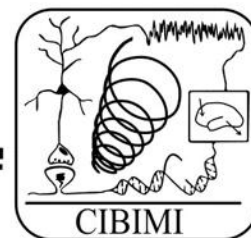




**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DEL POSGRADO

**PAPEL DE LA DOPAMINA ESTRIATAL SOBRE
LA FACILITACIÓN DEL APRENDIZAJE
EGOCÉNTRICO MEDIADO POR EL
ABATIMIENTO DE SEROTONINA**

T E S I S

que para obtener el grado de:

MAESTRA EN FARMACOLOGÍA BÁSICA

P R E S E N T A

Q. F. B. PATRICIA BALBINA ANGUIANO RODRÍGUEZ

Directora de tesis

D. en C. MARIA ESTHER OLVERA CORTÉS

CoDirector de tesis:

D. en C. IGNACIO GONZÁLEZ BURGOS

**MORELIA, MICHOACÁN
OCTUBRE DE 2005**

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el laboratorio de Neurofisiología Experimental, bajo la tutoría de la D. en C. Maria Esther Olvera Cortés, y la co-tutoría del D. en C. Ignacio González Burgos.

DEDICATORIA

A mi Papá y a mi Mamá, por que son mi admiración y mi pilar en este arduo camino por la vida.

A Julio y a mi pequeña Yareni por darme esos momentos inolvidables.

A Fidel, Alis, Pao, Aris y a mi sobrina Kiatsi por que siempre están conmigo incondicionalmente.

A la familia Casas Ortiz, por alentarme y animarme a pesar de la distancia.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Esther Olvera Cortés, por las enseñanzas que día a día me brindo. Gracias por tu paciencia, por tu amistad que siempre me has dado, y por ser la persona que me condujo hacia lo más profundo de la ciencia. Muchas gracias por todo.

Al Dr. Ignacio González Burgos, por todas las recomendaciones para el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Miguel Cervantes Alfaro, gracias por compartir su valiosa sabiduría.

A mis compañeras de la maestría, Elisa, Luz Elena y Aída, por su amistad y por que finalmente a pesar de todo concluimos juntas otra etapa de nuestra vida.

A mis compañeros del laboratorio de Neurofisiología Experimental Lore, Fidel, Blanca, Jesús e Ivan por su colaboración en este trabajo y por esa calidez que los destaca.

A mis compañeros del CIBIMI, Chela, Mike, Misael, Jessi y Dulce por ese entusiasmo que siempre me contagio.

A mis compañeras del laboratorio de Química Forense de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Michoacán. Gracias por el apoyo que desinteresadamente he recibido.

A mis amigas Juanis, Judith, Esme, Moni, y mi amigo Chucho, que indudablemente han estado cerca de mi, y han compartido conmigo grandes momentos.

CONTENIDO

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Resumen	vi
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	
1.1. GANGLIOS BASALES	
1.1.1. Características generales	10
1.1.2. Organización topográfica	10
1.1.3. Circuitos intrínsecos	12
1.1.4. Función motora	12
1.1.5. Función cognoscitiva	13
1.2. ORIENTACION ESPACIAL	
1.2.1. Estrategias de navegación	15
1.2.2. Sistemas de memoria	16
1.3. ESTRIADO	
1.3.1. Anatomía	18
1.3.2. Citoarquitectura	18
1.3.3. Neurotransmisores	19
1.3.3.1. Dopamina	20
1.3.3.2. Serotonina	22
II. ANTECEDENTES	24
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	32
IV. HIPÓTESIS	33
V. OBJETIVOS	
5.1. General	34
5.2. Específicos	34

VI. MATERIAL Y MÉTODOS	
6.1. Lote experimental	35
6.2. Implante de cánulas	35
6.3. Aplicación de fármacos	36
6.3.1. Experimento 1	36
6.3.2. Experimento 2	37
6.4. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución	37
6.5. Laberinto Acuático de Morris y pruebas conductuales	38
6.6. Diagrama de Flujo	40
6.6.1. Esquema de pruebas conductuales	41
VII. RESULTADOS	
7.1. Experimento 1	42
7.2. Experimento 2	47
7.3. Experimento 1 y 2	52
7.4. Resultados de HPLC	55
VIII. DISCUSION	58
IX. CONCLUSIONES	64
X. REFERENCIAS	65

RESUMEN

El estriado ha sido relacionado con el aprendizaje de procedimiento y con una forma de aprendizaje de procedimiento es el aprendizaje de respuesta o egocéntrico. Además, se ha determinado que al abatir la serotonina cerebral se produce una facilitación en pruebas diseñadas específicamente para evaluar el aprendizaje egocéntrico; por lo que, se ha propuesto que la serotonina es un modulador importante de este tipo de aprendizaje. Sin embargo, no se ha establecido que el estriado sea la estructura subyacente a dicha facilitación, ni que relación pudiera tener con la dopamina estriatal, lo que sería importante ya que se conoce que existe una estrecha interacción entre ambos neurotransmisores en esta región, y que la dopamina estriatal está involucrada en la consolidación de memoria de procedimiento. Con el objetivo de establecer la participación de la dopamina estriatal en la facilitación del aprendizaje egocéntrico inducida por el abatimiento de serotonina estriatal. Para lo cual utilizamos 15 ratas Sprague-Dawley divididas en dos experimentos: E1 (n = 7) y E2 (n = 8) las cuales fueron implantadas crónicamente con cánulas de infusión para aplicar fármacos al estriado. En el experimento 1 las ratas recibieron solución salina y 10 minutos después fueron evaluadas en el aprendizaje egocéntrico usando el Laberinto acuático de Morris. 8 días después realizaron una segunda prueba conductual, 10 minutos después de recibir una infusión de antagonistas de dopamina (D1 y D2). Un día después de esta prueba recibieron la infusión bilateral de 5,7-DHT al estriado, y 8 días después realizaron la tercera prueba conductual. En el experimento 2 las ratas realizaron la primera prueba 10 minutos después de la aplicación de solución salina. Al día siguiente se les aplicó 5,7-DHT y ocho días después realizaron una segunda prueba. La tercera prueba conductual fue realizada 10 minutos después de la infusión de los antagonistas dopaminérgicos. Al finalizar las pruebas, los animales fueron decapitados y se determinó el contenido de serotonina, 5HIAA, dopamina, HVA y DOPAC; mediante HPLC. En ambos experimentos en la condición de solución salina los animales no fueron

capaces de reducir sus latencias de escape significativamente, a este respecto, existen reportes de que animales adultos normales no pueden aprender la prueba en 5 ensayos consecutivos. En la condición del bloqueo de la actividad dopaminérgica los animales fueron incapaces de reducir su latencia de escape. En condiciones de una disminución casi total de serotonina estriatal (E1 y E2) los animales redujeron significativamente la latencia de escape, demostrando que el abatimiento de serotonina estriatal produce la facilitación de dicho aprendizaje. Finalmente, en condiciones de abatimiento de serotonina simultáneo al bloqueo dopaminérgico la facilitación que se había observado por la sola eliminación de serotonina desapareció. La facilitación del aprendizaje egocéntrico observado luego de la denervación serotoninérgica estriatal, posiblemente se originó en el aumento de la actividad dopaminérgica, ya que la serotonina a través de varios subtipos de receptores regula la liberación de este transmisor. Además los resultados de HPLC indicaron de manera indirecta una mayor actividad dopaminérgica. Las neuronas espinosas medianas del estriado se encuentran bajo un control sináptico altamente complejo, ya que por un lado, reciben la influencia de entradas excitadoras glutamatergicas y por otro lado, la interacción de dopamina, acetilcolina y serotonina, podrían modular las entradas corticoestriatales, dando lugar a una mayor eficiencia de los animales al realizar tareas de aprendizaje egocéntrico.

En conclusión, se produjo una facilitación del aprendizaje espacial egocéntrico, tras el abatimiento de serotonina estriatal mismo que fue dependiente de la dopamina estriatal, ya que cuando se administraron antagonistas dopaminérgicos, dicha facilitación desapareció.

ABSTRACT

Striatum has been related with the organization of procedural learning and memory, as well as, with the egocentric learning organization. It has been showed that a facilitation of egocentric learning results from the cerebral serotonin depletion, thus; serotonin has been involved in the egocentric learning modulation. However, it has not been established if the striatum could be the underlying structure in the egocentric learning facilitation expressed after serotonin depletion. Moreover, if a relationship exists between striatal dopamine and the egocentric learning facilitation has not been investigated. This could be possible since, both neurotransmitters are tightly related in the striatum, and the striatal dopamine participates in the consolidation of procedural learning. In order to investigate if striatum is the underlying structure of the egocentric learning facilitation after serotonin cerebral depletion, and the role of striatal dopamine in the expression of egocentric learning facilitation, 15 Sprague-Dawley female rats were bilaterally implanted with infusion's cannule for striatal application of pharmacy agents and then divided in two groups: Experimental 1 (E1) and 2 (E2). The E1 rats (n = 7) received the infusion of saline solution, ten minutes before the egocentric learning test in the Morris maze. Eight days after the first test, the rats made a second behavioral test following receive the striatal infusion of the dopamine antagonists D1 and D2. The next day the rats received 5,7-DHT and eight days after that, were submitted to the third behavioral test. The E2 rats (n = 8) realized a first test ten minutes after the saline solution application, and the following day received the 5,7-DHT infusion to be evaluated eight days after in their second test. Eight days more late were evaluated after de application of dopamine antagonists in their third test. Follow completion of the behavioral tests, the rats of the two groups were decapitated and the striatal concentration of serotonin, 5HIAA, dopamine, HVA and DOPAC were measured using HPLC. Both groups were unable to significantly reduce their escape latency after the administration of saline solution as has been reported occurs for intact rats. E1 rats were unable to significantly reduce their

escape latency after the dopamine antagonists application. Finally, after the serotonin depletion, both groups showed a significant reduction of their escape latency, and this facilitation disappeared when the rats received the dopamine antagonists application simultaneously to the serotonergic depletion (group E2). Thus, egocentric learning facilitation occurs after striatal serotonin depletion, and is abolished by the dopamine receptors blockade, such that the facilitation is possibly due to the increase of dopaminergic activity resulting from the serotonin depletion. The role of the serotonin in regulating the dopamine release in the striatum is well documented. Moreover the HPLC results indicate although, indirectly, an increase in dopaminergic activity. Striatal spiny neurons of the striatum are under a highly complex synaptic control, these neurons receive excitatory cortical and thalamic inputs. The effects of the excitatory inputs on the spiny neurons activity is regulated by the interaction of dopamine, acetylcholine and serotonin. A higher control of the cortico-striatal inputs in the striatum in conditions of increased dopaminergic activity could result in the higher egocentric learning performance observed in the present work.

In conclusion, the striatal serotonin depletion produces the facilitation of egocentric learning mediated by the dopamine activity, since the blockade of dopamine receptors abolished the egocentric learning facilitation.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. GANGLIOS BASALES

1.1.1. Características generales

Los ganglios basales son un conjunto de núcleos localizados en la base de la corteza cerebral y son las estructuras subcorticales más prominentes del telencéfalo [15]. Están constituidos por el estriado, como componente primario, y además, por el globo pálido (dividido en segmento interno y externo), la sustancia nigra (pars compacta y pars reticulada) y el núcleo subtalámico [47,124].

1.1.2. Organización Topográfica

La organización topográfica y el arreglo en paralelo de los múltiples circuitos cortico-estriato-nigro-talamo-corticales, que conectan a los ganglios basales con la corteza, sugieren una retroalimentación entre estas regiones cerebrales. Así, los ganglios basales tienen dos grandes fuentes de entradas: la corteza cerebral y el tálamo, así como, dos principales proyecciones de salida: el segmento interno del globo pálido y la sustancia nigra pars reticulada [33,76,124].

El principal núcleo de entrada de los ganglios basales es el estriado [Parent,1996], desde 1664 se conoce que recibe proyecciones masivas de la corteza cerebral [76], y es considerado una unidad de procesamiento central [107].

El estriado es una estructura heterogénea, tanto en términos de compartimentalización de constituyentes neuroquímicos, como en términos de

regionalización de su conectividad con otras estructuras corticales y subcorticales [124]; por lo cual, puede dividirse en tres partes: (a) *el putamen*, (b) *el núcleo caudado*, y (c) *el estriado ventral*. Esta división corresponde aproximadamente a una división funcional de sus circuitos: (a) *circuitos sensorimotores* del putamen, que recibe proyecciones de la *corteza motora primaria*, *el área motora suplementaria*, y *la corteza premotora*; (b) *circuitos asociativos* del núcleo caudado, que recibe proyecciones de la *corteza prefrontal*, *parietal* y *temporal*, así como, aferencias de los núcleos intralaminares del tálamo; y (c) *circuitos límbicos* del estriado ventral, que recibe proyecciones de la *corteza del cíngulo anterior*, de *la corteza prefrontal medial* [23,76,82,83,124], así como; de la amígdala y el hipocampo [43]. Por ésta razón el estriado se subdivide en territorios sensorimotor, asociativo y límbico [38,83].

El globo pálido recibe entradas principalmente del estriado y del núcleo subtalámico. Específicamente el globo pálido interno, envía proyecciones masivas al núcleo talámico ventral, al centromediano y a la habénula lateral, [83]. El globo pálido ésta poblado por un número pequeño de neuronas grandes, con una arborización discoidal, estos discos dendríticos permanecen paralelos a los bordes laterales tanto del globo pálido interno como del externo, con su gran superficie perpendicular para la llegada de los axones estriatales, todas las neuronas palidales usan GABA como su principal neurotransmisor [83].

La sustancia nigra se divide en Sustancia nigra pars reticulada, compuesta por neuronas GABAérgicas que ramifican al tálamo, colículo superior y núcleo pedúnculo pontino; y la sustancia nigra pars compacta, que contiene neuronas dopaminérgicas y también contiene neuromelanina, un pigmento negro derivado de la dopamina oxidada y polimerizada. La sustancia nigra recibe más entradas del territorio asociativo estriatal que del sensorimotor mientras que proyecta al territorio estriatal sensorimotor y asociativo [47,83], pero no envía eferentes al estriado [83].

Finalmente, el núcleo subtalámico se considera un punto nodal en el circuito de los ganglios basales ya que recibe proyecciones estriatales de territorios

sensorimotora, asociativa y límbica, éste es marcadamente diferente en primates que en roedores, anatómicamente está conectado estrechamente con ambos segmentos del globo pálido y la sustancia nigra; las células glutamatérgicas de éste núcleo son las únicas proyecciones excitadoras de los ganglios basales [47,83].

1.1.3. Circuitos Intrínsecos

Existen dos rutas paralelas para procesamiento de información en los ganglios basales: una directa y otra indirecta. La llamada ruta *directa*: esta formada por neuronas que tienen proyecciones directas del estriado al segmento interno del globo pálido y a la sustancia nigra pars reticulada, de esta manera, las neuronas activas tónicamente en el pálido están brevemente suprimidas, esto permite que el tálamo y finalmente la corteza sean activadas o desinhibidas (retroalimentación positiva); por otro lado, la ruta *indirecta*: esta formada por neuronas que proyectan primero del estriado al segmento externo del globo pálido y de ahí al núcleo subtalámico, en una ruta puramente gabaérgica, y finalmente del núcleo subtalámico a los núcleos de salida en una proyección glutamatérgica excitadora, por lo que la activación fásica de ésta ruta aumenta transitoriamente la inhibición de las neuronas tálamo-corticales (retroalimentación negativa) [47,124].

1.1.4. Función motora

La existencia de procesos neurodegenerativos que afectan a los ganglios basales y que producen desórdenes motores, fueron las primeras evidencias de su participación en el control motor [60].

Los ganglios basales participan en la organización del movimiento voluntario [8]. Esta clase de movimientos están siempre asociados con procesos de control automático que son realizados inconscientemente [37]. Por ejemplo, la iniciación y terminación de la locomoción, así como la evitación de obstáculos

durante la locomoción, son movimientos voluntarios que requieren un control preciso, parte del cual es logrado inconcientemente [64].

Los ganglios basales controlan el tono muscular postural y la locomoción mediante procesos inconcientes que requieren control exacto (inhibición/desinhibición combinada), tales aspectos de la locomoción están seriamente deteriorados en la enfermedad de Parkinson, al igual que en la enfermedad de Huntington, ya que se presentan movimientos inútiles y no deseables que interfieren con la ejecución de movimientos útiles y deseados; lo que indica, que los ganglios basales son cruciales integrando los aspectos voluntario y automático en el control descendente de la postura y movimiento [112, 124].

En lo que respecta al procesamiento de información motora por las dos vías principales previamente descritas, la activación de la ruta directa facilita el movimiento, mientras que, la activación de la ruta indirecta inhibe el movimiento; las dos rutas de salida estriatales son afectadas diferencialmente por la proyección dopaminérgica de la sustancia nigra pars compacta al estriado [47].

Los ganglios basales no generan la orden para la contracción muscular, sino más bien especifican la combinación, dirección y secuencia de movimientos en la ejecución de una respuesta motora [33], ya que, el desempeño y el aprendizaje de movimientos secuenciales, parecen involucrar la activación en diferentes circuitos de los ganglios basales [60].

1.1.5. Función cognoscitiva

Durante mucho tiempo se han reconocido las funciones de los ganglios basales, y se han clasificado estrictamente como un sistema motor, sin embargo, existen evidencias de que los ganglios basales pueden participar en los procesos de aprendizaje y memoria, principalmente en el establecimiento de asociaciones estímulo-respuesta, y a través de su interacción con la corteza cerebral, pueden contribuir en una variedad de procesos cognoscitivas [47,76].

Entre las diferentes evidencias experimentales que involucran a los ganglios basales con los procesos cognoscitivos se encuentran diferentes estudios con técnicas de neuro-imágenes cerebrales en los cuales, se reveló la presencia de cambios selectivos y similares en los ganglios basales en humanos, durante el desempeño de tareas motoras en comparación a evaluaciones cognoscitivas [45,46]. Por ejemplo, el desempeño automático de secuencias visuo-motoras previamente aprendidas estuvo asociado con el aumento en la activación de la porción sensorimotora del putamen. En contraste, el aprendizaje de secuencias nuevas estuvo asociado con cambios en actividad en el caudado dorsolateral, porciones rostr dorsales del globo pálido y el núcleo anterior ventral del tálamo [2].

En otras investigaciones, en las cuales se realizaron estimulaciones eléctricas post-entrenamiento de los ganglios basales en animales experimentales, se observó que estos núcleos están implicados en procesos de memoria implícita o de procedimiento [40,97] de manera similar a lo que ocurre en humanos. Dado que la corteza cerebral esta altamente desarrollada en humanos (especialmente el lóbulo frontal), se ha sugerido que el circuito corticoestriatal puede dar como resultado funciones más complejas en humanos. De acuerdo con ello, pacientes con desordenes de los ganglios basales presentan deterioro en un gran número de tareas cognoscitivas, por ejemplo, en la enfermedad de Huntington, que involucra la pérdida de células en el estriado [76], se observan deficiencias que afectan principalmente tres grandes dominios: memoria, particularmente explícita-episódica; función ejecutiva, con alteraciones sobre memoria de trabajo, atención, planeación y secuenciación de eventos; y por último, funciones visuo-espaciales [98] que pueden ser severamente afectadas e incluir el reconocimiento de figuras complejas y de gestos faciales, tareas de reconocimiento espacial y reconocimiento de patrones, así como, en pruebas de memoria de trabajo espacial [50].

De igual forma en la enfermedad de Parkinson's se presenta una variedad de deficiencias cognoscitivas [76]. Entre ellas, deficiencias en la memoria de trabajo espacial, las cuales al parecer se hallan ligadas a la progresión espaciotemporal de la disminución de dopamina estriatal [75]. Dichas deficiencias visuo-espaciales se presentan tempranamente e implican al sistema dopaminérgico nigroestriatal en la modulación de circuitos cortico-estriatales

relacionados con los procesos ejecutivos necesarios para el aprendizaje de localización espacial. [86].

Estos resultados sugieren que la conexión de los ganglios basales con áreas prefrontales de la corteza, está involucrada en operaciones cognitivas como la planeación de acciones y el monitoreo de una localización espacial [60].

1.2. ORIENTACIÓN ESPACIAL

La navegación espacial es el proceso de determinar y mantener un curso o trayectoria de un lugar a otro, estimando una posición con respecto al mundo conocido. Durante la navegación cotidiana, los humanos, por un lado encuentran predominantemente complejo el mundo en el que viven y se mueven, desde una perspectiva de primera-persona, y por otro lado sus experiencias perceptuales pueden ser usadas no sólo para adquirir rutas conocidas sino también para agrupar directamente como mapas espaciales las representaciones valoradas [30,128].

1.2.1. Estrategias de navegación

En la navegación espacial existen diversas estrategias cognitivas y diversos tipos de marcos de referencia (dependientes de una localización), con los cuales se realizan mapas cognitivos espaciales, de tal manera que existen representaciones de la conectividad del espacio, que permiten la construcción de una nueva ruta a través de un terreno no familiar, a partir de información direccional sobre otra localización, que es usada por el cerebro para establecer relaciones entre nuestro cuerpo y el ambiente. Estas capacidades espaciales pueden ser explicadas sólo si se asume que el individuo posee una representación de alguna característica del ambiente, además de que diversas estructuras cerebrales realizan una contribución específica para la navegación espacial [5,42,90,91].

Experimentalmente la capacidad de orientarse en el espacio ha sido evaluada utilizando el Laberinto acuático de Morris. Este dispositivo fue diseñado por Richard Morris para evaluar la capacidad de los animales experimentales (ratas) para desarrollar mapas espaciales en base a señales extralaberinto. El laberinto consiste de una tina redonda o piscina, llena con agua opaca, con una temperatura de 26 °C; donde las ratas tienen que nadar para buscar una plataforma sumergida (por lo tanto invisible), sobre la cual pueden escapar del agua [67].

El laberinto es dividido en cuatro cuadrantes iguales (suroeste, noroeste, noreste y sureste) y la plataforma se encuentra intermedia entre el lado de la pared y el centro de la piscina en uno de los cuadrantes [67].

El desempeño normal en el laberinto acuático de Morris requiere memoria no solo para la localización espacial de una plataforma, sino también para aspectos de procedimiento, es decir, el uso de estrategias para la búsqueda de la plataforma [105].

Se ha encontrado que los animales pueden resolver tareas en un laberinto mediante diferentes estrategias, y hay evidencia de que existe una triple disociación de aprendizaje y memoria entre el hipocampo, la amígdala y estriado dorsal, de manera que pueden adquirir información simultáneamente y en paralelo [56].

1.2.2. Sistemas de memoria

Por un lado, el sistema hipocampal adquiere información sobre relaciones entre estímulos, lo que permite a éste sistema formar una representación cognoscitiva del ambiente (mapa), esta capacidad se ha denominado aprendizaje de lugar. El complejo amigdaloides adquiere información sobre relaciones entre estímulos neutros que estén y estímulos biológicamente significativos, y el estriado dorsal es parte de un sistema de aprendizaje que adquiere asociaciones estímulo-respuesta reforzadas, es decir, estímulos neutros y respuestas motoras que ocurren en conjunción con eventos reforzados [55,56].

De tal manera, se sugiere que en la formación de asociaciones estímulo-respuesta, los animales aprenden ésta tarea por la adquisición de tendencias

hacia una respuesta, por ejemplo, girar el cuerpo en una dirección específica, un aprendizaje estímulo-respuesta se consolida gradualmente por la repetición del reforzamientos, el cual no requiere el establecimiento de mapas espaciales [77]. Así, el estriado estaría implicado en el aprendizaje de señal (también llamado de taxón) como se denomina a estas asociaciones estímulo respuesta en el contexto de la navegación espacial, de manera que un individuo es capaz de identificar una señal prominente en el espacio y dirigirse hacia ella (la señal puede tener ella misma valor de recompensa o estar asociada a una). En estas asociaciones establecidas por el sistema estriatal los movimientos que constituyen las respuestas específicas son parte de lo que es aprendido [55,79].

Además se ha relacionado al estriado con el aprendizaje de procedimiento [40,55,79,127] que se define como la adquisición y retención implícita de habilidades o hábitos [20]; que da lugar a una forma de memoria que no es verdadera o falsa sino que es expresada a través del desempeño más que de la recolección de información [109], no depende directamente de procesos conscientes por lo cual, no requiere realizar una búsqueda consciente de memoria. Este tipo de memoria se forma lentamente, a través, de repeticiones durante muchos eventos [47].

Una forma de aprendizaje de procedimiento es el aprendizaje de respuesta o egocéntrico [96]. Este es una forma de aprendizaje espacial, en el que los animales aprenden a encontrar lugares específicos en el espacio mediante la adquisición de respuestas basadas en la orientación del cuerpo con respecto a sus propios movimientos (egocéntricas). Los individuos localizan un punto en el espacio en base a su propio movimiento, la localización de un punto específico se lograría lentamente a través de la repetición del evento y producirá una secuencia de movimientos bastante fija para localizar el punto dado. En este tipo de aprendizaje espacial también se ha involucrado a los ganglios basales, particularmente el estriado [72].

1.3. ESTRIADO

1.3.1. Anatomía

El estriado puede ser dividido en base a características anatomo-funcionales en estriado dorsal y ventral. El estriado ventral, esta compuesto por el núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio, y las principales entradas a ésta región se originan de la formación hipocampal y primariamente la corteza olfatoria, y del área entorrinal. [38,83]. El estriado ventral constituye una interfase entre los estados motivacionales y la acción conductual [63].

Los territorios sensorimotor y asociativo corresponden anatómicamente al denominado estriado dorsal. Se ha propuesto una diferenciación funcional del estriado dorsal en la que la sub-región dorso-lateral (putamen), podría especializarse en la formación de asociaciones estímulo-respuesta; y la sub-región dorso-medial anterior y posterior (caudado), podría contribuir en el control de conductas dadas por funciones espacio-cognitivas de otras estructuras aferentes a ésta sub-región, dando lugar, a una disociación entre éstas dos sub-regiones del estriado dorsal, así como a diferentes interacciones competitivas o cooperativas, dependiendo, a nivel conductual; del tipo o tipos de información disponibles, y a nivel neural, de la sub-región del estriado que maneja cada tipo de información [24,131,76].

1.3.2. Citoarquitectura

La mayoría de las neuronas en el estriado (90-95 %) son neuronas de proyección de tamaño mediano (radio de 300 a 500 μm) de naturaleza Gabaérgica, y son llamadas neuronas espinosas medianas, porque un gran número de espinas cubren sus dendritas. Los cuerpos celulares (12-20 μm) y los troncos dendríticos iniciales están usualmente libres de espinas. Una neurona espinosa tiene generalmente de 25-30 bifurcaciones terminales

dendríticas, por lo cual, éste tipo de neuronas son las más cargadas en espinas, en el cerebro [47,124]. Estas células son el principal blanco de entrada cortical y la única fuente de salida del estriado, ellas están inactivas excepto durante el movimiento o en respuesta a un estímulo periférico [47].

En primates las neuronas espinosas medianas, pueden ser subdivididas en dos grupos: las que proyectan al segmento palidal externo y expresan los neuropeptidos encefalina y neurotensina, y; las que proyectan al segmento palidal interno y a la sustancia nigra pars reticulada y expresan sustancia P y dinorfina [47,124]. Los axones de las neuronas neoestriatales, están acumulados dentro de pequeños fascículos fibrosos que perforan la materia gris del estriado, dando la apariencia estriada que originó su nombre [124].

En el estriado también existen, tres tipos de interneuronas inhibitorias, caracterizadas como interneuronas colinérgicas gigantes, células en canasta de tamaño mediano y carentes de espinas que contienen GABA y paralbumina, e interneuronas de mediano tamaño que contienen somatostatina y NOS e igualmente carecen de espinas, éstas interneuronas poseen axones con colaterales extensos que reducen la actividad de las neuronas estriatales de proyección [47,124].

Las fibras corticoestriatales terminan primariamente sobre las espinas dendríticas de las neuronas de proyección espinosas medianas en el estriado [38]. Estas fibras han sido descritas como cruciformes axodendríticas, en un patrón establecido por Santiago Ramón y Cajal, que las denominó así, porque toman un curso relativamente en línea recta a través del tejido, pasando sobre dendritas y haciendo sinapsis con ellas, es decir; en éste tipo de patrón de arborización, las fibras individuales atraviesan los campos dendríticos de muchas neuronas, pero no hacen muchas sinapsis con alguna célula dada [124].

1.3.3. Neurotransmisores

La mayoría de los sistemas de neurotransmisores, y a su vez, fibras aferentes estriatales, interneuronas y neuronas de proyección en el estriado, están diferencialmente distribuidos, con respecto a lo que se conoce como

estriosomas (20% del volumen del estriado, caracterizado por bajas concentraciones de acetilcolina y altas concentraciones de varios opioides y sustancia P) y la matriz extraestriosomal circundante (80% restante del estriado, caracterizada por contener neuronas colinérgicas y somatostatina) [36,47,76]. Ambos compartimentos reciben entradas dopaminérgicas de la sustancia nigra (pars compacta), y, mediante análisis bioquímicos, se ha mostrado que los receptores D1 y D2, están distribuidos diferencialmente en los compartimentos estrioso y matriz [33]. Por otro lado, las proyecciones aferentes cortico-estriatales y talamo-estriatales, son glutamatérgicas y están asociadas con la matriz estriatal. Ya que las neuronas espinosas medianas poseen receptores NMDA en abundancia, [124] se ha sugerido que estos dos compartimentos estriatales tienen diferentes receptores y por lo tanto, tienen diferentes papeles funcionales [36,47,76].

1.3.3.1. Dopamina

La dopamina es una catecolamina que controla una variedad de funciones como por ejemplo, actividad locomotora, cognición, emoción y regulación endocrina. Sus diversas acciones fisiológicas son mediadas por dos poblaciones de receptores, los receptores D1 y los receptores D2. El llamado receptor D1, que integra a los subtipos D1 y D5, estimulan la adenilciclasa, mientras que el receptor D2, que integra a los subtipos D2, D3 y D4 inhiben a esta misma enzima y estimulan canales de potasio [62].

La DA, se sintetiza a partir de aminoácido L-tirosina que es transportado a la terminal sináptica donde es convertido a L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por la enzima tirosina hidroxilasa, y posteriormente es descarboxilada por la enzima descarboxilasa de los aminoácidos L-aromáticos (DCAA). Es metabolizada a dihidroxi fenil alanina (DOPAC) por medio de la enzima monoamino-oxidasa (MAO) tipo B, o secuestrada y depositada en vesículas secretorias. La dopamina también puede ser degradada a ácido homovanílico (HVA) a través de la acción secuencial de la enzima catecol-orto-metil-transferasa (COMT) y la MAO [111].

La dopamina forma circuitos discretos como la vía nigroestriatal, mesolímbica, y tuberoinfundibular. El circuito nigroestriatal está compuesto de neuronas DA de la sustancia nigra pars compacta para finalmente inervar al estriado, y se asume que éste circuito es crítico para mantener el control motor normal, así; la destrucción de éstas neuronas es asociada con la enfermedad de Parkinson, sin embargo, ahora está claro que éstas proyecciones promueven una variedad de funciones adicionales [111].

Las dendritas distales de las neuronas espinosas medianas reciben entradas corticales, mientras que los cuerpos celulares y las dendritas proximales son los blancos de aferentes intrínsecos colinérgicos [33].

Los axones dopaminérgicos participan en arreglos triádicos altamente especializados con neuronas espinosas de proyección, que también reciben una entrada excitadora de la corteza, por lo que la dopamina podría modular las entradas corticales, y talámicas, sobre las espinas de las mismas neuronas espinosas medianas, que como se explico anteriormente son las principales neuronas de salida del estriado [33]. Se sabe además que la DA modula la liberación de glutamato en el estriado, probablemente a través de receptores D2 y otros estudios mostraron que la DA reduce el número de potenciales de acción de las neuronas estriatales [16]. Las respuestas de los receptores glutamatergicos tipo NMDA son reguladas por la activación de receptores D1, mientras que, los receptores D2 atenúan las respuestas al glutamato mediadas por la activación de receptores NO-NMDA, así, la dopamina tiene diferentes efectos modulatorios de la entrada cortico-estriatal [16].

Los receptores D1 y D5 están co-localizados principalmente en neuronas de proyección espinosas medianas del núcleo caudado, y solo el receptor D1 es transportado a las terminales estriatonigrales, por otro lado, el receptor D2 está presente también, en neuronas espinosas medianas, pero hay más concentración de estos receptores en las espinas dendríticas y en las cabezas dendríticas que en el soma, están presentes en dendritas de la sustancia nigra pars compacta y están mucho más concentradas en el segmento externo del globo pálido que en otras regiones estriatales [62]

1.3.3.2. Serotonina

El estriado recibe innervación aferente de grupos celulares del tallo cerebral que modulan la actividad de las neuronas estriatales, entre ellos, el sistema serotoninérgico originado en los núcleos del rafé [38]. Sólo el 2% de la serotonina es localizada en el cerebro, y es el rafé dorsal, el que contiene aproximadamente 50% del total de las neuronas serotoninérgicas en el SNC de los mamíferos. La 5-HT juega un papel principalmente modulador, ya que la amplia distribución del sistema serotoninérgico indica un alto grado de colateralización de estos axones [111]. Por otro lado, las neuronas del rafé dorsal proyectan a los ganglios basales, particularmente al estriado, (dorsal y ventral), y también, envían colaterales a la sustancia nigra [28,38].

La serotonina esta involucrada en la regulación de la ansiedad, cognición, sueño, apetito, conducta sexual y memoria [115]. El precursor para la síntesis de serotonina es el L-triptofano, un aminoácido esencial que a traviesa la barrera hematoencefálica [38]. La serotonina es sintetizada en la terminal presináptica donde el triptofano es convertido a 5-hidroxitriptofano por medio de la enzima triptofano hidroxilasa y subsecuentemente a 5-HT por una enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos [111]. Como en el caso de muchos neurotransmisores clásicos, la terminación de los efectos de la serotonina en la hendidura sináptica se debe en gran parte a un proceso activo de recaptura mediado por el transportador a serotonina (5-HTT). La distribución regional de este transportador, corresponde a estructuras como el estriado en donde se encuentran terminales axónicas sinápticas de neuronas serotoninérgicas. La serotonina puede ser metabolizada a ácido 5-hidroxi-indol-acético por la enzima monoamino oxidasa, o secuestrada y depositada en vesículas secretorias a través de transportadores de monoaminas [111].

Se han identificado siete tipos de receptores a serotonina, muchos de los cuales tienen diferentes subtipos [38]. De este modo, se han descrito 5 subtipos para el receptor 5-HT1: 5-HT1A, B, D, E y F. 3 subtipos para el receptor 5-HT2: 5-HT2A, B y C. 2 subtipos para 5-HT3: 5-HT3A y B. 2 subtipos para el receptor

5-HT5: 5-HT5_A y B. Finalmente 1 subtipo para los receptores 5-HT4, 5-HT6 y 5-HT7. De todos ellos, se encuentran localizados en estriado entre otros el 5-HT1_D, 5-HT2_A, 5-HT2_C, 5-HT3, 5-HT4 y 5-HT6; por otro lado, se localizan en globo pálido y sustancia nigra los subtipos 5-HT1_B, 5-HT1_D, 5-HT1_E y 5-HT4, en el núcleo subtalámico, sólo se localizan el 5-HT1_D y el 5-HT1_E. [41,69].

Todos los receptores a serotonina excepto el receptor 5-HT3, están acoplados a proteínas G, tienen diferente afinidad para serotonina, activan diferentes rutas de transducción, y tienen diferente susceptibilidad para agonistas y antagonistas, así como diferentes respuestas a señales ambientales, [115]. Además la serotonina actúa presinápticamente sobre terminales dopaminérgicas y colinérgicas, debido a la existencia de receptores 5-HT1 y 5-HT2 [84].

Existen evidencias de investigaciones recientes, en las que se usaron tratamientos farmacológicos post-entrenamiento, que indican la participación de la neurotransmisión dopaminérgica, glutamatérgica y colinérgica, en los procesos de memoria en el estriado [76].

Diversos estudios farmacológicos han mostrado que tanto receptores D1 como D2, median los efectos de DA sobre el aprendizaje y memoria, [51,80,122,123]. Por otro lado, en pacientes con la enfermedad de Parkinson también se ve alterada la transmisión serotoninérgica [35].

II. ANTECEDENTES

Las funciones en las que se han visto involucrados los ganglios basales incluyen: control motor, aprendizaje motor, secuenciación, atención dirigida y filtrado de información, memoria de trabajo y aprendizaje y memoria implícita. Estas operaciones pueden tener un papel importante tanto en la adquisición de conductas que son desempeñadas automáticamente, como en el incremento de la eficiencia de procesos de alto orden como los que implica la memoria de trabajo [97]. De esta manera, las enfermedades que afectan a los ganglios basales presentan síntomas motores, cognoscitivos y psiquiátricos [130]. Con respecto a las alteraciones cognoscitivas asociadas a estas patologías, estudios recientes muestran la presencia de deficiencias en la memoria de trabajo espacial en etapas tempranas de la HD y que estas deficiencias persisten a lo largo de la enfermedad. Además, se encontró que durante la etapa de inicio (asintomático) de la enfermedad existe una correlación entre los niveles de receptores estriatales a dopamina (medidos por tomografía de emisión de positrones-PET-) y el desempeño cognoscitivo, en tareas de fluencia verbal, planeación y generación de secuencias y en navegación espacial [49]. Estos pacientes presentan dificultades para recordar la localización espacial de objetos [106]. Mientras que, en la enfermedad de Parkinson las alteraciones cognoscitivas que parecen presentarse al inicio de la enfermedad, son cada vez más frecuentes y provocan importantes alteraciones en el entorno social de los pacientes [130]. Entre estas alteraciones cognoscitivas se encuentran bradifrenia, deficiencias en el cambio de patrones conductuales, y alteración de la memoria de trabajo espacial [52].

La memoria de trabajo espacial juega un papel importante en la planeación y la ejecución de una acción motora en favor de objetivos conductuales y se ha propuesto que el núcleo caudado es un importante mediador de esta función ya que esta involucrado en la integración de la información espacial para la

formulación de respuestas conductuales [1,18]. Se ha encontrado evidencia de que el establecimiento de un código motor prospectivo se basa en una transformación sensorial-motora mediada por el núcleo caudado. Está transformación posiblemente esta basada en la interacción recíproca con la corteza pre-motora y emplea estímulos o señales definidos egocéntricamente, (localización con respecto al organismo) [88,89].

Ya que el estriado es una estructura muy grande y como has sido descrito previamente, muy heterogénea estructural y funcionalmente, se ha observado que no todas las partes del estriado, están similarmente involucradas en los mismos procesos mnemónicos [105]. Por ejemplo, se ha establecido la participación del estriado postero-ventral en el aprendizaje y la memoria en el laberinto acuático de Morris, y el tratamiento con drogas o la realización de lesiones específicas al núcleo caudado afectan selectivamente el aprendizaje y memoria señalizados (asociación estímulo-respuesta), por lo cual el núcleo caudado está involucrado en la consolidación de diferentes formas o tipos de memoria [57,78,81].

En otros experimentos, animales con lesiones al estriado medial, estriado lateral e hipocampo, así como, ratas control, fueron entrenados en tareas de memoria declarativa y de procedimiento, esta última correspondió a tareas de aprendizaje secuencial. Los resultados mostraron que ratas con lesiones al estriado medial fueron deficientes en el aprendizaje de procedimiento, pero no presentaron alteraciones en su capacidad para generar respuestas explícitas (declarativas). Las lesiones al hipocampo produjeron resultados opuestos, así mismo, ratas control usaron predominantemente señales egocéntricas para resolver las tareas de procedimiento, y señales espaciales alocéntricas para resolver las tareas declarativas. Por lo que se sugiere que existe una doble disociación entre el estriado medial y el hipocampo en el procesamiento de información secuencial de procedimiento-egocéntrica y declarativa-alocéntrica, [20].

El aprendizaje implícito de secuencias espaciales (visuomotoras), se ha asociado a regiones cerebrales fronto-estriatales, y se ha sugerido que el estriado puede ser un modulador crítico en el procesamiento de la orientación espacial centrada en el cuerpo (egocéntrica). Esto se observó en estudios con

técnicas de neuro-imagen en humanos adultos. Por otro lado al administrar AP-5, un antagonista al receptor NMDA, al estriado dorsal en animales experimentales se observó un deterioro en la consolidación de la memoria espacial, cuando la información espacial adquirida fue de naturaleza egocéntrica [22,61,114].

Ratas con lesiones unilaterales en el estriado dorsal realizadas con ácido quinolínico fueron entrenadas en una cámara operante de selección múltiple, para realizar tareas de tiempo de reacción de selección visual, mismas que fueron diseñadas para evaluar el funcionamiento de cada lado del cuerpo de la rata, es decir, se entrenaron para desempeñar la tarea en ambos lados independientemente si recibían inyecciones unilaterales de ácido quinolínico o no. Los resultados mostraron los animales lesionados aumentaron su tiempo de reacción, cuando desempeñaron las tareas sobre el lado contralateral de la lesión, por otro lado deficiencias no comparables fueron observadas cuando los animales desempeñaron tareas sobre el lado ipsilateral a la lesión, esta incapacidad de los animales para realizar respuestas en el espacio contralateral a la lesión fue interpretada como una interrupción de respuestas espaciales organizadas egocéntricamente resultante de la lesión estriatal [9]. Por otro lado animales con lesión al núcleo caudado presentan deficiencias severas en la retención de tareas egocéntricas, lo que indica que el núcleo caudado modula el procesamiento de señales espaciales egocéntricas [17,18].

Diversos sistemas de transmisores tienen una función primaria en los procesos cognoscitivos, pero el alcance de las interacciones entre los sistemas neuroquímicos es enorme. Actualmente existe un panorama de complejidad creciente acerca de la distribución, interacción y funciones de los neurotransmisores en los ganglios basales, estas interacciones involucran a la dopamina, la serotonina, la acetilcolina, el glutamato y el GABA; y su naturaleza se ha comenzado apenas a esclarecer [12,101].

Las deficiencias de memoria de trabajo afloran tempranamente en la enfermedad de parkinson, y al igual que en la enfermedad de Huntington, la evolución de estas deficiencias ha sido vinculada con la progresión espacio temporal de la disminución dopaminérgica dentro del estriado [52]. Con respecto a esto último, la contribución de la deficiencia dopaminérgica estriatal

para la severidad de las deficiencias motoras ésta bien establecida en la enfermedad de Parkinson, mientras su papel en la ocurrencia de cambios cognoscitivos no se ha establecido completamente [10]. Sin embargo se conoce que la dopamina participa en los mecanismos fronto-estriatales del control de respuestas motoras [19].

Experimentalmente, se ha observado que la administración de Sulpiride (antagonista del receptor de dopamina D2), inmediatamente después del entrenamiento produce deficiencias en la consolidación de la memoria en tareas de evitación inhibitoria [105]. Mientras que la administración intraestriatal crónica de ácido quinolínico en ratas, produce deficiencias en tareas de aprendizaje espacial, así como también un aumento en los errores en memoria de trabajo y de referencia en un laberinto acuático radial de ocho brazos [106].

El alto impacto de la dopamina sobre el aprendizaje y la memoria, puede asociarse con la doble función de este neurotransmisor tanto en procesos motivacionales como en la organización de la memoria de procedimiento; la memoria de procedimiento responde a cambios en la actividad dopaminérgica en el estriado y la corteza prefrontal, [67]. Se ha encontrado que tanto la aplicación de DA al estriado como la estimulación de la sustancia nigra producen un aumento en la liberación basal de glutamato en dicha región, mientras que la aplicación de antagonistas a DA inhiben la liberación de glutamato evocada por estimulación de la corteza frontal. Así, se ha propuesto que el principal papel de la dopamina en el estriado es modular la plasticidad sináptica de las entradas cortico-estriatales a través de receptores D1 y D2 [113]. De este modo, la dopamina endógena tiene un papel modulador sobre la neurotransmisión glutamatérgica y sobre el desempeño cognoscitivo en el estriado de la rata [32]. De acuerdo con ello, en humanos normales la memoria de trabajo espacial se facilita por el aumento en la transmisión dopaminérgica, y se deteriora por la disminución de la misma [54]. Por otro lado la interacción entre los sistemas colinérgico y glutamatérgico ha sido involucrada en funciones de memoria; mientras que la interacción entre acetilcolina y dopamina se ha relacionado con diversas funciones cognoscitivas.

Con respecto a la acetilcolina, se ha establecido que la inyección en el estriado de drogas que interactúan con los receptores colinérgicos, influyen en la consolidación de la memoria, en tareas de evitación inhibitoria [92,93].

Existe evidencia de que el estriado dorso-medial (caudado) juega un papel significativo en el aprendizaje de nuevos patrones de respuesta, así como en la inhibición de viejos patrones de respuestas y que la actividad colinérgica en el estriado dorso-medial puede influenciar directamente la plasticidad cortico-estriatal para producir cambios en los patrones de respuesta [95].

Por otro lado, existen reportes del deterioro de la función serotoninérgica en áreas relacionadas con el procesamiento cognoscitivo en pacientes con enfermedad de Alzheimer [120], mientras que en pacientes con enfermedad de Parkinson, la transmisión serotoninérgica estriatal se ve alterada junto con la dopaminérgica [35].

Como fue mencionado previamente, los núcleos del rafé dorsal y medial son las fuentes de mayor inervación serotoninérgica del cerebro, y específicamente el núcleo del rafé dorsal proyecta directamente al estriado, y cuando se estimula eléctricamente éste núcleo se interrumpen diversos procesos de memoria, por mecanismos que involucran a la serotonina [102].

En otros estudios, se ha determinado que la interferencia experimental del sistema serotoninérgico no afecta, impide o mejora el desempeño de los animales en el aprendizaje y memoria espacial [3,66,100]. Así, en experimentos en los que se abatió el contenido de 5-HT cerebral mediante la aplicación intracerebroventricular de 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT), se reportó que no producen efecto alguno sobre el desempeño de las ratas en el laberinto acuático y el radial [66,100], sin embargo cuando la serotonina y la acetilcolina fueron reducidas de manera simultánea, se presentaban severas deficiencias en memoria espacial que incluían también a las estrategias egocéntricas [99]. En otros trabajos, luego del abatimiento de la serotonina cerebral mediante la eliminación de su precursor triptofano de la dieta se evaluó el aprendizaje de lugar en el laberinto acuático de Morris y se observó que los animales realizaban predominantemente estrategias egocéntricas [73]. Además, en pruebas de evitación activa y en la resolución del laberinto de Stone –un laberinto “T” secuencial que requiere que las ratas aprendan una secuencia de giros izquierda-derecha-, los animales con abatimiento de serotonina cerebral tuvieron un mejor desempeño [3,14].

Mientras que en trabajos en los que se evaluó la memoria de corto plazo utilizando el laberinto de Biel de piso firme que consiste en encontrar una ruta correcta a través de varios puntos en T, los animales con abatimiento de serotonina cerebral resolvieron de manera más eficiente esta prueba [34]. En estos dos últimos experimentos existe un fuerte componente egocéntrico, por lo que una posible explicación de los resultados consistió en que la disminución de serotonina podría estar modificando el procesamiento de información egocéntrica ya que aunque en ambos experimentos los animales disponían de información visuoespacial, al tiempo que tenían la posibilidad de basar sus respuestas egocéntricamente.

Así pues, se ha reportado la facilitación en la resolución de laberintos con un fuerte componente de memoria de procedimiento (egocéntrico), luego del abatimiento de serotonina cerebral [3].

Con estos antecedentes, se realizó la evaluación específica del aprendizaje egocéntrico, luego de la eliminación crónica de 5-HT cerebral, mediante la aplicación de una inyección intra-cisternal de 5,7-dihidroxitriptamina, en la rata a los 21 días de edad. Las ratas fueron entrenadas en el laberinto acuático de Morris para encontrar la plataforma sumergida sin señales visuo-espaciales, por lo que, el laberinto fue rodeado con una cortina negra. Se realizaron 5 ensayos por día, con un intervalo inter-ensayo de 2 minutos. Se observó que animales intactos fueron incapaces de resolver esta tarea mientras que, se observó un mejor desempeño conductual sobre el uso de información egocéntrica, y por lo tanto un efecto facilitador del aprendizaje egocéntrico, cuando los animales que recibieron el neurotóxico fueron evaluados a los 60 días de edad [].

Esta facilitación del aprendizaje egocéntrico podría estar mediada por el efecto del abatimiento de serotonina sobre las neuronas estriatales que como fue establecido juegan un papel central en el procesamiento de información egocéntrica y este efecto podría a su vez estar mediado por alteraciones en la función dopaminérgica estriatal. Esta posibilidad se origina de la existencia de una interacción funcional entre la serotonina y la dopamina en el sistema nervioso central que ha sido establecida con base en diferentes estudios

neuroquímicos y electrofisiológicos. Esta interacción tiene una naturaleza recíproca; es decir cuando se afecta a la serotonina esta afecta al sistema dopaminérgico y viceversa [58].

Esta interacción también se ha observado a nivel estriatal [48,58]. Mediante el uso de microscopía confocal para observar terminales nerviosas aisladas (sinaptosomas) se demostró la presencia y acción funcional de receptores presinápticos serotoninérgicos 5-HT₃ con receptores nicotínicos, en el estriado de la rata, [69] y se ha visto que la activación de los receptores presinápticos 5-HT₃, y los receptores nicotínicos, inducen la liberación de diversos neurotransmisores incluyendo dopamina, glutamato, GABA, acetilcolina y norepinefrina, [4,118,129]. Debido a que estos dos receptores residen o se co-localizan sobre la misma terminal nerviosa en el estriado, se sugiere la existencia de una convergencia de las rutas serotoninérgicas y colinérgica en esta región cerebral, ya que ambos receptores están anclados a canales iónicos dependientes de ligandos, y ambos están implicados en la regulación de la neurotransmisión dopaminérgica [69].

Por otro lado, la administración de antagonistas al receptor serotoninérgico 5-HT_{2C} produce un incremento en los niveles de DA y NA sin afectar los de serotonina, en corteza frontal, estriado y núcleo accumbens, de ratas en libertad en movimiento [31]. Mientras que, la aplicación intraperitoneal de antagonistas a este mismo receptor produce un incremento en la liberación de DA en el núcleo accumbens (42 %) y en estriado (33 %), lo que indican que la 5-HT ejerce un control inhibitorio tónico sobre las vías dopaminérgicas mesolímbica y mesoestriatal a través del receptor 5-HT_{2C} [26]. Otro subtipo de receptores, los receptores 5-HT₄, que los sistemas mesolímbico y nigroestriatal poseen en abundancia, tanto en roedores como en humanos, [6,116,117], modulan la liberación de acetilcolina, dopamina, GABA y la misma serotonina, [4].

En otros estudios se ha observado que los receptores 5-HT₆ afectan también la función nigro-estriatal a través de la modulación de la liberación de acetilcolina [7], estos autores encontraron que; al bloquear los receptores 5-HT₆ aumentan la liberación de acetilcolina y por ende de glutamato lo cual estuvo asociado con una mejora en la memoria [103].

Así pues es probable que la facilitación del aprendizaje egocéntrico observada después del abatimiento de serotonina cerebral, sea consecuencia de la modificación de la función estriatal e involucre a la dopamina dada la estrecha relación entre estos transmisores.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al estriado se le involucra en procesos de aprendizaje de procedimiento, mediante estrategias espaciales egocéntricas, y la lesión de esta estructura altera la utilización de estas estrategias. Y Se ha encontrado evidencia de que la serotonina cerebral esta involucrada en la modulación del aprendizaje egocéntrico, de manera que, el abatimiento de serotonina cerebral, facilita el aprendizaje egocéntrico.

Por otro lado la dopamina participa fundamentalmente en la organización de las funciones cognoscitivas sustentadas por la actividad estriatal, y esto se ha demostrado mediante experimentos tanto en animales como en pacientes con enfermedades asociadas a los ganglios basales.

Finalmente, se sabe que existe una relación antagónica entre serotonina y dopamina a nivel estriatal, por lo que la disminución de dopamina estriatal produce un aumento de liberación de serotonina, mientras que, la administración de antagonistas a serotonina, aumentan la liberación de dopamina estriatal. Sin embargo, hasta la fecha no se ha demostrado: Que la modulación serotoninérgica del aprendizaje egocéntrico ocurra a nivel estriatal, ni la relación que puedan tener la DA y la 5-HT estriatales en la regulación del aprendizaje egocéntrico.

IV. HIPÓTESIS

El abatimiento de la serotonina estriatal producirá la facilitación del aprendizaje espacial egocéntrico a través de su acción sobre la función dopaminérgica estriatal en la rata.

V. OBJETIVOS.

5.1. OBJETIVO GENERAL

Establecer la participación de la dopamina estriatal en la facilitación del aprendizaje egocéntrico inducida por el abatimiento de serotonina estriatal.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.** Evaluar el aprendizaje egocéntrico de ratas sometidas a al bloqueo agudo de dopamina estriatal, y al abatimiento de serotonina estriatal.
- 2.** Evaluar el aprendizaje egocéntrico de ratas sometidas al abatimiento de serotonina estriatal, y al bloqueo simultáneo de la función dopaminérgica.

VI. MATERIAL Y METODOS

6.1. Lote experimental

Se utilizaron 15 ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley, de 250 a 350 g de peso, mantenidas bajo condiciones estándar de bioterio con ciclos luz oscuridad de 12X12 horas.

Los animales fueron divididos en dos grupos para integrar los que formarían el experimento 1 (n=7) y el experimento 2 (n=8), mismos que fueron sometidos al procedimiento quirúrgico de implantación de cánulas de infusión de acero inoxidable. Cada uno de estos animales, se entrenaron en la prueba de aprendizaje egocéntrico, bajo tres modalidades diferentes y bajo tres condiciones farmacológicas diferentes que serán descritas posteriormente.

6.2. Implante de cánulas guía

Dos semanas antes de iniciar las pruebas conductuales se colocaron cánulas de infusión de acero inoxidable, en el estriado dorsal derecho e izquierdo de cada animal, con coordenadas estereotáxicas, 1.00 mm anterior a Bregma, 2.8 mm bilateral a la línea media y 5.0 mm ventral a la superficie del cráneo, [85]. Para ello las ratas fueron anestesiadas con Ketamina (50 mg/kg), y Pentobarbital sódico (0.01 ml), aplicados intraperitonealmente. Las cánulas de infusión fueron fijadas al cráneo con acrílico dental y tornillos. Se inserto un tapón en cada cánula y únicamente se retiraba durante la infusión de fármacos. Inmediatamente después de la cirugía, los animales recibían una inyección intramuscular de penicilina (5,000 unidades).

6.3. Aplicación de fármacos

6.3.1. EXPERIMENTO 1.

Los animales recibieron la aplicación de solución vehículo (2.5 µl de solución salina durante 5 min.); y 10 minutos después se realizó la evaluación del aprendizaje egocéntrico en el Laberinto Acuático de Morris de estos animales. Ocho días después de esta primera evaluación conductual, los animales recibieron intraestriatalmente la infusión de una mezcla de antagonistas dopaminérgicos, Espiperona y SCH23390, específicos para la familia de los receptores D1 y D2, respectivamente (20 ng y 10 ng en 2.5 µl de solución salina, durante 5 minutos); y 10 minutos después fueron entrenadas para aprender una nueva posición en el laberinto y por ende una nueva ruta para alcanzar la plataforma, es decir, una segunda prueba conductual.

Al día siguiente tras haber realizado la segunda prueba de aprendizaje egocéntrico, se realizó el procedimiento de lesión de las terminales serotoninérgicas estriatales, aplicando bilateralmente el neurotóxico 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT), 25 µg de base libre disueltos en 2.5 µl de ácido ascórbico al 1%. Treinta minutos antes de realizar la lesión con 5,7-DHT, los animales recibieron desipramina (30mg/kg), intraperitonealmente, con la finalidad de proteger las terminales noradrenérgicas y dopaminérgicas, evitando de esta manera que el neurotóxico actuara sobre estas terminales catecolaminérgicas [66].

Los niveles de serotonina se reducen dramáticamente 8 días después de la lesión (83 % de disminución), resultados similares se observan con el metabolito 5-HIAA [25]; por lo que, 8 días después fueron evaluadas en una tercera prueba conductual.

6.3.2. EXPERIMENTO 2.

Al igual que el grupo E1, los animales recibieron la aplicación de solución vehículo (2.5 µl de solución salina durante 5 min.), y 10 minutos después fueron evaluados en su primera prueba de aprendizaje egocéntrico. Al día siguiente, se realizó el procedimiento de lesión de las terminales serotoninérgicas estriatales, aplicando bilateralmente el neurotóxico 5,7-di-hidroxitriptamina (5,7-DHT), 25 µg de base libre disueltos en 2.5 µl de ácido ascórbico al 1%. Al igual que el grupo E1, los animales recibieron desipramina (30mg/kg), intraperitonealmente, 30 minutos antes de realizar la lesión con 5,7-DHT, para proteger las terminales noradrenérgicas y dopaminérgicas [Murtha y Pappas, 1994]. Transcurridos 8 días los animales fueron evaluados en una segunda prueba conductual. Finalmente, realizaron la tercera prueba de aprendizaje egocéntrico ocho días después de la segunda prueba, 10 minutos después de la aplicación de la mezcla de antagonistas dopaminérgicos Espiperona, D1 y SCH23390, D2 (20 ng y 10 ng en 2.5 µl de solución salina, durante 5 minutos), de esta manera los animales realizaron esta prueba en condiciones de abatimiento de serotonina estriatal y el bloqueo de los receptores dopaminérgicos simultáneamente.

Las microinyecciones de los fármacos se realizaron bilateralmente, usando una micro-jeringa BAS, modelo MD-0050, de 500 µl, bajo el control de una bomba de micro-infusión Bee Hive BAS, modelo MD-1020, a una velocidad de 1.0 µl/min., adaptada a un controlador de rotación del animal, Return from BAS, patente No. 5816256.

6.4. Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

Bajo esta técnica, se cuantificó la disminución de serotonina estriatal como resultado del procedimiento de eliminación de las terminales rafé-estriatales, mediante la medición de las concentraciones de serotonina y su metabolito

principal el ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA), y también, como consecuencia se midieron las concentraciones de dopamina y sus metabolitos el di-hidroxi-fenil-alanina (DOPAC) y el ácido homovanílico (HVA), en todos los animales experimentales. Para fines de comparación se realizó la medición de serotonina y catecolaminas estriatales a un grupo de animales testigo intactos ($n = 15$).

Se realizó la decapitación de las ratas y la disección del tejido en frío (50 mg), se homogeneizó el tejido en 500 μ l de HCL 0.1 N (frío), seguido de dos enjuagues de 100 μ l con agua HPLC (fría) y la aplicación de 30 μ l de ácido perclórico frío, (por 50 mg de tejido). Posteriormente se centrifugó a 5000 RPM durante 5 minutos, y el sobrenadante se retiró para ser filtrado con una membrana de 22 μ m. La fase móvil utilizada estuvo constituida de NaH_2PO_4 0.1 M, EDTA (0.372 g/L), ácido octanosulfónico sódico 2 mM, mantenida a un pH de 3.78 a 3.8, previamente filtrada, desgasificada en un sonificador, y activada con 8 % de metanol filtrado. La velocidad de flujo fue de 0.8 ml/min en una columna Altex ultraesfera ODS 5- μ M que sirvió como fase estacionaria. Se utilizó un equipo Waters con detector electroquímico, mediante un electrodo de referencia de hidrógeno, con un $V_{\text{trabajo}}=0.585$ mV, ajustado para el pH 3.78 y un electrodo de trabajo de pasta de carbono. Los resultados fueron expresados en pg/mg de tejido o en ng/mg de tejido.

6.5. Laberinto Acuático de Morris y pruebas conductuales

Los animales de cada uno de los experimentos fueron evaluados en el aprendizaje espacial egocéntrico usando para ello el Laberinto Acuático de Morris, que consiste de una tina circular de 140 cm de diámetro llena de agua pintada de azul, mantenida a 25 °C, dentro del cual se colocó una plataforma de vidrio de 12X12 cm cuya superficie quedó 3 cm por debajo del nivel del agua. Los entrenamientos se realizaban cada ocho días, y cada prueba conductual constó de 10 ensayos por día, con un periodo inter-ensayo de 1 minuto, en un ambiente sin señales espaciales. El laberinto fue rodeado con una cortina negra uniforme para evitar que los animales usaran señales visuales en la resolución de la prueba y por otro lado, el punto de inicio de la rata y la posición de la plataforma hundida fueron mantenidos en una relación física constante

entre sí, pero rotando de manera aleatoria dentro del laberinto, de tal forma que los animales no pudieran resolver la prueba mediante señales auditivas.

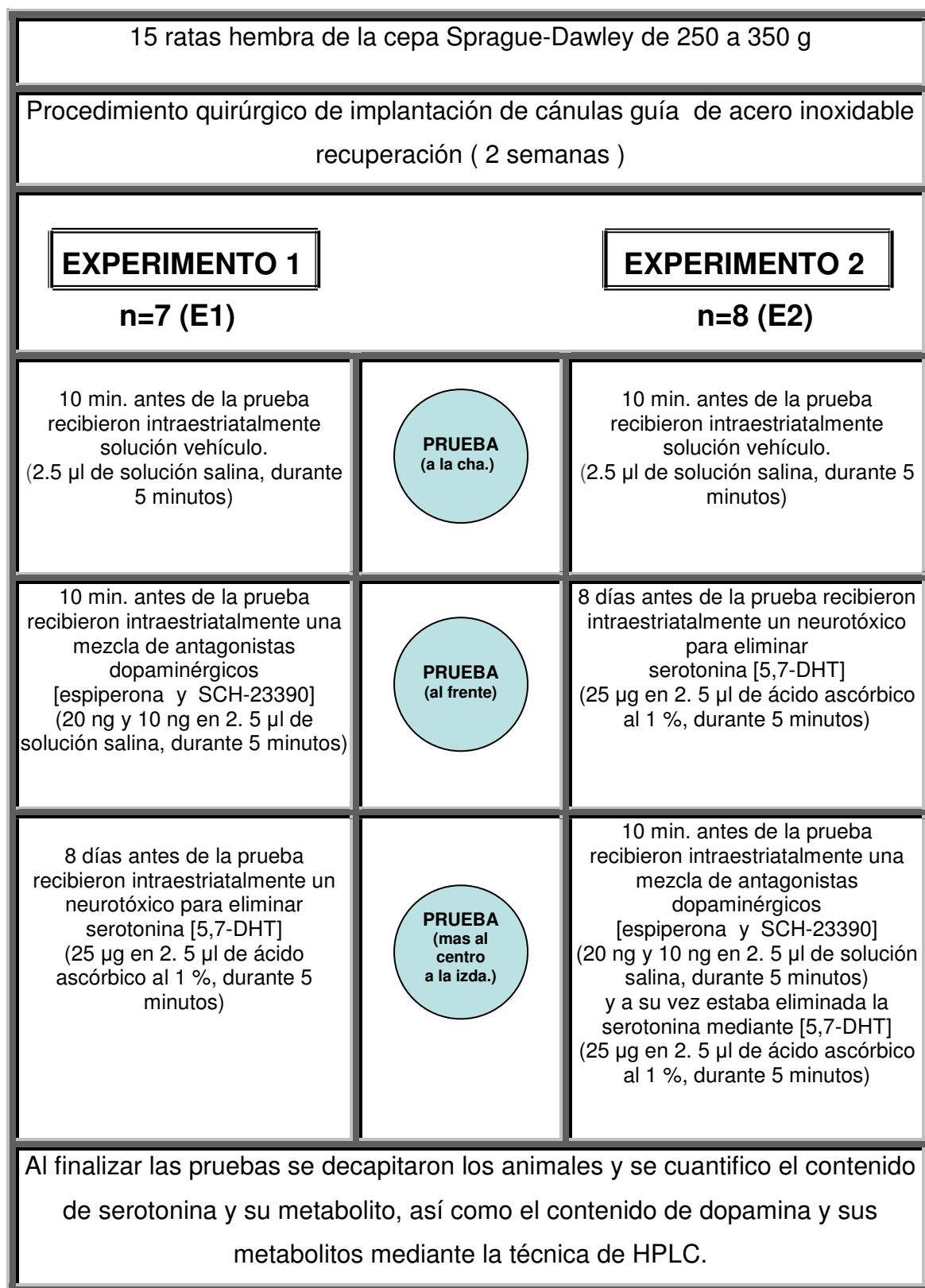
Cada ensayo consistió en lo siguiente, se colocó a la rata dentro de la tina de cara a la pared y se le permitió nadar para buscar la plataforma y una vez que la localizó, se le permitió permanecer sobre ella durante 15 segundos, o en todo caso, se le permitía nadar por un periodo máximo de 60 segundos. Si luego de los 60 segundos la rata no localizaba la plataforma de escape, era colocada sobre ella por el experimentador e igualmente permanecía en ella.

Las rutas de nado fueron video-grabadas con una cámara de video sony, para posteriormente ser procesadas cuantitativa y cualitativamente con un analizador de imágenes digital Zeiss Image 3.0

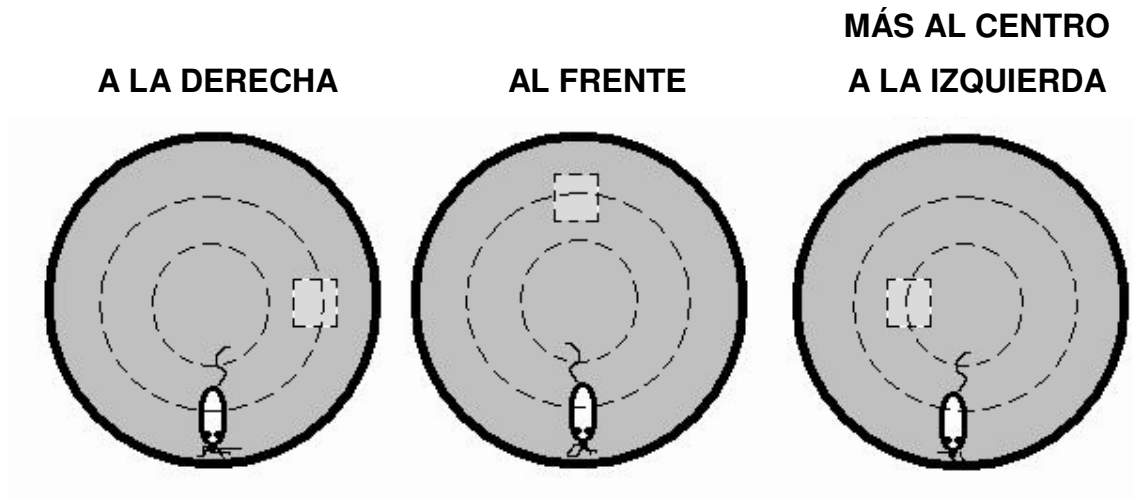
A partir de las pruebas conductuales de los animales se obtuvieron los valores de latencia de escape (segundos que tarda el animal en encontrar la plataforma), la distancia recorrida y la velocidad de nado, éstas se cuantificaron con la finalidad de evaluar el desempeño motor.

Las rutas de nado de los animales fueron trazadas y evaluadas cualitativamente para establecer el uso de la estrategia egocéntrica en la resolución de la prueba.

6.6. Diagrama de Flujo



6.6.1. Esquema de pruebas conductuales



VII. RESULTADOS

La curva de aprendizaje de los animales fue evaluada comparando las latencias de escape obtenidas por el grupo cada ensayo con respecto al primero. Las comparaciones intragrupalas fueron realizadas utilizando el ANOVA de Friedman y la prueba de Wilcoxon como prueba pareada.

7.1. Experimento 1.

En el experimento 1 luego de la aplicación de solución salina, los animales no fueron capaces de disminuir su latencia de escape significativamente ($X^2_r = 15.494$, $p = 0.078$), en ninguno de los nueve ensayos subsecuentes comparados con el primero. De la misma manera, las comparaciones intragrupalas de la segunda prueba, después de la aplicación de la mezcla de los antagonistas dopaminérgicos los animales no fueron capaces de reducir significativamente su latencia de escape ($X^2_r = 13.811$, $p = 0.129$). Sin embargo, en la tercera prueba de aprendizaje ocho días después del abatimiento de serotonina, los animales mostraron una reducción significativa de su latencia de escape ($X^2_r = 27.25$, $p = 0.001$) de manera que los ensayos cinco ($p = 0.043$) siete ($p = 0.018$) y ocho ($p = 0.018$) la latencia fue menor con respecto al primer ensayo, también presentaron una tendencia en los ensayos seis ($p = 0.063$), y diez ($p = 0.063$) (Figura 1).

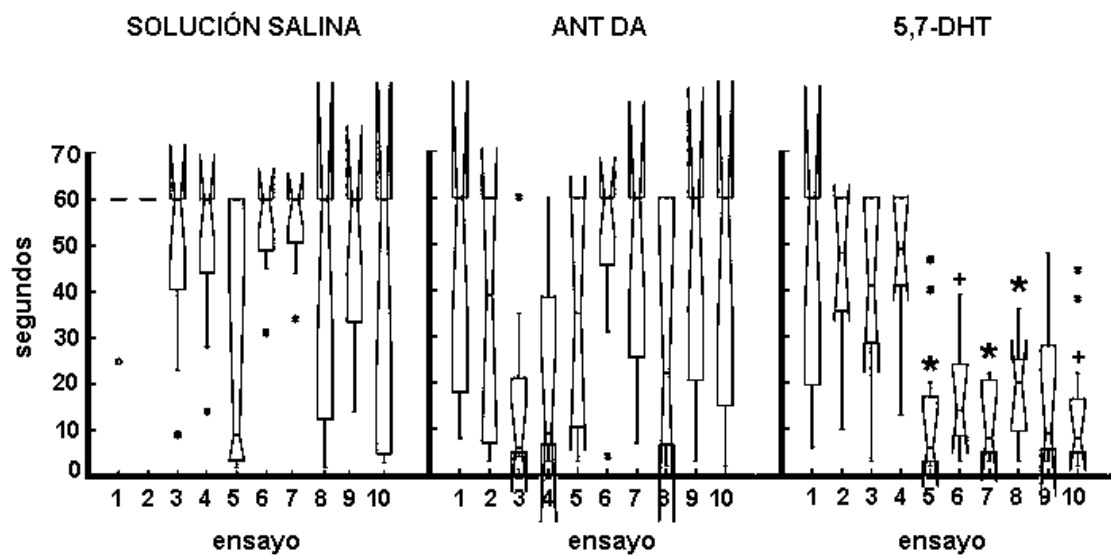


Figura 1. Latencia de escape de los animales sometidos al experimento 1. Mediana \pm error estándar de la mediana. * ensayo 1 Vs los subsecuentes. $p < 0.05$.

Las comparaciones inter-prueba de la latencia de escape fueron realizadas utilizando las mismas pruebas estadísticas ya mencionadas. Comparando las tres pruebas del grupo entre si, observamos que hubo diferencias significativas ($\chi^2_r = 71.63$, $p < 0.001$), de manera que al realizar las comparaciones pareadas observamos que la latencia de los animales durante su segunda prueba luego de la aplicación de la mezcla de antagonistas dopaminérgicos fue menor en el ensayo 4 comparada con la latencia de ese mismo ensayo luego de la aplicación de solución salina, mientras que el grupo presentó latencias más cortas en su tercera prueba ocho días después del abatimiento de serotonina, en comparación con su primera prueba conductual, en los ensayos seis, siete y nueve ($p = 0.034$, $p = 0.018$ y $p = 0.028$, respectivamente); y en los ensayos tres ($p = 0.046$) y seis ($p = 0.018$), en comparación con la segunda prueba (Figura 2). Las rutas de nado de un animal representativo se muestran en la figura 3.

Así la aplicación de antagonistas dopaminérgicos no produjo cambios en el aprendizaje egocéntrico de las ratas, mientras que el abatimiento de serotonina estriatal produjo la facilitación del aprendizaje espacial egocéntrico, evaluado en el corto plazo.

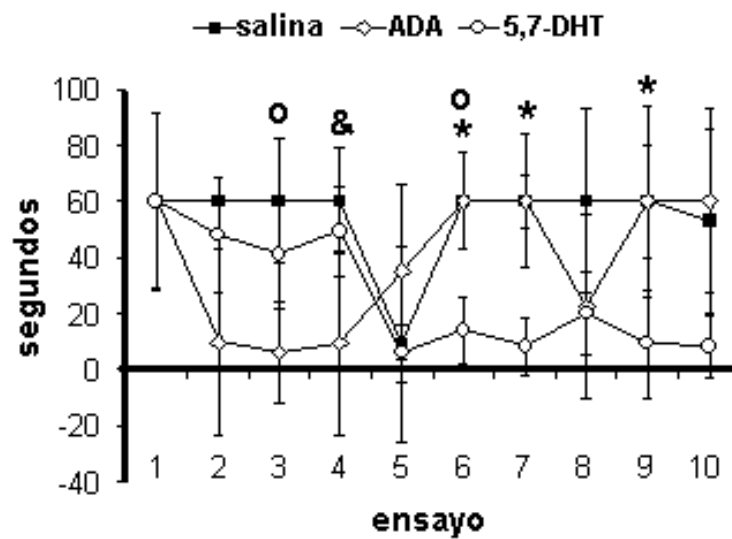


Figura 2. Latencia de escape de los animales sometidos al experimento 1. Mediana \pm error estándar de la mediana. * solución salina Vs 5,7-DHT; **O** solución salina Vs antagonistas dopaminérgicos; **&** 5,7-DHT Vs antagonistas dopaminérgicos. $p < 0.05$.

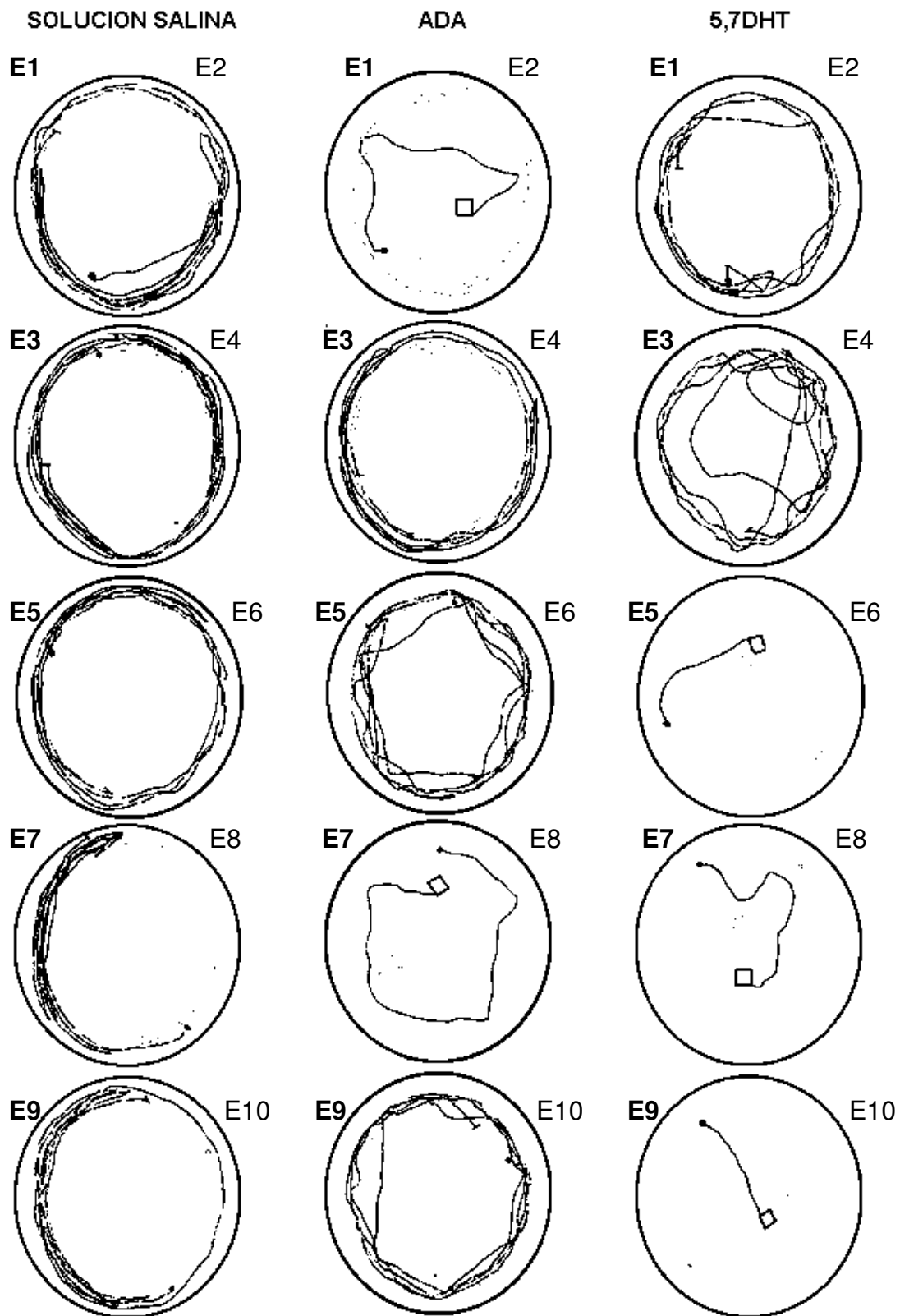


Figura 3. Rutas de nado de un animal representativo, sometido al experimento 1. 10 ensayos por día. Línea negra ensayo non, línea gris ensayo par.

7.2. Experimento 2.

En el experimento 2, en la comparación intragrupal de la latencia de escape de los animales luego de la aplicación de solución salina en su primera prueba observamos que estos animales no redujeron significativamente su latencia de escape ($X^2_r = 9.788$, $p = 0.368$) de manera semejante a lo observado luego de la primera prueba en el experimento 1. en la segunda evaluación conductual de estos animales ocho días después de la aplicación de la 5,7-DHT observamos una disminución significativa de la latencia de escape por parte de los animales ($X^2_r = 20.618$, $p = 0.014$) de manera que las comparaciones pareadas indicaron que en los ensayos cuatro ($p = 0.018$), ocho ($p = 0.018$) y nueve ($p = 0.012$) las latencias fueron menores que en el primer ensayo; mientras que una tendencia semejante se observó los ensayos siete ($p = 0.075$) y diez ($p = 0.080$) (Figura 4). Así, obtuvimos una vez más que el abatimiento de serotonina estriatal facilita el aprendizaje egocéntrico.

En la tercera prueba conductual, con abatimiento de serotonina estriatal pero con el bloqueo simultáneo de los receptores dopaminérgicos, los animales fueron incapaces de reducir significativamente su latencia de escape ($X^2_r =$), de modo que el la facilitación del aprendizaje egocéntrico inducida por el abatimiento de serotonina estriatal desaparecieron cuando los receptores de dopamina fueron bloqueados (Figura 4).

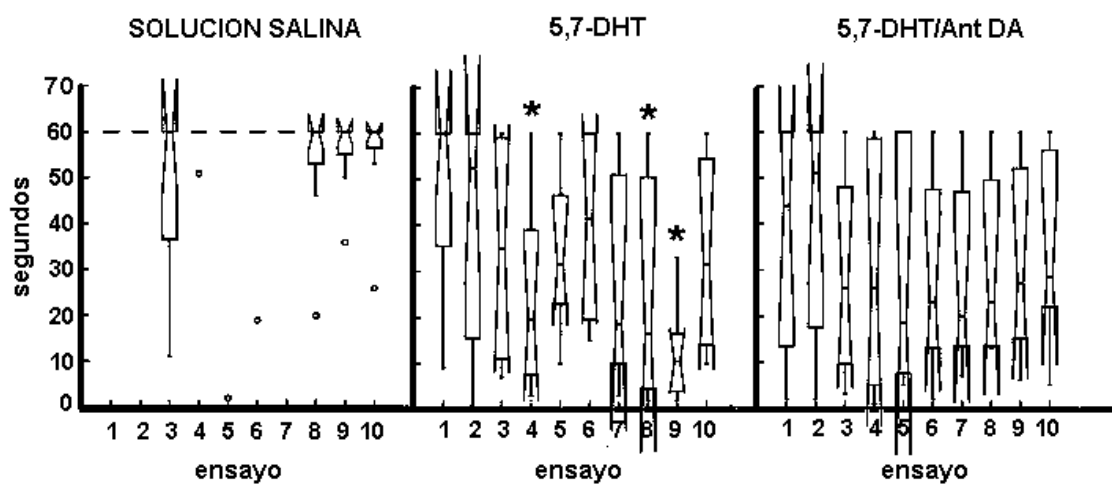


Figura 4. Latencia de escape de los animales sometidos al experimento 2. Mediana \pm error estándar de la mediana. * ensayo 1 Vs los subsecuentes. $p < 0.05$.

Las comparaciones inter-prueba de la latencia de escape mostraron que hubo diferencias significativas entre pruebas ($X^2_r = 91.134$, $p < 0.001$) y las comparaciones pareadas indicaron que estos animales tuvieron una latencia de escape menor durante la segunda prueba bajo condiciones de abatimiento de serotonina en comparación con la prueba uno después de la aplicación de solución salina, en los ensayos cuatro ($p = 0.018$), siete ($p = 0.018$), ocho ($p = 0.028$), nueve ($p = 0.012$) y diez ($p = 0.027$). Además durante tercera prueba conductual (en condiciones de bloqueo dopaminérgico) los animales tuvieron latencias menores en comparación a la primera prueba, en los ensayos uno y cuatro ($p = 0.043$) así como en los ensayos siete ($p = 0.028$) y nueve ($p = 0.018$). Finalmente, las ratas hicieron latencias menores durante la segunda prueba (abatimiento de serotonina), en el ensayo nueve ($p = 0.021$) en comparación con la tercera prueba (con lesión serotoninérgica y bloqueo dopaminérgico (Figura 5). Las rutas de nado de un animal representativo se presentan en la figura 6.

De esta manera, en el segundo experimento, se indujo la facilitación del aprendizaje egocéntrico que se observó en la segunda prueba conductual y entonces se verificó si esta facilitación dependería de la transmisión dopaminérgica al realizar la tercera prueba luego de aplicar la mezcla de antagonistas dopaminérgicos y se observó que la facilitación desapareció.

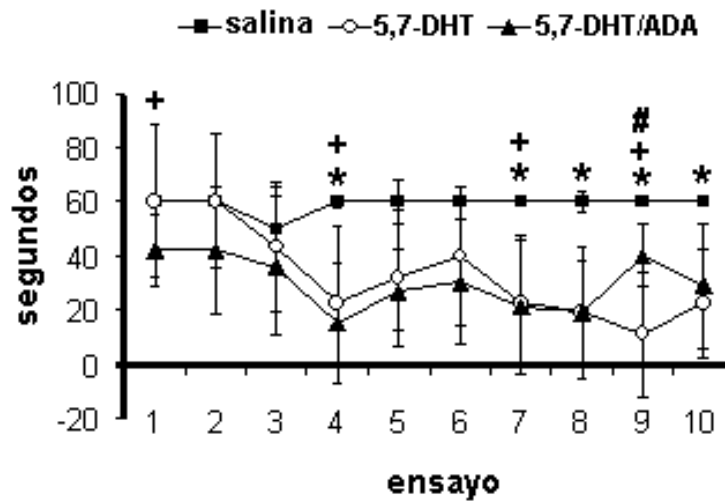


Figura 5. Latencia de escape de los animales sometidos al experimento 2. Mediana \pm error estándar de la mediana. * solución salina Vs 5,7-DHT; + solución salina Vs 5,7-DHT/ADA; # 5,7-DHT Vs 5,7-DHT/ADA. $p < 0.05$.

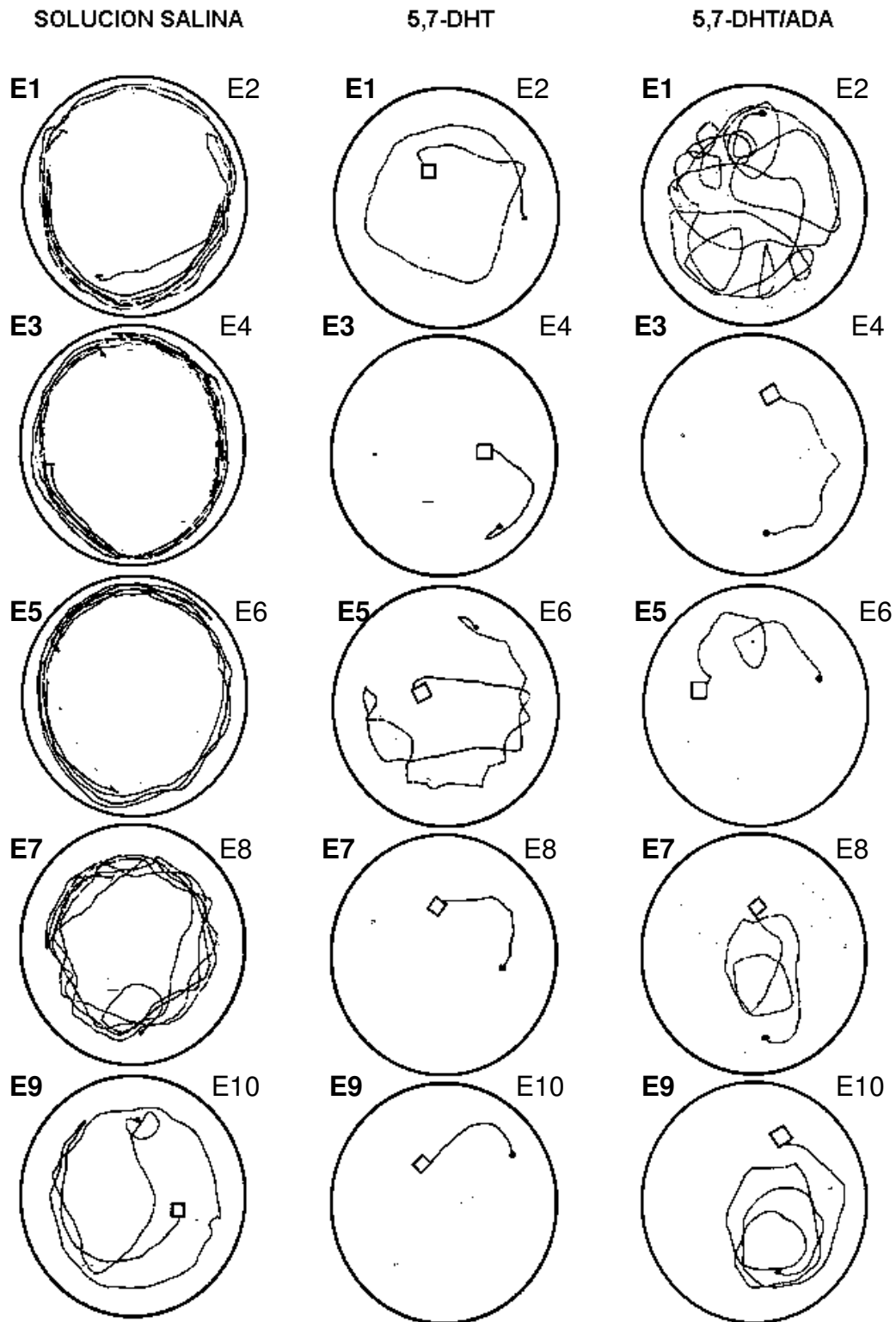


Figura 6. Rutas de nado de un animal representativo, sometido al experimento 2. 10 ensayos por día. Línea negra ensayo non, línea gris ensayo par.

Las diferencias entre la prueba uno y tres se deben más que al aprendizaje exitoso por parte de las ratas (puesto que en la curva de aprendizaje no se observó reducción significativa de latencia) a que los animales en la tercera prueba tienen un muestreo de la tina más eficiente que les permite ulteriormente localizar la plataforma y no al desarrollo de estrategias egocéntricas como puede observarse en las rutas de nado.

7.3. Experimento 1 y 2.

Con la finalidad de hacer más evidentes los resultados de la facilitación del aprendizaje egocéntrico, los animales de los dos experimentos fueron agrupados y se realizó la comparación de las condiciones salina y abatimiento de serotonina de los 15 animales. Las comparaciones intragrupalas mostraron un efecto significativo del entrenamiento para la primera prueba de estos animales, es decir después de la aplicación de solución salina ($\chi^2_r = 19.644$, $p = 0.020$) y al realizar las comparaciones pareadas observamos que el ensayo cuatro fue menor con respecto al primero ($p = 0.042$). Mientras que luego del abatimiento de serotonina los animales presentaron la reducción significativa de la latencia de escape ($\chi^2_r = 29.857$, $p < 0.001$) desde el ensayo cinco hasta el décimo ensayo ($p = 0.021$, $p = 0.050$, $p = 0.004$, $p = 0.001$, $p = 0.004$, y $p = 0.0012$; del cinco al diez, respectivamente) (Figura 7).

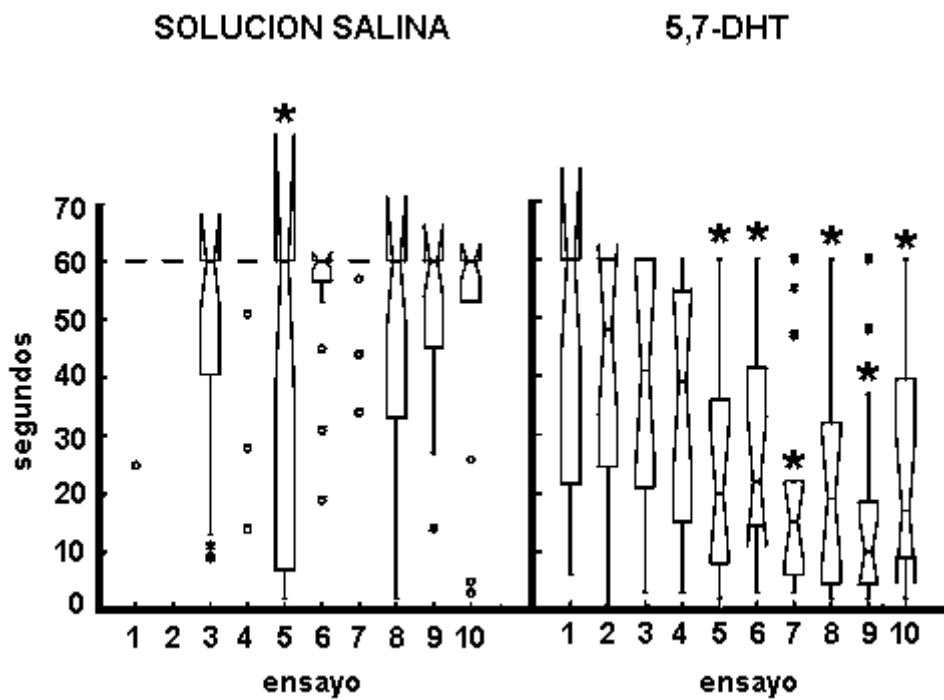


Figura 7. Latencia de escape de los animales sometidos a la condición con solución salina y a la eliminación de serotonina. Mediana \pm error estándar de la mediana. * ensayo 1 Vs los subsecuentes. $p < 0.001$.

Las comparaciones interprueba mostraron que la latencia de los animales durante su prueba posterior al abatimiento de serotonina fue menor con respecto a la latencia que realizaron luego de la prueba en la que recibieron solución salina ($X^2r = 126.43$, $p < 0.001$) excepto el tercer ensayo, en los nueve ensayos restantes ($p = 0.043$, $p = 0.012$, $p = 0.01$, $p = 0.038$, $p = 0.011$, $p = 0.001$, $p = 0.005$, $p = 0.001$, y $p = 0.006$; para los ensayos uno al diez, respectivamente) (Figura 8).

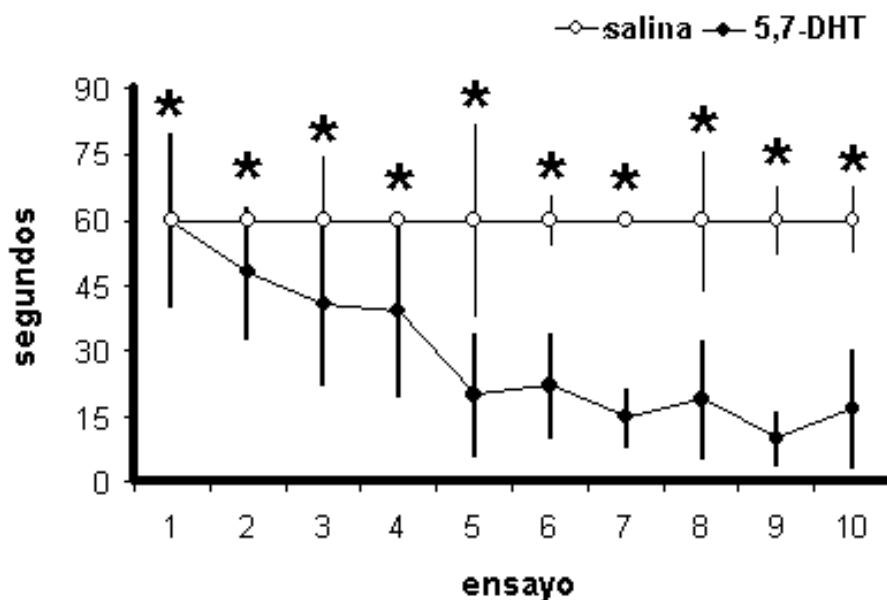


Figura 8. Latencia de escape de los animales sometidos a la condición con solución salina y a la eliminación de serotonina. Mediana \pm error estándar de la mediana. * solución salina Vs 5,7-DHT. $p < 0.001$.

Con respecto a la distancia recorrida por los animales, no hubo evidencias de problemas motores en ninguna de las condiciones y las velocidades de nado fueron semejantes entre las mismas (datos no mostrados).

7.4. Resultados de HPLC.

Para verificar la lesión de las terminales serotoninérgicas el contenido de serotonina estriatal de cada uno de los grupos experimentales fue medido y comparado con los valores obtenidos de un grupo de animales testigo mediante un ANOVA y tukey como prueba post hoc. Se observó una disminución significativa de la serotonina para los grupos E1 y E2 [$F(2,45) = 30.29$, $p < 0.001$], de manera que el grupo E1 tuvo menos serotonina que el testigo ($p < 0.001$), al igual que el grupo E2 ($p < 0.001$); mientras que no hubo diferencias entre ambos grupos experimentales ($p = 0.757$).

Una vez establecida la disminución de serotonina y que los dos grupos tuvieron una disminución semejante, fueron agrupados en uno solo y se realizó la comparación de serotonina y su metabolito, así como de dopamina y sus metabolitos entre el grupo testigo y los 15 animales experimentales, utilizando la prueba T de student. De esta manera se obtuvo una diferencia significativa entre el contenido de serotonina ($p < 0.001$) que fue menor para el grupo de animales lesionados (suma de E1 y E2), mientras que el contenido de ácido 5-hidroxi indol acético fue menor para este mismo grupo ($p = 0.001$) (Figura 9).

El contenido de dopamina estriatal fue menor en el grupo experimental (E1+E2) ($p = 0.005$), y el contenido de DOPAC fue mayor en los animales experimentales ($p = 0.037$); mientras que no hubo diferencias en el contenido de HVA ($p = 0.846$) (Figura 10).

El cociente HVA/DOPAMINA no fue significativo $p=0.415$, en cambio en el cociente DOPAC/DOPAMINA se obtuvo una diferencia significativa $p=0.008$. (Figura 11).

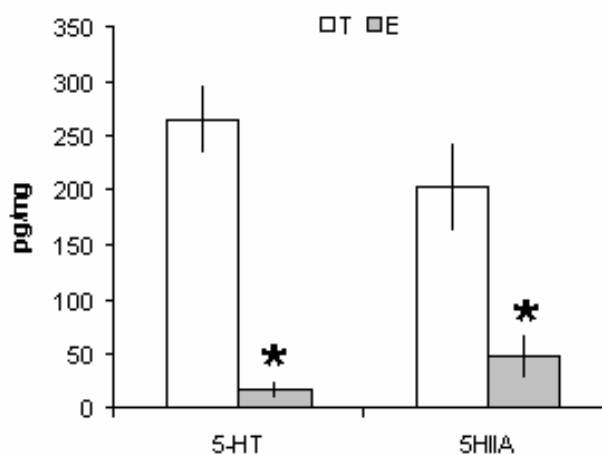


Figura 9. Contenido de serotonina y su metabolito 5HIA estriatales del grupo testigo y la suma de los animales sometidos al experimento 1 y 2. Media \pm error estándar. * Testigo Vs Suma de E1 y E2. $p \leq 0.001$.

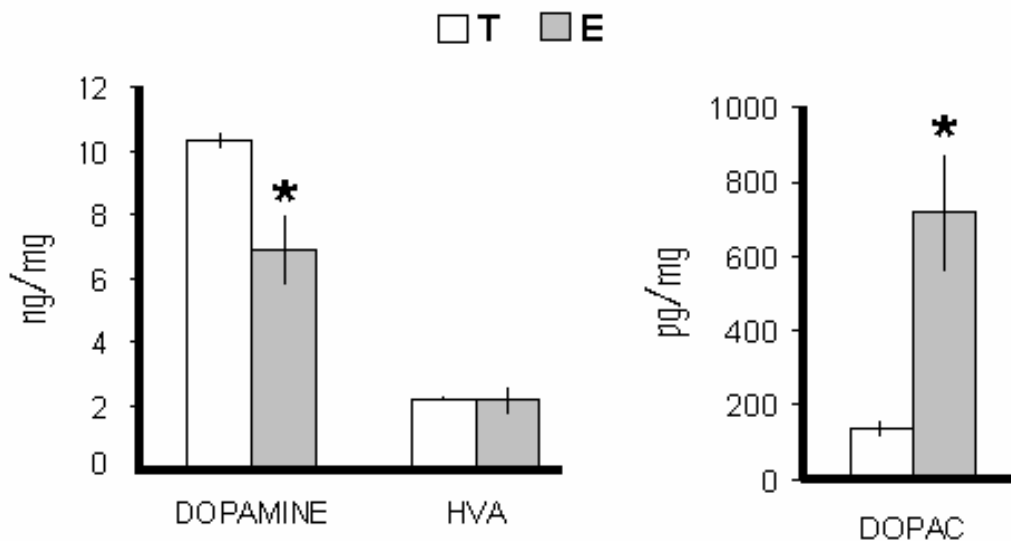


Figura 10. Contenido de dopamina y sus metabolitos (HVA y DOPAC) estriatales del grupo testigo y la suma de los animales sometidos al experimento 1 y 2. Media \pm error estándar. * Testigo Vs Suma de E1 y E2. $p \leq 0.037$.

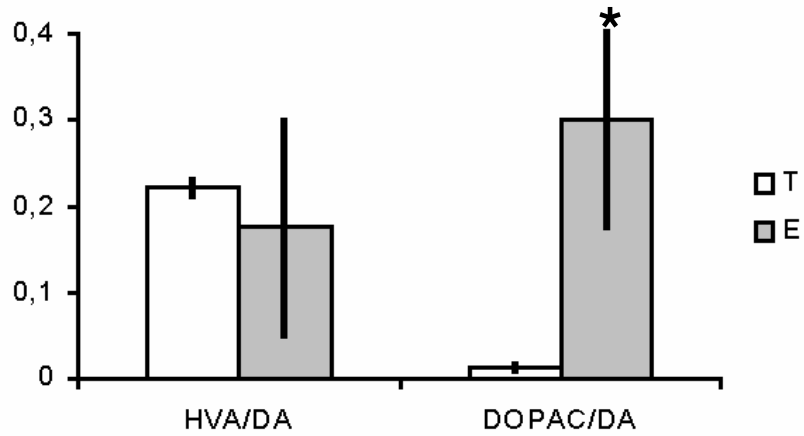


Figura 11. Razón de cambio de la dopamina estriatal (concentración de dopamina/ concentración de HVA y DOPAC). Media \pm error estándar. * Testigo Vs suma de E1 y E2. $p=0.008$.

VIII. DISCUSION

Los animales de los dos grupos en condiciones de aplicación de solución salina no pudieron reducir significativamente sus latencias de escape. Esta prueba de aprendizaje egocéntrico es una prueba difícil de realizar, pues los animales en condiciones normales recurren principalmente a estrategias de lugar para resolver una tarea en el espacio y posteriormente al no poder solucionarla, comienzan a utilizar estrategias egocéntricas que de por sí implican una mayor dificultad para la navegación. Debido a esta dificultad en trabajos previos se observó que los animales normales no son capaces de reducir significativamente su latencia de escape con 5 ensayos de entrenamiento bajo las mismas condiciones ambientales utilizadas en el presente trabajo [74]. Para el presente trabajo se entrenó a los animales diez ensayos y pese a lo cual en condiciones control no pudieron realizar el aprendizaje. Sin embargo los dos grupos de animales experimentales, luego del abatimiento de serotonina estriatal, presentaron una reducción significativa de la latencia de escape, es decir, una clara facilitación del aprendizaje egocéntrico, que fue más evidente cuando se analizaron en conjunto los datos de los 15 animales. De esta manera, la facilitación del aprendizaje egocéntrico que previamente se había observado tras el abatimiento de serotonina cerebral [74] se pudo reproducir tras el abatimiento de la serotonina específicamente del estriado. Esta estructura que ha sido propuesta como un componente central en el aprendizaje de procedimiento y particularmente en el aprendizaje egocéntrico [18,20,21] es muy probablemente la estructura subyacente a la facilitación que se produce tras el abatimiento de serotonina cerebral en este tipo de aprendizaje.

La aplicación de los antagonistas dopaminérgicos no produjo alteraciones en la ejecución de las pruebas de aprendizaje egocéntrico ya que los animales en condiciones control no podían realizar el aprendizaje y lo mismo sucedió cuando se aplicó la mezcla de antagonistas dopaminérgicos. De este modo no

se presentaron deficiencias adicionales por la aplicación de los antagonistas en una prueba que, en condiciones normales, los animales no eran capaces de resolver. No se puede excluir a partir de los presentes resultados la posible participación de la dopamina en la regulación de este aprendizaje en condiciones normales, lo que debería evaluarse entrenando a los animales los ensayos suficientes para que en condiciones control logren reducir significativamente la latencia de escape. Así la modulación dopaminérgica del aprendizaje egocéntrico en condiciones normales, no puede descartarse de los presentes resultados. Pues aunque se ha observado que la dopamina está involucrada en funciones cognitivas, dependientes de la actividad estriatal, aún no se conoce, que función específica tenga en la modulación estriatal del aprendizaje egocéntrico.

Sin embargo nuestros resultados indican que existe una dependencia dopaminérgica en la facilitación del aprendizaje egocéntrico, ya que al administrar antagonistas dopaminérgicos de los receptores D1 y D2 simultáneamente al abatimiento de la serotonina estriatal, se observó que ésta facilitación desapareció.

Una posible relación entre la serotonina y la dopamina que explicaría nuestros resultados es que, que cuando se abate la serotonina estriatal se produce una desinhibición de la dopamina en esta región, ya que existen reportes de que el incremento en la transmisión dopaminérgica se encuentra relacionado con un mejor desempeño conductual en pruebas de memoria de trabajo espacial, que se deteriora por la disminución de la misma [54].

Se ha reportado que las terminales serotoninérgicas hacen contacto sináptico tanto con neuronas que contienen dopamina como con interneuronas GABAérgicas en la sustancia nigra pars compacta, sustancia nigra pars reticulada y estriado [27,39]. Además, la ruta estriato-nigral está invadida por aferentes serotoninérgicas tanto en terminales nerviosas dopaminérgicas del estriado como en cuerpos celulares dopaminérgicos en la sustancia nigra [110]. Datos anatómicos han mostrado que los receptores 5-HT_{1B} están presentes abundantemente en el estriado y en la sustancia nigra [11,104].

Este receptor puede funcionar como autoreceptor sobre neuronas serotoninérgicas y como heteroreceptor sobre neuronas no serotoninérgicas para controlar la liberación del neurotransmisor [13,44,65].

Además, en el estriado existen varicosidades serotoninérgicas que están principalmente difusas o dispersas y no hacen contacto sináptico con las terminales dopaminérgicas [108], a través de las cuales podrían influir como moduladores de la actividad estriatal.

Los antagonistas a receptores 5-HT_{2C/B} (SB 206553) aumentan tanto la actividad basal como la de reposo de dopamina en el estriado y núcleo accumbens y el disparo basal en la sustancia nigra pars compacta [87,119]. Resultados similares fueron reportados usando un antagonista (SB-242084) altamente selectivo para receptores 5-HT_{2C}, además estos antagonistas producen un incremento en la liberación de dopamina y noradrenalina sin afectar la de serotonina, en corteza frontal, accumbens y estriado, en ratas con libertad de movimiento [31]. Se ha reportado una modulación por parte de la serotonina a través de receptores 5HT₄ sobre la liberación de acetilcolina, GABA, dopamina y la misma serotonina [4].

De esta manera, la disminución de la serotonina pudo, al menos a través de estos receptores, conducir al incremento de la liberación de dopamina a la cual en condiciones normales controlan. De acuerdo con esto, en nuestros resultados observamos que el contenido de dopamina del estriado se vio disminuido, mientras que el contenido de DOPAC estuvo incrementado y el de HVA no mostró cambios. Estos resultados indican de manera indirecta que la dopamina estuvo siendo utilizada más rápidamente en los grupos experimentales ya que la razón metabolito/transmisor se encuentra incrementada en estos animales (Figura 11) pues este cociente es un indicador indirecto de la velocidad de utilización del transmisor, y se ha sugerido que la elevación en los niveles de 5-HIAA reflejó un aumento en la liberación de 5-HT [68], así es posible que la disminución de serotonina en nuestros animales experimentales condujera al incremento de la liberación de dopamina.

Las fibras corticoestriatales terminan principalmente sobre espinas dendríticas de las neuronas de proyección espinosas medianas donde ellas parecen ejercer una influencia excitadora mediada a través de glutamato, sobre la actividad de estas neuronas [121]. Estas neuronas dopaminérgicas están bajo

un control sináptico altamente complejo, probablemente porque existe una dependencia sobre la actividad y relación topográfica de un gran número de aferentes sinápticas [18], y, la igualmente compleja influencia de la dopamina sobre los estados de actividad de las neuronas estriatales así como su interacción con la neurotransmisión glutamatergica es aun muy controversial [121]. Las neuronas espinosas medianas generalmente presentan una característica de cambio en el potencial de membrana que consiste en estados de “sobre-regulación y sub-regulación” representando las condiciones de la membrana hiperpolarizada y despolarizada, respectivamente [71,125,126].

Las dendritas distales de las neuronas espinosas medianas reciben entradas corticales, mientras que los cuerpos celulares y las dendritas proximales son los blancos de aferentes intrínsecas colinérgicas [33]. Además se conoce que las fibras aferentes dopaminérgicas provenientes de la sustancia nigra pars compacta hacen contacto sináptico sobre el cuello de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas [29].

Así el incremento de la liberación de dopamina (a través de sus contactos sobre el cuello de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas), pudo actuar sobre las sinapsis directas que se dan con axones excitatorios provenientes de la corteza, específicamente sobre la cabeza de las espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas, ocasionando que la dopamina tenga una mayor influencia en la modulación del flujo de información [107].

En este sentido, se a descrito que los axones dopaminérgicos participan en arreglos triádicos altamente especializados con neuronas espinosas de proyección, que también reciben una entrada excitadora de la corteza, por lo que la dopamina podría modular las entradas corticales o influencias talámicas, sobre las espinas, de las mismas neuronas espinosas medianas, que son las principales neuronas de salida del estriado [33].

Por otro lado, se sabe que la activación tónica de los receptores D1 y D2 ejerce efectos potentes sobre la eficacia sináptica y la excitabilidad de las neuronas estriatales [121].

De este modo, en animales intactos, la dopamina modula diferencialmente la excitabilidad de las neuronas estriatales en una manera dependiente sobre el estado-estable del potencial de membrana dado por el manejo de aferentes glutamatergicas y por los subtipos de receptores dopaminérgicos involucrados en la modulación de la actividad neuronal [70].

Así, el incremento de la dopamina estriatal pudo producir una mayor influencia sobre la transmisión corticoestriatal que se reflejaría en la mayor eficiencia de los animales en condiciones de abatimiento de serotonina.

Sin embargo, la disminución de serotonina pudo afectar ya sea de manera directa o indirecta otros sistemas de transmisión, por ejemplo, se ha observado que lesiones de la vía serotoninérgica dan como resultado el aumento significativo de las concentraciones basales de glutamato en el estriado [53,59]. Además, se ha reportado recientemente que la inyección intracerebroventricular de 5-7 DHT aumenta la liberación de ACh en rebanadas estriatales, aunque el uso de rebanadas excluye la influencia de mecanismos de reacción o retroalimentación extraestriatales que pueden ser importantes en el animal intacto [102]. Por otra parte, otros estudios sugieren que las neuronas del rafe dorsal y medial son tónicamente excitadoras sobre las neuronas colinérgicas estriatales [102]. Ya que existen experimentos en los cuales se midieron las concentraciones de ACh durante la adquisición de aprendizaje de lugar y reversión del aprendizaje en ratas, y se observó un aumento en la liberación de ACh durante la reversión del aprendizaje en la etapa inicial del entrenamiento misma en la que las ratas usaban una estrategia egocéntrica, y la expresión de una estrategia egocéntrica resultó en una liberación elevada de ACh en el estriado [94].

Así, la facilitación del aprendizaje egocéntrico observada luego del abatimiento de serotonina estriatal pudo deberse al incremento de la actividad dopaminérgica ya que la aplicación de antagonistas a dopamina desapareció completamente dicha facilitación. Sin embargo, el efecto de la denervación serotoninérgica sobre cada uno de estos sistemas puede estar contribuyendo con esta facilitación, y además la interacción entre la dopamina y la acetilcolina que junto con la serotonina modulan las entradas corticoestriatales, podría

estar modificada. Por ello se propone la realización de estudios tendientes por un lado a esclarecer la participación de la dopamina en la regulación del aprendizaje egocéntrico, y por otro la contribución de cada uno de estos sistemas y de las interacciones de ellos para la manifestación de la facilitación de este tipo de aprendizaje evocada por el abatimiento de la serotonina estriatal.

CONCLUSIONES

La facilitación del aprendizaje espacial egocéntrico, se observó, cuando se abatió la serotonina estriatal.

En condiciones de la eliminación serotoninérgica y del bloqueo dopaminérgico simultáneo, ésta facilitación desaparece. Dicha facilitación fue dependiente de la dopamina estriatal.

Es por ello, que estas complejas interrelaciones entre dopamina y serotonina, en donde ambos interactúan beneficiosamente, juegan un papel crucial en la búsqueda de mecanismos que nos permitan entender los cambios que ocurren, o manifestaciones que se presentan, principalmente en ciertas enfermedades neurodegenerativas, asociadas con los ganglios basales, específicamente con el estriado.

REFERENCIAS

1. Abraham, L., Potegal, M., Miller, S. Evidence for caudate nucleus involvement in an egocentric spatial task: return from passive transport. *Physiology*. 11:11-17. 1983.
2. Alexander, G. E., De Long, M. R., Strick, P. L. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review Neuroscience*. 9:357-81. 1986.
3. Altman, J. H., Normile, J. H., Galoway, P. M., Ramírez, A., Azmitia, C. E. Enhanced spatial discrimination learning in rats following 5,7-DHT induced serotonergic deafferentation of the hippocampus. *Brain Research*. 518:61-66. 1990.
4. Barnes, N. M., Sharp, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*. 38:1083-1152. 1999.
5. Berthoz A. Neural basis of spatial orientation and memory of routes: topokinetic memory or topokinesthetic memory. *Review Neurology*. 157:(8-9 Pt 1):779-89. 2001.
6. Bonaventure, P., Hall, H., Gommeren, W., Cras, P., Langlois, X., Jurzak, M., Leysen, J. E. Mapping of serotonin 5-HT₄ receptor mRNA and ligand binding sites in the post-mortem human brain. *Synapse*. 36:35-46. 2000.
7. Bourson, A., Boess, F. G., Bos, M., Sleight, A. J. Involvement of 5-HT₆ receptors in nigro-striatal function in rodents. *Br. Journal Pharmacology*. 125:1562-66. 1998.

8. Bradley, k. Diseases of the basal ganglia. En: *The basal ganglia structure and function*. Mckenzie, J. S., Kemm, E. R. y Wilcock, N. L., Eds. Plenum Press, N. Y. pp. 333-342.1984.
9. Brasted, P. J., Humby, T., Dunnett, S. B., Robbins, T. W., Unilateral lesions of the dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *Journal Neuroscience*. 17(22):8919-26. 1997.
10. Broussolle, E., Dentresangle, D., Landais, P., García-Larrea, L., Pollak, P., Croisile, B., Hibert, O., Bonnefoi, F., Galy, G., Froment, C., and Comar, D. The relation of putamen and caudate nucleus 18F-Dopa uptake to motor and cognitive performances in Parkinson's disease. *Journal of the Neurological Sciences*. 166:141-51. 1999.
11. Bruinvels, A. T., Landwehrmeyer, B., Gustafson, E. L., Durkin, M. M., Mengod, G., Branchek, T. A., Hoyer, D., Palacios, J. M. Localization of 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} alpha, 5-HT_{1E} and 5-HT_{1F} receptor messenger RNA in rodent and primate brain. *Neuropharmacology*. 33:367-86. 1994.
12. Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P. Synaptic transmission in the striatum: from plasticity to neurodegeneration. *Progress Neurobiology*. 61:231-65. 2000.
13. Cameron, D. L., Williams, J. T. Cocaine inhibits GABA release in the VTA through endogenous 5-HT. *Journal Neuroscience*. 14:6763-67. 1994.
14. Carli, M., Luschi, R., Garofalo, P., Samanin, R. 8-OH-DPAT impairs spatial but not visual learning in a water maze by stimulating 5-HT_{1A} receptors in the hippocampus. *Behavioral Brain Research*. 67:67-74. 1995.

15. Carpenter, M. B. Interconections between the corpus striatum and brain nuclei. En: The basal ganglia structure and function. McKenzie, J. S., Kemm, E. R., Wilcock, N. L., Eds. Plenum Press, N. Y. pp. 1-68. 1984.
16. Cepeda, C., Levine M. S. Dopamine and N-Methyl-D-Aspartate receptor interactions in the neostriatum. *Developmental Neuroscience*. 20:1-18. 1998.
17. Colombo, P. J., Davis, H. P., Volpe, B. T. Allocentric spatial and tactile memory impairments in rats with dorsal caudate lesions are affected by preoperative behavioral training. *Behavioral Neuroscience*. 103(6):1242-50. 1989.
18. Cook, D., Kesner, R. P. Caudate nucleus and memory for egocentric localization. *Behavioral Neural Biology*. 49(3):332-43. 1988.
19. Crofts, H. S., Dalley, J. W., Collins, P., Van Denderen J. C. M., Everitt, B. J., Robbins, T. W., Roberts, A. C. Differential effects of 6-OHDA lesions of the frontal cortex and caudate nucleus on the ability to acquire an attentional set. *Cerebral Cortex*. 11:1015-26; 2001.
20. De Coteau, W.E., Kesner, R. P. A double dissociation between the rat hippocampus and medial caudoputamen in processing two forms of knowledge. *Behavioral Neuroscience*. 114(6):1096-1108. 2000.
21. De Leonibus E, Oliverio, A., Mele, A. A study on the role of the dorsal striatum and the nucleus accumbens in allocentric and egocentric spatial memory consolidation. *Learning and Memory*. 12(5):491-503. 2005.
22. De Leonibus, E., Lafenetre, P., Oliverio, A., Mele, A. Pharmacological evidence of the role of dorsal striatum in spatial memory consolidation in mice. *Behavioral Neuroscience*. 117(4):685-94. 2003.

23. De Long, M. R. The Basal Ganglia. En: *Principles of neural science*. Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessel, T. M., Eds. New York, McGraw-Hill. Fourth edition., pp. 853-67. 2000.
24. Devan, B. D. White, N. M. Parallel Information Processing in the Dorsal Striatum: Relation to Hippocampal Function. *The Journal of Neuroscience*. 19(7): 2789–2798. 1999.
25. Di Cara, B., Dusticier, N., Forni, C., Lievens, J. C., Daszuta, A. Serotonin depletion produces long lasting increase in striatal glutamatergic transmission. *Journal of Neurochemistry*. 78:240-48. 2001.
26. Di Giovanni, G., De Derwaerdere, P., Di Mascio, M., Di Matteo, V., Esposito, E., Spampinato, U. Selective blockade of serotonin-2C/2B receptors enhances mesolimbic and mesostriatal dopaminergic function: a combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. *Neuroscience*, 91:587-97. 1999.
27. Di Matteo, V., De Blasi, A., Di Giulio, C., Esposito, E. Role of 5-HT (2C) receptors in the control of central dopamine function. *Trends Pharmacology Science*. 22:229-232. 2001.
28. Ferré, S. Cortés, R. and Artigas, F. Dopaminergic regulation of the serotonergic raphe-striatal pathway: Microdialysis studies in freely moving rats. *The Journal of Neuroscience*. 14(8):4839-46. 1994.
29. Freund, T. F., Powell, J. F., Smith, A. D. Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience*. 13(4):1189-215. 1984.
30. Gallistel, C. R. The organization of learning. *MIT Press/Bradford Books, MA*.

31. Gobert, A., Rivet, J. M., Lejeune, F., Newman-Tacredi, A., Adhumeau-Auclair, A., Nicolas, J. P., Cistarelli, L., Melon, C., Millan, M. J. Serotonin (2C) receptors tonically suppress the activity of mesocortical dopaminergic and adrenergic, but not serotonergic, pathways: a combined dialysis and electrophysiological analysis in the rat. *Synapse*. 36:205-21. 2000.
32. Godukhin, O. V., Zharikova, A. D., Budantsev, A. Y. Role of presynaptic dopamine receptors in regulation of glutamatergic neurotransmission in neostriatum. *Neuroscience*. 12:377-83. 1984.
33. Goldman-Rakic, P. S., and Selemon, L. D. New frontiers in basal ganglia research. *TINS*. 13(7):241-44. 1990.
34. Gonzalez-Burgos, I., Perez-Vega, M. I., Del Angel-Meza, A. R., Feria-Velasco, A. Effect of tryptophan restriction on short-term memory. *Physiology Behavioral*. 63(2):165-9. 1998.
35. Graybiel, A. M. Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *TINS*. 13(7):244-54. 1990.
36. Graybiel, A. M., Flaherty, A. W., Giménez-Amaya, J. M. Anatomical Organization and Chemical Neuroanatomy of the basal ganglia. Striosomes and Matrisomes. In: *The basal Ganglia III*. Bernardini, G., Carpenter, M. B., Di Chiara, G., Morelli, M., Stanzione, P. Eds. Third edition. 39: 3-12. 1989.
37. Grillner, S. and Wallén, P. Innate versus learned movements-a false dichotomy?. *Progress in Brain Research*. 143. In: Brain Mechanisms for the integration of posture and movement. Mori, S., Stuart, D. G., Wiesendanger, M., Eds. The Netherlands. pp. 3-12. 2004.
38. - Heimer, L. Zahm, D.S., Alheid, G. F. The basal ganglia. *The rat nervous system*. George Paxinos. Ed. Second edition. Cap 23:579-628. 1994.

39. Hervé, R.M., Pickel, V. M., Joh, T. H., Beaudet, A. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: Fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain Research*. 435:71-83. 1987.
40. Hikosaka, O., Nakahara, H., Rand, M. K., Sakai, K., Lu, X., Nakamura, K., Miyachi, S., Doya, K. Parallel neural networks for learning sequential procedures. *Trends Neuroscience*. 22:464-71. 1999.
41. Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J R., Hartig, P.R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J., Saxena, P. R., Humphrey, P. P. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacology Review*. 46(2):157-203. 1994.
42. Jacobs, L. F. The evolution of the cognitive map. *Brain Behavioral Evol.* 62(2):128-39. 2003.
43. Joel, D., Weiner, I. The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: An analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*. 96: 451-74. 2000.
44. Johnson, S. W., Mercuri, N. B., North, R. A. 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors block the GABA B synaptic potential in rat dopamine neurons. *Journal Neuroscience*. 12:2000-06. 1992.
45. Jueptner, M., Frith, C. D., Brooks, D. J., Frankowiak, R. S., Passingham, R. E. Anatomy of motor learning. II. Subcortical structures and learning by trial and error. *Journal Neurophysiology*. 77:1325-37. 1997.
46. Jueptner, M., Stephan, K. M., Frith, C. D., Brooks, D. J., Frankowiak, R. S., Passingham, R. E. Anatomy of motor learning. I. Frontal cortex and attention to action. *Journal Neurophysiology*. 77:1313-24. 1997.

47. Kandel, E. R., Kupfermann, I., Iversen, S. Learning and Memory. Memory can be classified as implicit or explicit on the basis of how information is stored and recalled. In: *Principles of Neural Science*. Kandel, E. R. Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Eds. McGraw-Hill. Fourth edition. pp. 1227-33. 2000.
48. Laprade, N., Radja, F., Reader, T. A., Soghomonian, J. J. Dopamine receptor agonists regulate levels of the serotonin 5-HT_{2A} receptor and its mRNA in a Subpopulation of rat striatal neurons. *The Journal of Neuroscience*. 16(11):3727-36. 1996.
49. Laurence, A. D., Watkins, L. H., Sahakian, B. J., Hodges, J. R., Robbins, T. W. Visual object and visuospatial cognition in Huntington's disease: implications for information processing in corticostriatal circuits. *Brain*. 123:1349-64. 2000.
50. Lawrence, A. D., Weeks, R. A., Brooks, D. J., Andrewus, T. C., Watkins, L. H., Harding, A. E., Robbins, T. W. The relationship between striatal dopamine receptor binding and cognitive performance in Huntignton's disease. *Brain*. 121:1343-55. 1998.
51. Levin, E. D. and Rose, J. E. Acute and chronic nicotinic interaction with dopamine systems and working memory performance. *Annals of New York Academic Science*. 757:245-52. 1995.
52. Lewis, S. J. G., Dove, A., Robbins, T. W., Barker, R. A. and Owen, A. M. Cognitive impairments in early Parkinson disease are accompanied by reductions in activity in frontostriatal neural circuitry. *The Journal of Neuroscience*. 23(15): 6351-56. 2003.

53. Lindefors, N. and Ungerstedt, U. Bilateral regulation of glutamate tissue and extracellular levels in caudate-putamen by midbrain dopamine neurons. *Neuroscience Letter*. 115:248-52. 1990.
54. Luciana, M., Collins, P., F., Depue, R., A. Opposing Roles for Dopamine and Serotonin in the modulation of human spatial working memory functions. *Cerebral Cortex*, 8:218-26; 1998.
55. McDonald, R. J., White, N. M. Hippocampal and Nonhippocampal Contributions to Place Learning in Rats. *Behavioral Neuroscience*. 109(4):579-93. 1995.
56. McDonald, R. J., White, N. M. Parallel Information Processing in the Water Maze: Evidence for independent Memory Systems Involving Dorsal Striatum and Hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*. 61:260-70. 1994.
57. McGaugh, J. L. Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *TRENDS in Neurosciences*. 25 (9): 456-61. 2002.
58. Mendlin, A., Martín, F. J., Jacobs, B. L. Dopaminergic input is required for increases in serotonin output produced by behavioral activation: an *in vivo* microdialysis study in rat forebrain. *Neuroscience*. 93(3):897-905. 1999.
59. Meshul, C. K., Emre, N., Nakamura, C. M., Allen, C., Donohue, M. K., Buckman, J. F. Time-dependent changes in striatal glutamate synapses following a 6-hydroxydopamine lesion. *Neuroscience*. 88:1-16. 1999.
60. Middleton, F. A., Strick, P. L. Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. *Brain Research Reviews*. 31:236-50. 2000.

61. Mijovic-Prelec, D., Bentley, P., Caviness, V. S. Jr. Selective rotation of egocentric spatial representation following right putaminal hemorrhage. *Neuropsychologia*. 42(13):1827-37. 2004.
62. Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., Caron, M. G. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*. 78(1):189-225. 1998.
63. Mogenson, G. J., Jones, D. L., Yim, C. Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog. Neurobiology*. 14:69-97. 1980.
64. Mori, S., Nakajima, K., Mori, F., Matsuyama, K. Integration of multiple motor segments for the elaboration of locomotion: role of the fastigial nucleus of the cerebellum. *Progress in Brain Research*. 143. In: Brain Mechanisms for the integration of posture and movement. Mori, S., Stuart, D. G., Wiesendanger, M., Eds. The Netherlands. pp. 341-51. 2004.
65. Morikawa, H., Manzoni, O. J., Crabbe, J. C., Williams, J. T. Regulation of central synaptic transmission by 5-HT(1B) receptors. *Molecular Pharmacology*. 58:1271-78. 2000.
66. Murtha, J. E. S. and Pappas, A. B. Neurochemical, histopathological and mnemonic effect of combined lesions of the medial septal and serotonin afferents to the hippocampus. *Brain Research*. 651:16-26. 1994.
67. Myhrer, T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta – analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Research Reviews*, 41: 268-287; 2003.
68. Nakazato, T., Horikawa, H. P. M., Akiyama, A. The dopamine D2 receptor antagonist sulpiride causes long-lasting serotonin release. *European Journal of Pharmacology*. 363:29-34. 1998.

69. Nayak, S. V., Rondé, P., Spier, A. D., Lummis, S. C. R., Nichols, R. A. Nicotinic receptors co-localize with 5-HT₃ serotonin receptors on striatal nerve terminals. *Neuropharmacology*. 39:2681-90. 2000.
70. Nicola, S., Surmeier, D. J., Malenka, R. C. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annals Review Neuroscience*. 23:185-215. 2000.
71. O' Donell, P., Grace, A. A. Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input. *Journal Neuroscience*. 15:3622-39. 1995.
72. Oliveira, M. G., Bueno, O. F., Pomarico, A. C., Gugliano, E. B. Strategies used by hippocampal- and caudate-putamen- lesioned rats in a learning task. *Neurobiology Learning and Memory*. 68(1): 32-41. 1997.
73. Olvera-Cortés, E., Pérez-Vega, M. I., Barajas-López, G., Del Angel-Meza, A. R., González-Burgos, I., Feria-Velasco, A. Place learning impairment in chronically tryptophan-restricted rats. *Nutritional Neuroscience*. 1:223-35. 1998.
74. Olvera-Cortés, E., Barajas-Pérez, M. C., Morales, V. A., González-Burgos, I. Cerebral serotonin depletion induces egocentric learning improvement in developing rats. *Neuroscience Letter*. 313:29-32. 2001.
75. Owen, A. M., Iddