lesión se produce en el núcleo medial de la amígdala no se observa amnesia. En el mismo estudio se reporta que la lesión con n-metil de aspartato (NMDA) en el núcleo basal no produce deterioro en la retención de la tarea. En otro estudio (Quirarte et al., 1997) se observó que la administración de bloqueadores adrenérgicos administrados en el núcleo basolateral de la amígdala produce amnesia en una prueba de evitación inhibitoria, no así cuando las mismas sustancias se administran en el núcleo

central de dicha estructura. Estas evidencias sugieren una heterogeneidad funcional de la amígdala.

Cuadro 2. Resumen de los efectos de tratamientos en diferentes regiones de la amígdala

Tarea	Región	Tratamiento	Resultados	Autores
Evitación inhibitoria	Núcleo central	Ácido iboténico	Deterioro	Roozendaal y McGaugh, 1996
	Núcleo medial		Sin efecto	
	Núcleo basal	N-metil de aspartato	Sin efecto	
Evitación inhibitoria	Núcleo basolateral	Propanolol Entenolol Zinterol	Deterioro	Quirarte et al., 1997
	Núcleo central	Propanolol Entenolol Zinterol	Sin efecto	

LA FORMACIÓN HIPOCAMPAL

Como se verá más adelante, el interés central de esta tesis es determinar: a) si la actividad normal del hipocampo es necesaria para la adquisición de un aprendizaje particular (la evitación inhibitoria), y b) si existe una diferenciación funcional dentro del hipocampo en la adquisición de este aprendizaje. Por lo tanto, es menester presentar una breve descripción de aspectos relacionados con la anatomía de esta estructura, así como con su participación en procesos de aprendizaje y memoria.

En la rata, la formación hipocampal (Fig. 1) es una estructura bilateral alargada, con el eje mayor en forma de "C" que se localiza rostródorsalmente desde el núcleo septal del cerebro anterior, sobre y detrás del diencéfalo y caudoventralmente hacia el lóbulo temporal. El eje mayor es referido como el eje septotemporal (con el polo septal localizado rostralmente), y el eje ortogonal es referido como el eje transverso. En diferentes niveles septotemporales se pueden observar los diferentes campos que conforman esta estructura; por ejemplo en el extremo septal sólo se pueden observar los campos CA1, CA3 y el giro dentado. El subículo, el presubículo y el parasubículo aparecen en niveles más temporales y la corteza entorrinal se localiza ventralmente (Amaral y Witter, 1995).

El término formación hipocampal incluye seis regiones diferentes: el giro dentado, el propio hipocampo (el cual está dividido en los campos CA1, CA2 y CA3), la corteza entorrinal, el parasubículo, el presubículo y el subículo. Estas tres últimas estructuras están comprendidas en el complejo subicular.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

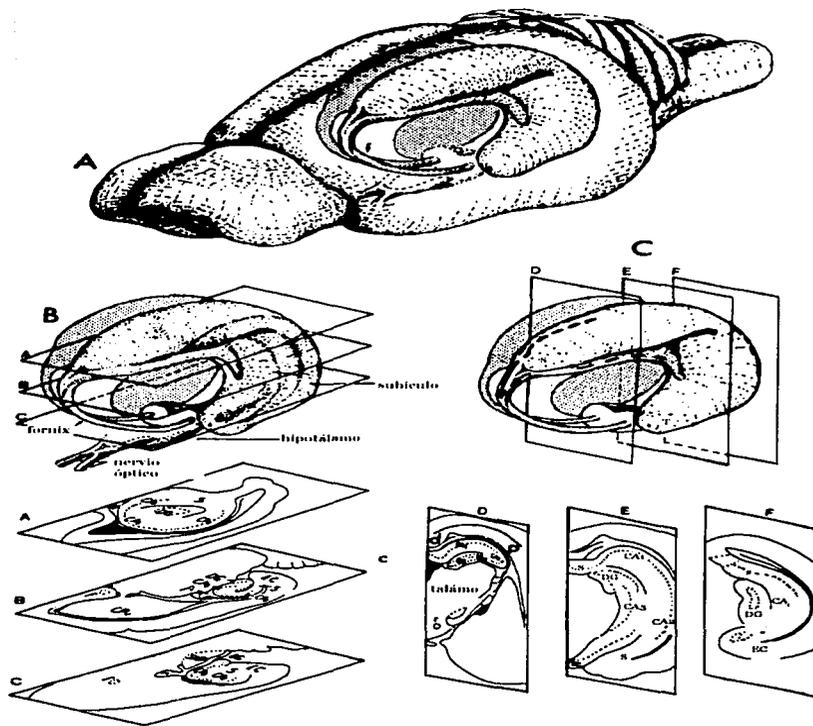
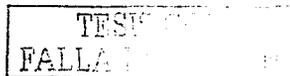


FIGURA 1. A) Localización del hipocampo en el cerebro de la rata. B) Secciones horizontales a diferentes nivel dorsoventral. C) Superficie de la formación hipocámpal fuera del cerebro. Tres cortes coronales a diferente nivel rostrocaudal (D,E,F). Polo setal, (S), temporal (T), CA1, CA2 y CA3 del hipocampo, Cpu, caudado putamen; GD giro dentado; fi, fimbria; S, subículo. (Tomado de Amaral y Witter, 1995).

La justificación principal para incluir estas regiones en la formación hipocampal es que están unidas, una con otra, por proyecciones unidireccionales; en otras estructuras las conexiones recíprocas son las más comunes. La corteza entorrinal recibe información procesada de un amplio espectro de modalidades sensoriales desde áreas de asociación multimodal. La información fluye en forma casi unidireccional de la corteza entorrinal hacia el giro dentado, hacia el hipocampo, hacia el subículo y regresa a la corteza entorrinal antes de retornar a las mismas áreas sensoriales donde se presentó originalmente (Gluck y Myers, 1997).

Se conoce como "vía perforante" la proyección que la corteza entorrinal envía hacia el giro dentado. Esta proyección no es recíproca, ninguna de las células del giro dentado envían proyecciones hacia la corteza entorrinal. Las células granulares dentadas proyectan sus fibras musgosas hacia el campo CA3. Aunque algunas células del CA3 contribuyen con axones colaterales hacia la profundidad de la placa polimorfa del giro dentado, estos axones no inervan a las células granulares. Forman otro patrón unidireccional similar de conexiones intrínsecas mayores, las eferencias que van del CA3 al CA1 y del CA1 al subículo. La presencia de esta cascada de conexiones unidireccionales es el criterio principal para incluir estas estructuras en la formación hipocampal (Figura 2).

La principal entrada cortical hacia esta formación surge de la corteza perirrinal adyacente y termina principalmente en la corteza entorrinal. La proyección perirrinal-entorrinal no conforma un patrón unidireccional porque la corteza entorrinal contribuye con una proyección de regreso hacia la corteza



perirrinal. A pesar de este cierre funcional con la formación hipocampal, la corteza perirrinal no se incluye dentro de esta formación.

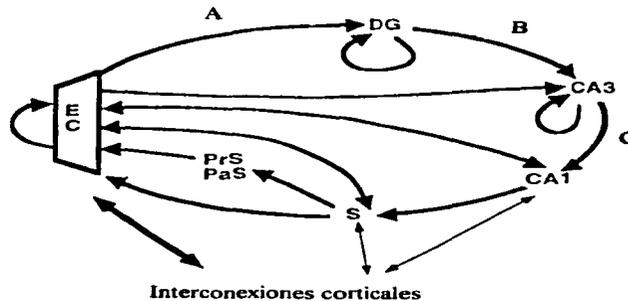


FIGURA 2. Conexiones intrínsecas en la formación hipocampal de la rata. A) vía perforante, B) fibras musgosas, C) colaterales de Schaffer, CA1 hipocampo dorsal, CA3, hipocampo ventral, S, subículo, GD, giro dentado, EC, corteza entorrinal, Pr, presubiculo, Pa, parasubiculo (Tomado de Amaral y Witter, 1995)

El hipocampo

En 1911 Santiago Ramón y Cajal (citado por Witter, 1989) dividió al hipocampo propiamente dicho en dos regiones: la proximal o inferior y la distal o superior. Posteriormente Lorente de Nó en 1934 (citado por Amaral y Witter, 1995) propuso dividir al hipocampo en tres campos diferentes, los cuernos de Ammon: el CA1, CA2, y CA3; esta división se debe a los diferentes tamaños de las células piramidales y además a las conexiones de estos campos. Las células piramidales

del CA3 reciben fibras musgosas del giro dentado, pero no las células piramidales del CA1. Por otro lado, el CA2 es una zona estrecha de células interpuestas entre el CA3 y el CA1, los cuerpos celulares de este campo son largos, semejantes a los del CA3 pero no reciben inervación de las fibras musgosas del giro dentado (Amaral y Witter, 1995).

El tipo principal de células del hipocampo son las neuronas piramidales (Fig. 3), estas células tienen un árbol dendrítico basal que se extiende hacia el stratum oriens y un árbol dendrítico apical que se extiende hacia la fisura hipocampal. El árbol dendrítico de las células piramidales del CA3 es largo; por el contrario, el árbol dendrítico de las células piramidales del CA1 es corto. Este tipo celular junto con las células granulares (propias del giro dentado) representan el 90% de las neuronas de esta estructura, el otro 10% son interneuronas GABAérgicas (Vizi y Kiss, 1998).

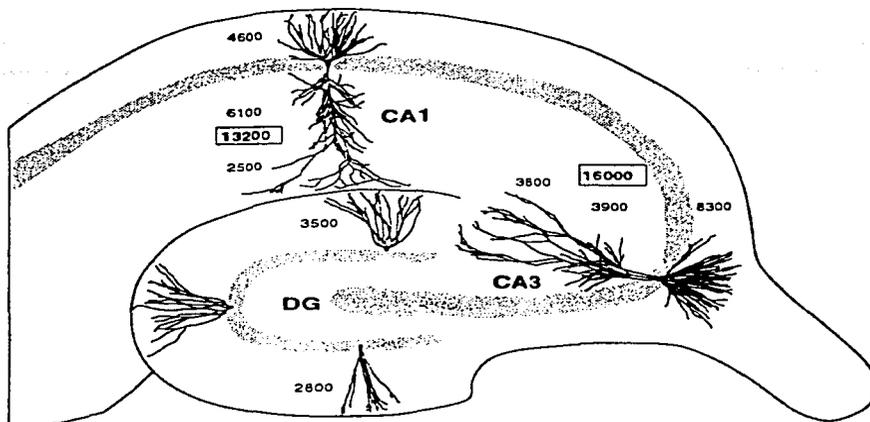


FIGURA 3. Tamaño y forma de las células piramidales de los campos CA1 y CA3 y de las células granulares del giro dentado. Los números localizados cerca de las células granulares del giro dentado indican la longitud dendrítica total. Los números en las cajas indican la longitud dendrítica total de las células piramidales y los números pequeños indican la longitud dendrítica total del stratum oriens, stratum radiatum o del stratum lacunosum moleculare. (Tomado de Amaral y Witter, 1995).

Boss et al., (1987) reportaron la existencia de diferencias significativas en el número total de células piramidales tanto en el CA1 como en el CA3 entre ratas de las cepas Sprague-Dawley y Wistar. Utilizando el método de inclusión en parafina determinaron que en el CA1, el promedio de células piramidales es de 420 mil y de 320 mil respectivamente, en el CA3 encontraron la misma tendencia: 330 mil y 210 mil para cada una de las cepas mencionadas.

Las células piramidales del CA3, envían axones que distribuyen fibras dentro de los campos del hipocampo y hacia los otros campos del hipocampo contralateral (proyección comisural) y hacia el núcleo septal lateral.

Las células piramidales del CA3, principalmente aquellas que se localizan proximalmente en el campo, y las células del CA2 envían proyecciones hacia la placa polimorfa del giro dentado. No está esclarecido si el CA3 envía proyecciones hacia el complejo subicular o hacia la corteza entorrinal. Por otro lado, las proyecciones del CA3 hacia el CA1 se conocen como colaterales de Schaffer. En el CA3 se localiza, por encima de la capa de células piramidales, una capa delgada casi sin células ocupada por axones de fibras musgosas del giro dentado llamada stratum lucidum. Una segunda capa es el stratum radiatum que se localiza directamente sobre las células del CA2 y superficial al stratum lucidum del CA3, la capa más superficial que se localiza sobre el stratum radiatum se conoce como stratum lacunosum molecular (Amaral y Witter, 1995).

En la parte profunda de la placa de células piramidales de encuentra el stratum oriens y por debajo de éste el alveus. Sobre las células piramidales del CA3 se localizan axones de las células musgosas que provienen del GD, a esta estrecha zona se le conoce como stratum lucidum. En su extremo distal las fibras musgosas se doblan formando un "bulbo final" que marca el borde entre el CA3 y el CA2. Superficial a esta capa del CA3 y directamente sobre la capa de células piramidales del CA2 y del CA3 se localiza el stratum radiatum. En esta región suprapiramidal se localizan las conexiones de asociación del CA3 al CA3 y las colaterales de Schaffer del CA3 al CA1. La capa más superficial se conoce como stratum lacunosum molecular; en esta capa se encuentra la vía perforante que

proviene de la corteza entorrinal. Las células piramidales del CA3 envían proyecciones hacia el CA3, CA2 y CA1 tanto ipsilateral como contralateral (proyección comisural) y al núcleo septal lateral.

El hipocampo en los procesos de memoria

El hipocampo junto con las estructuras asociadas del lóbulo temporal medial (que colectivamente se llaman sistema hipocampal) juegan un papel crítico en la memoria. Este hecho es conocido desde que en 1957 Scoville y Milner (citado en Eichenbaum et al.,1992) reportaron el caso HM. Sin embargo desde los primeros reportes sobre este paciente y otros pacientes amnésicos, fue evidente que el sistema hipocampal no tiene un papel relevante en todos los tipos de memoria y además, los datos por sí mismos no permiten una conclusión acerca del papel del hipocampo en dicho proceso (Eichenbaum et al.,1992).

Dada la dificultad para trabajar con pacientes con lesiones circunscritas a la formación hipocampal se ha tenido que emplear especies animales como monos y ratas, principalmente, para explorar la participación del hipocampo en los procesos de memoria.

Para este tipo de estudios las neurotoxinas químicas han sido ampliamente usadas por los neurobiólogos como herramientas para el estudio de los mecanismos básicos de regulación de la función neuronal en el ámbito celular, molecular, neuroquímico y conductual. Han sido muy útiles en la creación de modelos animales de enfermedades humanas neurodegenerativas (Sirinathsinghji, 1991).

Olney (citado por Winn, 1991) introduce los términos excitotoxina y excitotóxica, que describe la acción neurotóxica de los aminoácidos como el glutamato y el aspartato, y más particularmente de análogos estructurales del glutamato como el ácido kaínico. Un ejemplo muy conocido es la neurotoxina catecolaminérgica 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que ha sido ampliamente usada en la rata para destruir neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra compacta y producir un modelo animal de la enfermedad de Parkinson, la cual se caracteriza por una disminución de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta (Winn, 1991).

El ácido kaínico es una neurotoxina exógena y es un análogo estructural del glutamato, se emplea para producir lesiones selectivas en el sistema nervioso central, por esta propiedad el ácido kaínico ha sido utilizado ampliamente en investigaciones sobre neurotransmisión, en cuadros experimentales de enfermedades neurodegenerativas y en epilepsia experimental (Chen et al., 2002; Shih et al., 2002; Kondratyev y Gales, 2000; ; Nadler et al., 1980; Nadler, 1979). Los receptores a glutamato se clasifican en tres grupos: los receptores tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), los no NMDA conocidos como AMPA-kainato (α amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasolpropionato) y los receptores metabotrópicos, los receptores tipo NMDA y no NMDA son canales iónicos sensibles a ligando, los primeros son canales de Ca^{++} y los segundos son canales de Na^+ (Nakanishi, 1992; Rodríguez-Moreno et al., 2000). Datos experimentales sugieren que los receptores metabotrópicos facilitan y los tipo NMDA inhiben los mecanismos de aprendizaje en el hipocampo (Alvarez y Banzan. 1999). Estos dos tipos de

receptores al glutamato están relacionados con la muerte neuronal debido a su alta permeabilidad al Ca^{++} . Existen evidencias de que altas concentraciones de Ca^{++} intracelular activa enzimas proteolíticas y lipolíticas que conducen a la muerte neuronal (Choi, 1992; Sattler y Tymianski, 2001). Por otro lado, se sugiere que puede existir sinergismo entre el Ca^{++} y el ON (óxido nítrico) para producir una disfunción mitocondrial y un deterioro en la homeostasis del Ca^{++} durante la excitotoxicidad (Keelan et al., 1999).

A continuación se expone una serie de experimentos en los cuales se utilizan lesiones obtenidas con diferentes métodos, así como la administración de diferentes compuestos químicos que intervienen en el funcionamiento neuronal hipocámpico.

Nadel (1968) realizó una serie de experimentos en los cuales lesionó ratas con corriente directa en el hipocampo dorsal y en el hipocampo ventral, y sometió a los animales a tareas de prevención activa de una vía y a prevención pasiva. Los resultados indican que la lesión en el hipocampo dorsal produce un déficit en la adquisición de la tarea mientras que la lesión en el hipocampo ventral no produce tal déficit. En cuanto a la prevención pasiva no se encontró efecto sobre la ejecución de la tarea de los animales con lesión en ambas regiones del hipocampo. Realizando una ablación bilateral del hipocampo dorsal y entrenado a las ratas en evitación pasiva Cogan y Reeves (1979), encontraron que los sujetos tienen buena ejecución sólo después de tres ensayos consecutivos.

Mucha información está disponible acerca de la influencia de las lesiones globales en el hipocampo sobre el aprendizaje y la memoria; sin embargo el efecto de lesiones discretas en diferentes regiones del hipocampo sobre estas funciones,

se conoce poco. Stublely-Weatherly et al. (1996), lesionaron ratas con ácido kaínico en tres regiones diferentes del CA1 y tres regiones diferentes del CA3. Los animales fueron entrenados en una tarea de orientación espacial utilizando un laberinto acuático y en una tarea de evitación pasiva. Los resultados indican que tanto la región CA1 como la CA3 juegan un papel importante en los dos tipos de aprendizajes.

Con el objeto de contribuir al esclarecimiento del papel de la formación hipocampal en aprendizajes no espaciales Sutherland et al., (1989) lesionaron ratas con una mezcla de colchicina y ácido kaínico y las entrenaron en una tarea de no igualación a la muestra, de igualación a la muestra y en el laberinto acuático. Los autores concluyen que la formación hipocampal es esencial para el aprendizaje que involucra una relación configuracional entre las señales, independientemente si la tarea es de tipo espacial o no.

La actividad enzimática del hipocampo dorsal también ha sido explorada; cuando se administra en forma bilateral inmediatamente después del entrenamiento el KN62, que es un inhibidor específico de la calmodulina/ Ca^{++} dependiente de la proteína cinasa II (CaMII), enzima que tiene un papel fundamental en las fases iniciales de la potenciación de largo plazo, se produce una amnesia retrógrada en ratas que han sido entrenadas en una tarea de evitación inhibitoria. Los resultados de este trabajo sugieren que en la fase inicial de la memoria se requiere la actividad de la CaMII en el hipocampo y apoya la hipótesis de que la memoria involucra la potenciación de largo plazo (Wolfman et al., 1994).

Además se ha estudiado el papel del óxido nítrico (ON); se encontró que si se infunde en el giro dentado prusiato de sodio, que es un precursor del ON, la ejecución de la tarea de evitación inhibitoria mejora; por el contrario, si se bloquea la enzima responsable de la síntesis del NO, la ejecución se deteriora. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que el NO hipocampal esta involucrado en los procesos de memoria (Huang y Lee, 1995).

Otra enzima que también parece ser necesaria en la participación del NO en los procesos mnémicos, es la óxido-nítrico sintetasa, responsable de la síntesis del NO, ya que la administración del bloqueador N-nitroarginina (N-Arg) produce amnesia retrógrada, cuando se administra en el hipocampo dorsal y se emplea una tarea de evitación inhibitoria (Fin et al., 1995). Se ha descrito que el bloqueo es eficiente 10 minutos antes o inmediatamente después del entrenamiento (Bernabeu et al., 1995). Otros sustratos químicos que se han estudiado son los nucleótidos cíclicos GMPc y el AMPc; cuando se administra bilateralmente el 8-BrGMPc inmediatamente después del entrenamiento se aumenta la retención, pero no sucede lo mismo cuando se administra a los 180 minutos. Además la cantidad de GMPc y AMPc hipocampales están aumentadas a los 0 y a los 30 minutos después del entrenamiento para el primero, y a los 30 y 180 minutos para el segundo, por lo que se sugiere que estos mediadores químicos tienen un papel regulador en la memoria de largo plazo (Bernabeu et al., 1996).

Rubin et al., (1996) encontraron que la administración de GMP en el CA1 hipocampal revierte la facilitación que produce el glutamato, empleando el paradigma de evitación inhibitoria, apoyando la hipótesis de que el sistema glutamatérgico hipocampal participa en los procesos de memoria. Numerosas



evidencias apoyan esta hipótesis (Blachin et al., 1993; Izquierdo et al., 1993; Jerusalinsky et al., 1992; Walker y Gold, 1991).

Por otro lado, la administración bilateral de tetrodotoxina (TTX) en el hipocampo dorsal produce una deficiencia significativa en la retención de la tarea de evitación inhibitoria cuando se administra 25 ó 90 minutos después de la sesión de adquisición, pero no hay déficit en la ejecución cuando la infusión se realiza 6 horas después. En ambos casos la retención se midió 48 horas después del entrenamiento, lo que implica que la consolidación de la información aprendida se realizó entre los 90 minutos y 6 horas (Ambrogio Lorenzini et al., 1996).

También existen evidencias experimentales sobre la participación del hipocampo en el aprendizaje y la memoria de tareas espaciales (Hollup et al., 2001; Steffenach et al., 2001; Farr et al., 2000) y se ha observado cierta heterogeneidad funcional de la región dorsal con respecto a la región ventral, en este mismo tipo de tareas. En general se sugiere que el hipocampo dorsal tiene un papel determinante en la memoria espacial, no así la región ventral (Bannerman et al., 1999; Richmond et al., 1999; Hock y Bunsey, 1998; Moser y Moser, 1998; Moser et al., 1993).

Este conjunto de datos apoya la hipótesis de que el hipocampo es una estructura necesaria para la retención de largo plazo de la información derivada de una experiencia de aprendizaje. Sin embargo, a la fecha no existen datos experimentales que permitan saber si las deficiencias en la retención de largo plazo, producidas por lesiones electrolíticas o neurotóxicas del hipocampo se deban a una interferencia con la adquisición de la información, con la memoria de corto plazo o con la salida o recuperación de la información almacenada.

Desde el punto de vista neurohistológico, es bien sabido que hay un arreglo espacial tal que las neuronas del CA1 y las neuronas del CA3 se comunican entre sí a través de axones colaterales, y que todas las porciones del CA3 envían proyecciones hacia el CA1 (Amaral y Witter, 1995). A pesar de este conocimiento, no se ha determinado si a la par con esta disposición topográfica existe una correspondencia funcional, es decir, no se sabe si con respecto a la memoria, las dos regiones hipocámpicas (dorsal y ventral) deben estar activas para que se realicen las funciones mnémicas. El hecho de que la lesión del hipocampo dorsal o la del ventral, por sí sola, produzca deficiencias en la retención de largo plazo, no implica que necesariamente estas regiones estén involucradas en la adquisición de información o aprendizaje.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prueba de evitación inhibitoria ha sido ampliamente utilizada para estudiar procesos de memoria en los que participa el hipocampo (Stubley-Weatherly et al., 1996; Wolfan et al., 1994; Huang y Lee, 1995; Fin et al., 1995). Se han observado deficiencias en la ejecución de esta tarea cuando se interfiere con la actividad del hipocampo dorsal o del ventral, poco después del entrenamiento o antes de probar la retención (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997; Izquierdo et al., 1997; Stubley-Weatherly et al., 1996; Szapiro et al., 2000). Lo mismo se ha observado cuando la interferencia de estas dos regiones se produce antes del entrenamiento (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997; Black et al., 1977; Cogan y Reeves, 1979). Este último resultado se ha tomado como una

sólida evidencia de que ambas regiones del hipocampo están involucradas en la adquisición o aprendizaje de esta tarea (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997).

Por otro lado, el hecho de que los animales lesionados no ejecuten la tarea de evitación no quiere decir, necesariamente, que no la hayan adquirido o aprendido. Otras interpretaciones son igualmente válidas. Por ejemplo, la lesión pudo haber dejado intacta la adquisición, pero pudo haber interferido con la consolidación o la recuperación de la información almacenada. En virtud de las importantes implicaciones de estas interpretaciones contrastantes, para la comprensión de las funciones del hipocampo, en esta tesis probamos si las lesiones del hipocampo dorsal y del ventral, producidas antes del entrenamiento, interfieren con la adquisición de la evitación inhibitoria. El razonamiento detrás de esta indagación es que si las ratas lesionadas fuesen capaces de mostrar memoria de corto plazo, entonces fueron capaces de aprender, independientemente de que puedan o no mostrar retención a largo plazo.

Otra vertiente de interés en este trabajo es averiguar si se presenta heterogeneidad funcional entre el hipocampo dorsal y el hipocampo ventral en la tarea de evitación inhibitoria, es decir, si una de estas regiones es más importante que la otra para la adquisición de la tarea, ya que dicha diferencia funcional se ha observado en tareas de tipo espacial (Bannerman et al., 1999; Richmond et al., 1999; Hock y Bunsey, 1998; Moser y Moser, 1998; Moser et al., 1993).

OBJETIVOS

De los antecedentes que se discutieron se desprenden los siguientes objetivos:

1. Determinar si la lesión del hipocampo dorsal impide la adquisición de la tarea de evitación inhibitoria.
2. Determinar si la lesión del hipocampo ventral impide la adquisición de la tarea de evitación inhibitoria.

HIPÓTESIS: Las hipótesis particulares que se probarán en esta tesis serán presentadas en los apartados correspondientes, en cada uno de los dos experimentos que fueron realizados.

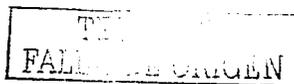
MÉTODO GENERAL

Animales

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar, provenientes del Bioterio del Centro de Neurobiología de la UNAM, de 250 a 350 gramos de peso, que fueron mantenidas en cajas individuales de acrílico (45 X 25 X 21 cm) con libre acceso al agua y alimento (Purina Rat Chow), con ciclos de luz-oscuridad de 12 x 12 horas, con inicio a las 7:00 am.

Lesión

Para proceder a la lesión bilateral de la región elegida, cada animal fue anestesiado con pentobarbital sódico (Sedalphorte) con una dosis de 45 mg/kg de peso por vía intraperitoneal. Posteriormente se afeitó la parte superior del cráneo y el animal se fijó al aparato estereotáxico (Stoelting 620). Una vez fijado se expuso



el cráneo por medio de una incisión longitudinal de aproximadamente 2 cm sobre la piel de la cabeza. Se removió el periostio para localizar los puntos de referencia estereotáxica bregma y lambda. Posteriormente, con un taladro se realizaron dos orificios en el cráneo a través de los cuales se introdujeron los inyectores, los cuales fueron elaborados con agujas dentales cortas del calibre 30. El sitio de colocación de los inyectores se eligió de acuerdo a las coordenadas dadas en el atlas del cerebro de rata de Paxinos y Watson (1982):

hipocampo dorsal: A-P = -4.3, L = \pm 2.5, V = -3.2

hipocampo ventral: A-P = -4.8, L = \pm 4.5, V = -6.5

Una vez que los inyectores fueron colocados en las coordenadas elegidas, se administró 0.4 μ g de ácido kainico (Sigma, K-0250) disuelto en 0.4 μ l de una solución amortiguadora de fosfatos a una velocidad de 0.1 μ l por minuto por medio de una bomba de infusión lenta (WPI Modelo sp200i) a la cual se acopló a una microjeringa Hamilton de 10 μ l. Después de la infusión el inyector permaneció 3 minutos más en el sitio para permitir una mejor difusión del neurotóxico.

Posterior a la lesión a cada animal se le administró vía intramuscular 0.5 ml de benzetacil (200 mil unidades) para evitar posibles infecciones postoperatorias. Las ratas fueron entrenadas o probadas a los 8 días de haberse realizado la lesión, dependiendo del grupo experimental. Los sujetos de los grupos control fueron sometidos al mismo procedimiento quirúrgico pero sin la infusión de ácido kainico.

Aparatos

Cámara de condicionamiento de evitación inhibitoria.

El entrenamiento de evitación inhibitoria y la prueba de retención se realizaron en un caja de condicionamiento constituida por dos compartimientos (A y B) de las mismas dimensiones (30 x 30 x 30 cm) separados por una puerta tipo guillotina (Fig. 4).

El piso del compartimiento A o de seguridad fue hecho con barras de aluminio de 6 mm de diámetro separadas con 1.5 cm entre sí. Las paredes del compartimiento B o de castigo están compuestas de dos placas de acero inoxidable las cuales se encuentran separadas en la mitad del piso por una ranura de 1 cm, dando una forma de V, lo cual permitió que los sujetos hicieran contacto con ellas todo el tiempo y recibieran el choque eléctrico. El compartimiento B podía estar electrificado utilizando un estimulador de pulsos cuadrados (Grass-Instruments Co., Modelo S48) conectado en serie con una unidad de corriente constante (Grass-Instruments Co., Modelo CCU-1A). La cámara de condicionamiento está ubicada en un cuarto sonoamortiguado (2.44 X 1.95 X 2.50 m) y con baja iluminación provista de un enmascarador de ruido (BRS/LVE, modelo AU-902).

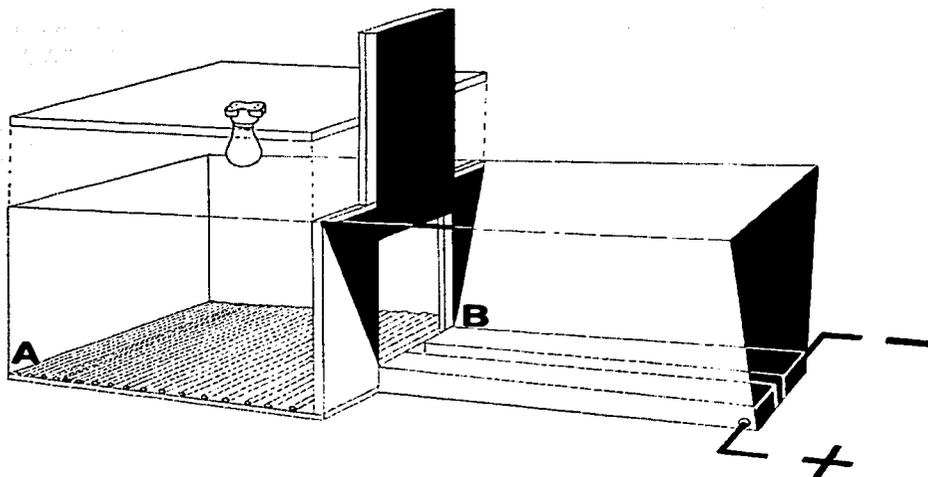


FIGURA 4. Representación de la cámara de condicionamiento de evitación inhibitoria, que consiste de un compartimento de seguridad, iluminado, separado por una puerta de tipo guillotina de un compartimento de choque, cuyas paredes y piso pueden ser electrificados. Ver más detalles en el texto.

Sesión de entrenamiento

En el primer y único día de entrenamiento (sesión de adquisición o aprendizaje), cada sujeto se introdujo al compartimento A durante 10 segundos; transcurrido este tiempo se abrió la puerta y se midió el tiempo (latencia de adquisición) en que cruzaba con las cuatro patas al compartimento B. En ese

momento se cerró la puerta y se administró un choque durante 5 segundos; después se abrió la puerta y el choque se mantuvo hasta que la rata escapaba al compartimiento A, midiéndose la latencia de escape. Posteriormente, se cerró la puerta y 30 segundos después se colocó al animal en su jaula individual dando por terminada la sesión. La intensidad del choque fue de 1.0 mA, y los estímulos eléctricos tuvieron los siguientes parámetros: 100 volts, pulsos de 50 mseg de duración y 10 Hz.

Sesión de Retención

Transcurridos 30 minutos ó 24 horas ó ocho días, de acuerdo al grupo experimental, se colocó a los sujetos en el compartimiento A y se midió la latencia para pasar al compartimiento B, sin volver a aplicar el choque eléctrico. Si el sujeto no cruzaba en 600 segundos se daba por terminada la sesión y se asignaba una puntuación de 600 segundos.

Análisis Histológico

Una vez terminados los experimentos conductuales, todos los animales fueron sacrificados con una dosis letal de pentobarbital sódico y perfundidos intracardiamente con solución salina isotónica seguida de formaldehído al 10%. Una vez terminada la perfusión se extrajo el cerebro y se colocó en un frasco con una mezcla de una solución de formaldehído al 10% y de una solución de sacarosa al 20 % en una proporción de 1:1 por siete días. Posteriormente, se

realizaron cortes coronales de 50 μm de espesor que se fijaron a laminillas de observación. Posteriormente, fueron teñidos con la técnica de violeta de cresilo.

El criterio de elección de las lesiones, tanto en el hipocampo dorsal como en el hipocampo ventral, fue la desaparición de la línea celular que representa a cada una de éstas regiones. En la mayoría de los sujetos seleccionados, el tamaño de la lesión varía sobre dicha línea celular. En los diagramas que se muestran en la parte inferior de las figuras 5 y 6 se señala el rango de ésta variación

Análisis Estadístico

Se utilizaron pruebas no paramétricas para analizar los datos, debido a que las medidas de las latencias de la retención se cortaron arbitrariamente a los 600 segundos, impidiendo así una posible distribución normal de los datos. Se aplicó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis en forma independiente para las latencias de adquisición, escape y retención. Cuando el caso lo permitía (si el análisis de varianza arrojaba una $p < 0.05$), se hicieron comparaciones entre pares de grupos, empleando la prueba U de Mann-Whitney.

EXPERIMENTO 1

Como se indicó anteriormente, el primer objetivo de esta tesis fue determinar si la lesión del hipocampo dorsal impide el aprendizaje de evitación inhibitoria. Asociada a este objetivo, planteamos la siguiente hipótesis de trabajo:

La lesión bilateral en el hipocampo dorsal producirá un déficit en la ejecución de la tarea evitación inhibitoria.

Procedimiento. Cada uno de los animales fue asignado, al azar, a uno de 6 grupos, de 12 ratas cada uno. Dos de los grupos fueron lesionados con ácido kaínico, en el hipocampo dorsal (CA1), 8 días antes del entrenamiento. Para explorar los efectos de las lesiones sobre la adquisición, a uno de estos grupos le fue probada la retención 30 minutos después del entrenamiento. Para determinar los efectos de la lesión sobre la retención de largo plazo, al segundo grupo se le midió la retención 24 horas después del entrenamiento. Un tercer grupo fue lesionado en el hipocampo dorsal un día después del entrenamiento, una vez que la consolidación de la memoria se había llevado a cabo (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997), y se le probó la retención 7 días después (8 días después del entrenamiento). Para cada grupo lesionado, hubo un grupo control, sometido al mismo procedimiento quirúrgico que los grupos lesionados, pero a los que no se les inyectó el ácido kaínico.

RESULTADOS

Histología. Después de la inspección histológica, los datos de 10 ratas lesionadas fueron descartados porque las lesiones no se encontraron en los lugares preseleccionados; otras 3 ratas murieron durante el procedimiento

quirúrgico o poco después del mismo (2 controles y 1 lesionada). El tamaño final de cada grupo se muestra en la Fig. 6.

La inspección con el microscopio fotónico del hipocampo dorsal, teñido con la técnica de Nissl, mostró que la lesión fue de tamaño relativamente consistente sobre la línea celular que representa al CA1, en el cual se encontró una fuerte reacción glial astrocítica, asociada con la desaparición de los componentes neuronales de las capas piramidales. Muchas de las neuronas remanentes en estas áreas mostraron una ausencia total de teñido de la sustancia de Nissl, lo que indica una marcada regresión neuronal.

La Figura 5 muestra lesiones representativas, producidas por el ácido kaínico, que fueron muy selectivas para el campo CA1. Una inspección cuidadosa de las regiones que rodean al CA1 como el giro dentado, la fisura hipocámpica, el fornix dorsal y el subículo, no mostraron daño celular. El no haber encontrado evidencias claras de lesión en las áreas mencionadas, muy probablemente se deba a la dosis y volumen tan pequeños de ácido kaínico que fue utilizado.

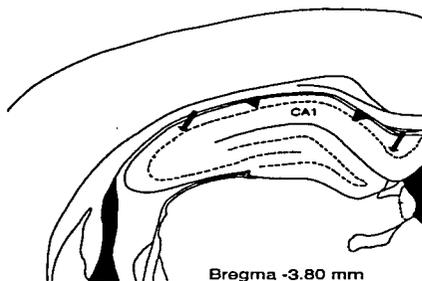
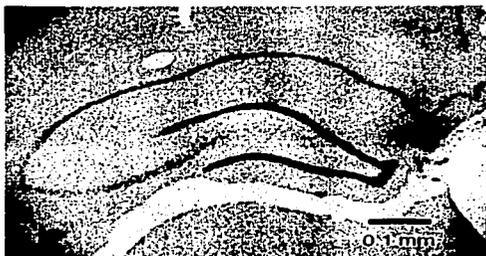


FIGURA 5. Lesiones representativas, producidas por el ácido kainico, restringidas a CA1 del hipocampo. La fotomicrografía de la izquierda corresponde a un sujeto control no lesionado. A la derecha se muestra la lesión producida por el ácido kainico indicada con las flechas. Los diagramas inferiores muestran la extensión de las lesiones más grandes (delimitadas por las flechas) y las más pequeñas (delimitadas por los triángulos). Esquema modificado de Paxinos y Watson (1982).

Conducta. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a las latencias de adquisición y de escape (Tabla 1).

TABLA 1. Latencias de adquisición y de escape de los grupos que fueron lesionados con ácido kainico en el hipocampo dorsal ocho días antes del entrenamiento, y probados en su retención 30 min (KA, 30 min) ó 24 horas (KA, 24 h) después; un grupo adicional fue inyectado con la droga un día después del entrenamiento y probado en su retención ocho días después (KA, 8 D). Para cada uno de estos grupos había un grupo control que no fue lesionado (CTR, 30 min; CTR, 24 h; y CTR, 8d, respectivamente).

		n	LATENCIA DE ADQUISICIÓN		LATENCIA DE ESCAPE	
			MEDIANA	MEDIA±EEM	MEDIANA	MEDIA±EEM
HIPOCAMPO DORSAL	KA, 30 min	8	18.69	18.78, 1.18	2.69	2.48, 0.27
	CTR, 30 min	10	13.80	16.52, 2.45	2.81	3.71, 1.09
	KA, 24 h	9	16.37	17.65, 2.72	2.08	1.99, 0.20
	CTR, 24 h	12	15.73	15.14, 2.31	1.51	1.99, 0.31
	KA, 8d	8	17.15	17.9, 2.10	1.45	1.74, 0.23
	CTR, 8 d	12	18.60	16.53, 2.38	1.93	2.41, 0.52

Como puede observarse en la Fig. 6, al medir la latencia de retención el análisis de varianza mostró que había diferencias significativas entre los grupos [H(5)= 23.97, p = 0.0002]. Las pruebas de U mostraron que el grupo lesionado con ácido kainico 8 días antes del entrenamiento, y que fue probado 30 min después del mismo, no difirió de su grupo control, pero tuvo una ejecución

significativamente mejor que los grupos lesionados y probados a las 24 horas y a los 8 días después del entrenamiento (p 's < 0.004 y 0.005, respectivamente). Las latencias de retención de los dos último grupos no difirieron entre sí, pero fueron significativamente más bajas que sus respectivos controles (p 's < 0.0005 y < 0.005, respectivamente).

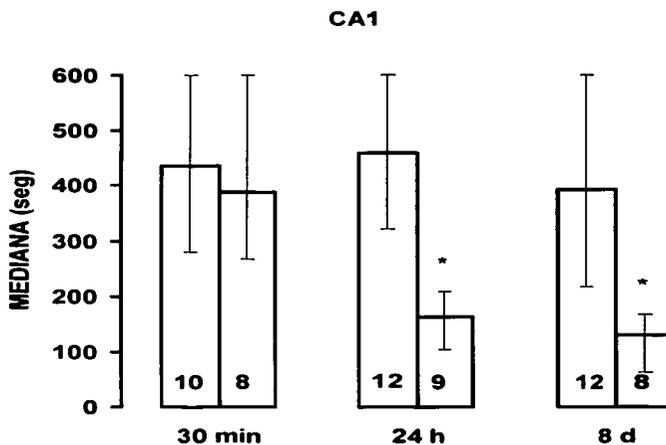


FIGURA 6. Medianas de la retención, con rangos intercuantiles, de las ratas que no fueron lesionadas (barras blancas) y de las lesionadas con ácido káinico (barras oscuras) ocho días antes del entrenamiento, y cuya retención fue probada a los 30 minutos (30 min) ó a las 24 horas (24 h). Otros animales fueron lesionados un día después del entrenamiento y probados en su retención 8 días después del entrenamiento (8 d). Las lesiones se produjeron en el área CA1 del hipocampo dorsal. Los números dentro de las barras representan el tamaño del grupo. * p < 0.005 vs su grupo control.

En virtud de la semejanza de las hipótesis propuestas en los dos experimentos que componen esta tesis, y de la similitud de los resultados obtenidos, se presentará una sola sección de Discusión, en la que se integrarán las interpretaciones de ambos estudios.

EXPERIMENTO 2

El objetivo del Experimento 2 fue determinar si la lesión del hipocampo ventral impide el aprendizaje de evitación inhibitoria. Para este caso, la hipótesis de trabajo fue:

La lesión bilateral en el hipocampo ventral producirá un déficit en la ejecución de la tarea de evitación inhibitoria.

Procedimiento. Como podrá observarse, en este experimento se siguió un diseño idéntico al utilizado en el Experimento 1, con la obvia diferencia del sitio de lesión. De esta manera, será completamente válido hacer comparaciones posteriores entre grupos de ambos experimentos.

Cada uno de los animales fue asignado, al azar, a uno de 6 grupos, de 12 ratas cada uno. Dos de los grupos fueron lesionados con ácido kaínico, en el hipocampo ventral (CA3), 8 días antes del entrenamiento. Para explorar los efectos de las lesiones sobre la adquisición, a uno de estos grupos le fue probada la retención 30 minutos después del entrenamiento. Para determinar los efectos de la lesión sobre la retención de largo plazo, al segundo grupo se le midió la retención 24 horas después del entrenamiento. Un tercer grupo fue lesionado en el hipocampo ventral un día después del entrenamiento, una vez que la



consolidación de la memoria se había llevado a cabo (Ambrogi Lorenzini et al., 1996, 1997), y se le probó la retención 7 días después (8 días después del entrenamiento). Para cada grupo lesionado, hubo un grupo control, sometido al mismo procedimiento quirúrgico que los grupos lesionados, pero a los que no se les inyectó el ácido kaínico.

RESULTADOS

Histología.

La figura 7 muestra lesiones representativas, producidas por el ácido kaínico en el CA3 del hipocampo. Una inspección cuidadosa de las regiones que rodean al CA3 como el alveolo hipocámpico, el CA2, la corteza del cíngulo, el cuerpo geniculado medial y la corteza entorrinal, no mostraron daño celular. Después de la inspección histológica, los datos de 14 ratas lesionadas fueron descartados porque las lesiones no se encontraron en los lugares preseleccionados. El tamaño final de cada grupo se muestra en la Fig. 8.

Conducta. Los resultados son muy similares a los obtenidos con las lesiones del hipocampo dorsal. No se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos relacionadas con las latencias de adquisición y de escape (Tabla 2).

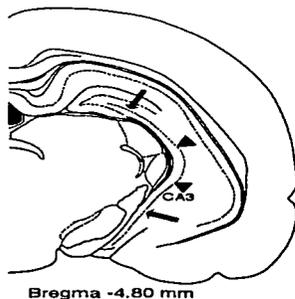


FIGURA 7. Lesiones representativas, producidas por el ácido kaínico, restringidas al CA3 del hipocampos. En la fotomicrografía de la derecha se muestra la lesión indicada con flechas. La fotomicrografía de la izquierda corresponde a un sujeto control no lesionado. El diagrama inferior muestra la extensión de las lesiones más grandes (delimitadas por las flechas) y las más pequeñas (delimitadas por los triángulos). Esquema modificado de Paxinos y Watson (1982).

TABLA 2. Latencias de adquisición y de escape de los grupos que fueron lesionados con ácido kaínico en el hipocampo ventral ocho días antes del entrenamiento, y probados en su retención 30 min (KA, 30 min) ó 24 horas (KA, 24 h) después; un grupo adicional fue inyectado con la droga un día después del entrenamiento y probado en su retención ocho días después (ka, 8 D). Para cada uno de estos grupos había un grupo control que no fue lesionado (CTR, 30 min; CTR, 24 h; y CTR, 8d, respectivamente).

		n	LATENCIA DE ADQUISICIÓN		LATENCIA DE ESCAPE	
			MEDIANA	MEDIA±EEM	MEDIANA	MEDIA±EEM
HIPOCAMPO VENTRAL	KA, 30 min	8	17.24	17.47, 1.66	1.99	1.92, 0.19
	CTR, 30 min	12	15.32	17.63, 1.47	1.91	1.94, 0.15
	KA, 24 h	9	16.25	16.38, 1.80	1.77	1.88, 0.16
	CTR, 24 h	10	15.32	17.63, 1.47	1.91	2.04, 0.20
	KA, 8 d	8	18.07	18.37, 1.40	1.33	1.49, 0.20
	CTR, 8 d	11	12.71	14.36, 2.25	1.99	1.65, 0.18

En contraste, se obtuvieron diferencias altamente significativas al analizar las latencias de retención [$H(5) = 32.20$, $p = 0.0001$]. La prueba de U indicó que los animales lesionados con kaínico y cuya retención se midió a las 24 horas ó a los 8 días después del entrenamiento no difirieron entre sí, pero sus puntajes fueron significativamente menores que los del resto de los grupos (valores de p entre 0.0001 y 0.002). No hubo diferencias significativas entre los grupos controles y el grupo lesionado que fue probado a los 30 minutos.

Comparaciones entre el hipocampo dorsal y el ventral. La prueba de U se utilizó para comparar las latencias de retención de los grupos lesionados en CA1 y

CA3, en cada uno de los intervalos de prueba (30 minutos, 24 horas y 8 días). La única diferencia significativa que se encontró fue a las 24 horas después del entrenamiento, en donde se encontró una deficiencia mayor en el grupo lesionado en CA3 ($p < 0.04$).

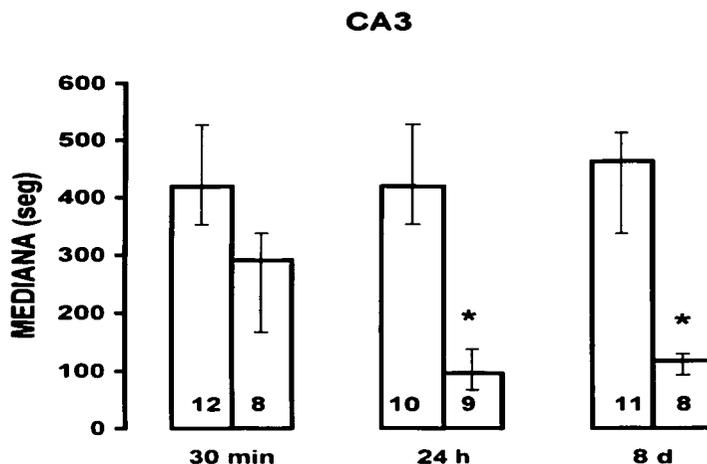


FIGURA 8. Medianas de la retención, con rangos intercuartiles, de las ratas que no fueron lesionadas (barras blancas) y de las lesionadas con ácido kaínico ocho días antes del entrenamiento, y cuya retención fue probada a los 30 minutos (30 min) o a las 24 horas (24 h). Otros animales fueron lesionados un día después del entrenamiento y probados en su retención 8 días después del entrenamiento (8 d). Las lesiones se produjeron en el área CA3 del hipocampo ventral. Los números dentro de las barras representan el tamaño del grupo. * $p < 0.005$ vs su grupo control.

DISCUSIÓN

El método de lesión irreversible en estructuras cerebrales para determinar su participación en los procesos de aprendizaje y memoria es usado ampliamente (Ferbinteanu y McDonald, 2001; Ridley et al., 2001; Burton et al., 2000; Ramos, 2000), pero también existen opiniones contrarias a éste método (Izquierdo y Medina, 1998). La divergencia principal se debe a que en la mayoría de casos, las lesiones no son limitadas a las zonas elegidas. En comparación con otros reportes (Ridley et al. 2001; Ferbinteanu y McDonald, 2001, Ramos, 2000), en el presente trabajo se logro delimitar la zona de lesión tanto en el CA1 como en el CA3 (figuras 5 y 7), lo que nos permite sugerir que los cambios observados en la ejecución se deban a dicha lesión.

El conjunto de resultados presentados demostró que las ratas que sufrieron lesiones bilaterales del hipocampo dorsal (CA1) y ventral (CA3), antes de ser entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria mostraron una capacidad normal para aprender esta tarea, como lo demostraron sus ejecuciones a los 30 minutos después del entrenamiento. Respecto al hipocampo ventral, Ferbinteanu y McDonald (2001), lesionaron dicha región y empleando una tarea de preferencia condicionada de lugar no encontraron déficit en la ejecución. Por otro lado, lesiones bilaterales en el hipocampo dorsal no interfieren con la adquisición de una tarea de condicionamiento de lugar (Ramos, 2000). En conjunto, estos datos sugieren que las regiones dorsal y ventral del hipocampo no participan en el condicionamiento de lugar (que es un tipo de condicionamiento clásico), así como tampoco en la adquisición de la evitación inhibitoria (que es un aprendizaje con componentes tanto de condicionamiento clásico como de instrumental).

Otro punto importante en esta tesis es explorar si existe heterogeneidad funcional entre las regiones dorsal y ventral del hipocampo. Como lo muestran los resultados (figuras 5 y 7), en la tarea de evitación inhibitoria no se observa dicha heterogeneidad, como se ha observado en otros tipos de tareas: alternancia retardada (Maruki et al., 2001), tarea espacial de no igualación a la muestra (Mao y Robinson, 1998), igualación a la muestra retardada de tipo espacial y no espacial (Colombo et al., 1998).

Si el proceso de adquisición o aprendizaje hubiese estado dañado, entonces se hubiera encontrado una deficiencia significativa de la respuesta condicionada. La buena ejecución de los grupos lesionados que fueron probados a los 30 minutos, y la pobre ejecución mostrada por los grupos igualmente lesionados, pero probados a las 24 h y a los 8 días después del entrenamiento, no pueden ser explicados por posibles deficiencias motoras, perceptuales o motivacionales, porque todos los grupos tuvieron las mismas latencias de adquisición durante el entrenamiento; esto indica que todos poseían la misma capacidad motora, relevante a la tarea, así como la misma reactividad al choque eléctrico, ya que no se encontraron diferencias en las latencias de escape. Si las lesiones hubiesen producido disfunciones no relacionadas con el aprendizaje, entonces uno hubiera esperado encontrar las mismas latencias de retención en todos los grupos, independientemente del momento en que se probó la retención. Claramente, esto no ocurrió.

Con base en resultados obtenidos en una prueba llevada a cabo 48 h después del entrenamiento, otros autores han propuesto que la inactivación pre-entrenamiento del hipocampo dorsal o el ventral, inducida antes del



entrenamiento, produce una deficiencia en la adquisición (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997). Nuestros datos indican que tal interpretación puede ser engañosa, ya que no midieron la respuesta condicionada poco después del entrenamiento, tal y como se hizo en la presente tesis. Un resultado similar al nuestro se reportó después de bloquear la actividad colinérgica del estriado: se encontró una excelente retención de la tarea de evitación inhibitoria a los 30 minutos después del entrenamiento, pero un estado amnésico significativo cuando la retención se evaluó a las 24 h (Prado-Alcalá et al., 1984).

Los efectos perjudiciales sobre la retención de largo plazo, producidos por las lesiones con el ácido kaínico antes del entrenamiento o antes de la prueba de retención, son congruentes con los efectos similares producidos por la infusión bilateral de TTX en el hipocampo dorsal y el ventral, antes del entrenamiento o antes de la prueba de retención (Ambrogio Lorenzini et al., 1996, 1997). En estos trabajos los autores también reportaron que la infusión de TTX después del entrenamiento produjo una deficiencia en la consolidación de la memoria; efectos equivalentes se producen por varios tratamientos post-entrenamiento que interfieren con las funciones del hipocampo (e.g., Bianchin et al., 1993; Izquierdo et al., 1997). Ya que en nuestros experimentos las lesiones producidas antes del entrenamiento (cuyos efectos se superponen temporalmente con todos los tratamientos aplicados después del entrenamiento descritos arriba), también produjeron deficiencias en la retención, existe la posibilidad de que además de haber producido una deficiencia en la ejecución (o recuperación de la información), también hayan provocado una deficiencia en la consolidación de la memoria.

Por otro lado, los grupos que primero fueron entrenados y 24 horas después fueron lesionados, en el CA1 y en el CA3 respectivamente, y finalmente probados a los 7 días, presentaron un deterioro en la ejecución, lo que se interpreta como un cuadro de amnesia retrógrada. Este cuadro está ampliamente documentado tanto en humanos (Stefanacci et al., 2000; Squire et al., 2001) y en animales (Ridley et al., 2001; Zola y Squire, 2001).

En concordancia con los resultados reportados por Stublely-Weatherly et al. (1996), se encontró una mayor deficiencia en la prueba de retención a las 48 h en los animales lesionados en CA3 que en los lesionados en CA1. Tal diferencia no fue evidente durante la prueba de retención llevada a cabo 8 días después del entrenamiento. Estos resultados indican que el campo CA3 está más involucrado que el campo CA1 en la retención de la tarea estudiada, y que cuando el intervalo entre el entrenamiento y la prueba se incrementa (a 8 días), se presenta cierto grado de recuperación funcional.

En conclusión, el trabajo experimental que hemos presentado tiene importancia capital por cuando menos dos razones:

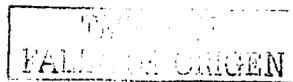
1. Demuestra que el hipocampo no es necesario para la adquisición de la tarea de evitación inhibitoria, en contraste con lo que han afirmado otros autores, y
2. Es una llamada de atención para aquellos investigadores que estudian las bases neurobiológicas de la memoria. Es posible obtener datos experimentales sólidos, basados en diseños experimentales adecuados, pero se debe tener mucho cuidado

con la interpretación que se da a dichos resultados. Las interpretaciones erróneas pueden detener o dar un curso inadecuado a la investigación. Por ello, es imprescindible manejar adecuadamente la terminología que se utiliza en un campo del saber determinado. En nuestro caso, hemos visto cómo un hecho simple (la deficiencia en la retención de una respuesta condicionada), ha sido interpretada como una deficiencia en el aprendizaje (Ambrogio Lorenzini et al. 1996, 1997), sin haber hecho experimentos adecuados para poder dar esa interpretación. En otras palabras, cuando se planteó la pregunta de si el hipocampo está involucrado en la adquisición de la evitación inhibitoria, no se hizo un planteamiento metodológico adecuado para responder a esa pregunta. Fue con nuestro diseño experimental con el que pudimos dar respuesta una respuesta inobjetable, que resultó ser contraria a la propuesta por otros autores.

Creemos, pues, que hemos hecho una contribución importante al campo de estudio de las funciones del hipocampo.

REFERENCIAS

- Alvarez E.O., y Banzan A. M. 1999. Ventral Hippocampal glutamate receptor in the rat: possible involvement in learning mechanisms of an active avoidance response. *Journal of Neural Transmission*. 106:987-1001.
- Amaral D., y Witter, M. P. 1995. Hippocampal Formation. En: George Paxinos . (Ed). *The Rat Nervous System*. (pp.443-493). Second Edition. Academic Press.
- Ambrogio Lorenzini C., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. y Tassoni, G. 1996. Role of dorsal hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response: a tetrodotoxin functional inactivation study. *Brain Research*. 730: 32-39.
- Ambrogio Lorenzini C.G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. y Tassoni, G. 1997. Role of ventral hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response memory trace. *Brain Research*. 768:242-248.
- Bailey C.H. y Chen M. 1983. Morphological basis of long-term habituation and sensitization in aplysia. *Science*. 220: 91-93.
- Bannerman D.M., Yee B.K., Good M.A., Heupel M.J., Iversen S.D. y Rawlin J. N. 1999. Double dissociation of function within the hippocampus: a comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behavioral Neuroscience*. 113:1170-1188
- Beggs J. M., Brown, T. H., Byrne, J. H., Crow, T., LeDoux., J. E., LeBar, K. y Thompson, R.F. 1999. Learning and memory: Basic mechanisms. En: Michel J. Zigmond, Floyd E. Bloom, Story C. Landis, James L. Roberts and Larry R.



- Squire. *Fundamental Neuroscience*. (pp.1411-1454). San Diego Cal. Academic Press.
- Bernabeu R., de Stein, M., Fin, C., Izquierdo, I. y Medina J. 1995. Role of hippocampal NO in the acquisition and consolidation of inhibitory avoidance learning. *Neuroreport*. 6: 1498-1500.
- Bernabeu R., Schmitz P., Faillace, M., Izquierdo, I., y Medina J. 1996. Hippocampal cGMP and cAMP are differentially involved in memory processing of inhibitory avoidance learning. *Neuroreport*. 7: 585-588.
- Bianchin M., Walz R., Ruschel AC., Zanatta M.S., Da Silva RC., Bueno e Silva M., Paczko N., Medina J.H., e Izquierdo I. 1993. Memory expression is blocked by the infusion of CNQX into the hippocampus and/or the amygdala up to 20 days after training. *Behavioral and Neural Biology*. 59:83-86.
- Black A.H., Nadel L., y O'Keefe J. 1977. Hippocampal function in avoidance learning and punishment. *Psychological Bulletin*. 84: 1107-1129.
- Boss B.D, Turlejski K., Stanfield B.B. y Cowan W. M. 1987. On the numbers of neurons in fields CA1 and CA3 of the hippocampus of Sprague-Dawley and Wistar rats. *Brain Research*. 406: 280-287.
- Byrne J.H. y Kandel E.R. 1996. Presynaptic facilitation revisited: state and time dependence. *Journal of Neuroscience*. 16:425-435.
- Burton S., Murphy D., Qureshi U., Sutton P., y O'Keefe J. 2000. Combined lesions of hippocampus and subiculum do not produce deficits in a nonspatial social olfactory memory task. *Journal of Neuroscience*. 20:5468-5475.



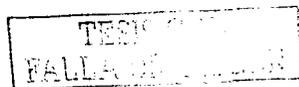
- Chen Z., Ljunggren H. G., Bogdanovic N., Nennesmo I., Winblad B. y Zhu J. 2002. Excitotoxic neurodegeneration induced by intranasal administration of kainic acid in C57BL/6 mice. *Brain Research*. 931:135-45.
- Choi D.W. 1992. Excitotoxic cell death. *Journal of Neurobiology*. 23:1261-76.
- Cogan D. y Reeves, J.L. 1979. Passive avoidance learning in hippocampectomized rats under different shock and intertrial interval conditions. *Physiology and Behavior*. 22: 1115-1121.
- Colombo M., Fernández T., Nakamura K. y Gross Ch.G. 1998. functional differentiation along the anterior-posterior axis of the hippocampus in monkeys. *Journal of Neurophysiology*. 80:1002-1005.
- Dudai Y. 1989. *The Neurobiology of Memory. Concepts, Findings Trends*. Oxford University Press. Oxford.
- Eichenbaum H. B., Cahill L. F., Gluck M. A., Hasselmo M. E., Keil F. C., Martin, A.J., McGaugh, J. L., Murre, J., Myers, C., Petrides, M., Roozendaal, B., Schacter, D, L., Simons, D, J., Smith, W. C., y Williams, C, L. 1999. Learning and memory: Systems analysis. En: Michel J. Zigmond, Floyd E. Bloom, Story C. Landis, James L. Roberts y L. R. Squire. (Eds). *Fundamental Neuroscience*. (pp.1455-1486). San Diego Cal. Academic Press.
- Eichenbaum H., Otto T., y Cohen N.J. 1992. The hippocampus-What Does It Do?. *Behavioral and Neural Biology*. 57:2-36.
- Farr S.A., Banks W. A., La Scola M.E., Flood J.F. y Morley J.E. 2000. Permanent and temporary inactivation of the hippocampus impairs T-maze footshock avoidance acquisition and retention. *Brain Research*. 872:242-249.



- Ferbinteanu J., y McDonald R.J. 2001. Dorsal/ventral hippocampus, fornix, and conditioned place preference. *Hippocampus*. 11:187-200.
- Fernández Ruiz J., y Bermúdez Rattoni, F. 2001. Clasificación de la memoria. En: Federico Bermúdez Rattoni y Roberto Agustín Prado Alcalá. (Eds). *Memoria. Dónde reside y cómo se forma*. (pp 11-12). México. Editorial Trillas.
- Fin C., Da Cunha C. Bromberg E., Schmtz P., Biachin M., Medina J. e Izquierdo I. 1995. Experiments suggesting a role for nitric oxide in the hippocampus in memory processes. *Neurobiology of Learning and Memory*. 63: 113-115.
- Gluck M. A., y Myers C. E. 1997. Psychobiological models of hippocampal function in learning and memory. *Annual Review of Psychology*. 48: 481-514.
- Hock B.J. y Bunsey, M.D. 1998. Differential effects of dorsal and ventral hippocampal lesions. *Journal of Neuroscience*. 18: 7027-7032.
- Hollup S.A., Kjelstrup K.G., Hoff J., Moser M.B. y Moser E.I. 2001. Impaired recognition of the goal location during spatial navigation in rat with hippocampal lesions. *Journal of Neuroscience*. 21:4505-4513.
- Huang A-Min. y Lee E:H.Y. 1995. Role of hippocampal nitric oxide in memory retention in rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* . 50: 327-332.
- Izquierdo I., y Medina J.H. 1998. On brain lesions, the milkman and Sigmuda. *Trends Neuroscience*. 21:423-426.
- Izquierdo I., Quillfeldt J.A, Zanatta M.S, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz P.K. y Medina J.H. 1997. Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *European Journal of Neuroscience*. 9:786-793.

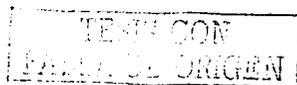
- Izquierdo I., Bianchin M, Silva M. B. E., Zanatta M. S., Walz R., Ruschel A. C., Da Silva R.C., Paczko N. y Medina, J.H. 1993. CNQX infused into rat hippocampus or amygdala disrupts the expression of memory of two different tasks. *Behavioral and Neural Biology*. 59: 1-4.
- Jerusalinsky D., Ferreira M.B.C., Walz R., Da Silva R., Bianchin M., Ruschel A., Zanatta M., Medina J. H., e Izquierdo I. 1992. Amnesia by post-training infusion of glutamate receptor antagonists into the amygdala, hippocampus and entorhinal cortex. *Behavior and Neural Biology*. 58: 76-80.
- Kandel E.R. 2000. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. En: *Principles of Neural Science*. Kandel E.R. Schwartz J.H. y Jessell T.M.(Eds). McGraw-Hill. pp. 1247-1279.
- Keelan J., Vergun O. y Duchon M.R. 1999. Excitotoxic mitochondrial depolarisation requires both calcium and nitric oxide in rat hippocampal neurons. *Journal of Physiology*. 520:797-813.
- Kondratyev A. y Gales K. 2000. Intracerebral injection of caspase-3 inhibitor prevents neuronal apoptosis after kainic acid-evoked status epilepticus. *Molecular Brain Research*. 75:216-24.
- Kupfermann I. 1991. Learning and memory. En: *Principles of neural science*. Edited by Kandel E., Schwartz J., y Jessell T. Appleton & Lange. Norwalk, Conn. (pp.997-1008).
- Marcus E.A. y Carew, T.J. 1990. Ontogenetic analysis of learning in a simple system. En: Adele Diamond. (Ed). *The development and neural bases of higher cognitive functions*. *Annals of the New York Academic of Sciences*. Vol. 608. pp:128-149.

- Marcus E.A. y Carew T.J. 1998. Developmental emergence of different forms of neuromodulation in *aplysia* sensory neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 95:4726-4731.
- Marinesco S. y Carew T.J. 2002. Serotonin release evoked by tail nerve stimulation in the CNS of *aplysia*: characterization and relationship to heterosynaptic plasticity. Journal of Neuroscience. 22:2299-2312.
- Mao J.B. y Robinson J.K. 1998. Microinjection of GABA-A agonist muscimol into the dorsal but not the ventral hippocampus impairs non-mnemonic measures of delayed non-matching-to-position performance in rat. Brain Research. 784:139-47.
- Maruki K., Izaki Y., Hori K., Nomura M. y Yamauchi T. 2001. Effects of rat ventral and dorsal hippocampus temporal inactivation on delayed alternation task. Brain Research. 895:273-276.
- Morgado I. 1998. Aprendizaje y memoria: conceptos, categorías y sistemas neurales. En: José Ma. Delgado, Alberto Ferrús, Francisco Mora, Francisco J. Rubia.(Eds). Manual de neurociencia. (pp.825-854). Editorial Síntesis. Madrid.
- Moser E., Moser M.B. y Andersen P. 1993. Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. Journal of Neuroscience. 13:3916-25.
- Moser M. B. y Moser, E.I. 1998. Functional differentiation in the hippocampus. Hippocampus. 8:608-619.
- Nadel L. 1968. Dorsal and ventral hippocampus lesion and behavior. Physiology and Behavior. 3:891-900.



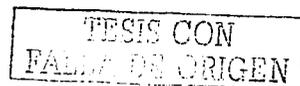
TESIS NO SALE
A LA BIBLIOTECA

- Nadler J.V. 1979. Kainic acid: neurophysiological and neurotoxic actions. *Life Sciences*. 24:289-300.
- Nadler J.V., Perry B.W., Gentry C. y Cotman C.W. 1980. Degeneration of hippocampal CA3 pyramidal cells induced by intraventricular kainic acid. *Journal Comparative Neurobiology*. 192:333-59.
- Nakanishi S. 1992. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science*. 258:597-603.
- Neill D. y Grossman S. 1970. Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of the dorsal and ventral caudate of rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 2:311-317.
- Paxinos G, y Watson C. 1982. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York, Academic Press.
- Prado-Alcalá R. A., Cruz-Morales S. E. y López-Miro F. A. 1980. Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neuroscience Letters*. 18:339-45.
- Prado-Alcalá R.A., Signoret-Edward L., Figueroa M., Giordano M. y Barrientos M. A. 1984. Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term but not with short term retention of passive avoidance. *Behavioral and Neural Biology*. 42:81-84.
- Quirarte G.L. 1991. Diferenciación regional de la actividad colinérgica estriatal relacionada con la memoria de largo plazo. Tesis de maestría . Facultad de Medicina. UNAM. México.
- Quirarte G.L., Roozendaal B. y McGaugh J. 1997. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral

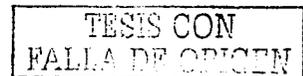


- amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 94:14048-14053.
- Ramos J. M. J. 2000. Long-term spatial memory in rats with hippocampal lesions. *European Journal of Neuroscience*. 12:3375-3384.
- Richmond M.A., Yee B.K., Pouzet B., Veenmam L., Rawlins J.N.P., Feldon J. y Bannerman D.M. 1999. Dissociating context and space within the hippocampus: effects of complete, dorsal, and ventral excitotoxic hippocampal lesions on conditioned freezing and spatial learning. *Behavioral Neuroscience*. 113:1189-1203.
- Ridley R.M., Hardy A., Maclean C.J. y Baker H.F. 2001. Non-spatial acquisition and retention and deficits following small excitotoxic lesions within the hippocampus in monkey. *Neuroscience*. 107:293-248.
- Rodríguez-Moreno A., López-García J.C. y Lerma J. 2000. Two populations of kainate receptors with separate signaling mechanisms in hippocampal interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 97:1293-1298.
- Roosendaal B. y McGaugh J. L. 1996. Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*. 65: 1-8.
- Rosenzweig R. M., Leiman A. L. y Breedlove S.M. 1996. Learning and memory: Biological perspectives. En: *Biological psychology*. Rosenzweig R. M., Leiman A. L. y Breedlove S.M. (Eds). *Sinauer Associates*. pp. 611-643.

- Rubin M., Jurach A., Da Costa E. M., Lima T.T.F., Jiménez-Bernal R.E., Begnini J., Souza D. O. y De Mello C.F. 1996. GMP reverses the facilitatory effect of glutamate on inhibitory avoidance task in rats. *Neuroreport*. 7: 2078-2080.
- Ruiz-Vargas J.M. 1994. Sistemas y medidas de memoria. En: Ruíz-Vargas J.M. (Ed). *Psicología de la memoria*. (pp.57-84). Madrid. Alianza editorial.
- Salado-Castillo R., Díaz del Guante M.A., Alvarado R., Quirarte G.L. y Prado-Alcalá R. A. 1996. Effects of regional gabaergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*. 66:102-8.
- Sattler R. y Tymianski M. 2001. Molecular mechanisms of glutamate receptor-mediated excitotoxic neural cell death. *Molecular Neurobiology*. 24:107-29.
- Schacter D.L. 1999. En busca de la memoria. *El cerebro, la mente y el pasado*. Ediciones B. Barcelona. (pp.111-143).
- Shih Y.H., Wu S.L., Chiou W.F., Ku H.H., Ko T.L. y Fu Y.S. 2002. Protective effects of tetramethylpyrazine on kainate-induced excitotoxicity in hippocampal culture. *Neuroreport*. 13:515-9.
- Sirinathsinghji D. 1991. Lesioning of rat nigrostriatal dopamine pathway with 1-methyl-4-phenylpyridinium ion. En: Michael Conn. (Ed). *Lesion and transplantation. Methods in neuroscience*. Vol 7. San Diego, Cal. Academic Press. (pp. 3-15).
- Squire L. 1987. *Memory and Brain*. Oxford University Press. pp. 134-140.
- Squire L.R., Clark R.E., Knowlton B.J. 2001. Retrograde amnesia. *Hippocampus*. 11:50-55.



- Stefanacci L., Buffalo E.A., Schmolck H. y Squire L. R. 2000. Profound amnesia after damage to the medial temporal lobe: a neuroanatomical and neuropsychological profile of patient E.P. *Journal of Neuroscience*. 20:7024-7036.
- Steffenach H-A., Sloviter R.S., Moser E.I. y Moser M.B. 2001. Impaired retention of spatial memory after transection of longitudinally oriented axons of hippocampal CA3 pyramidal cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 99:3194-3198.
- Stubley-Weatherly L., Harding J.W. y Wright J.W. 1996. Effects of discrete kainic acid-induced hippocampal lesion on spatial and contextual learning and memory in rats. *Brain Research*. 716: 29-38.
- Sutherland R.J., McDonald R.J. y Hill C.R. 1989. Damage to the hippocampal formation in rats selectively impairs the ability to learn cue relationships. *Behavioral and Neural Biology*. 52:331-356.
- Szapiro G., Izquierdo L. A., Alonso M., Barros D., Paratcha G., Ardenghi P., Pereira P., Medina J. H. e Izquierdo I. 2000. Participation of hippocampal metabotropic glutamate receptors, protein kinase A and mitogen-activated protein kinases in memory retrieval. *Neuroscience*. 99:1-5.
- Thompson R. F. y Donegan N. 1987. Learning and Memory. En: George Adelman (Ed). *Encyclopedia of Neuroscience*. Vol.1. pp.5-8.
- Thompson R. F. 1993. *The Brain. A Neuroscience Primer*. New York. W.H.Freeman and Company. (pp.333-387).



- Vargha-Khadem F, Gadian D.G., Watkins K.E., Connelly A, Van Paesschen W. y Mishlin, M. 1997. Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory. *Science*. 277:376-380.
- Vizi E.S., y Kiss J.P. 1998. Neurochemistry and Pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: Synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus*. 8:566-607.
- Walker D. y Gold P. 1991. Effects of the novel NMDA antagonist, NPC 12626, on long-term potentiation, learning and memory. *Brain Research*. 549: 213-221.
- Winn P. 1991. Excitotoxins as tools for producing brain lesion. En: Michael Conn. (Ed). *Lesion and transplantation. Methods in neuroscience. Vol 7.* (pp. 16-27). San Diego, Cal. Academic Press.
- Witter M.P. 1989. Connectivity of the rat hippocampus. En: Chan-Palay V. y Köhler Ch. (Eds). *The hippocampus: new vistas.* New York: Alan R. Liss. (pp.53-69).
- Wolfman C., Fin C., Dias M., Biachin M., Da Silva R., Schmitz P., Medina J.H. e Izquierdo I. 1994. Intrahippocampal or intraamygdala infusion of KN62, a specific inhibitor of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, causes retrograde amnesia in the rat. *Behavioral and Neural Biology*. 61: 203-205.
- Zola M. S. y Squire R.L. 2001. Relationship between magnitude of damage to the hippocampus and impaired recognition memory in monkey. *Hippocampus*. 11:92-98.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN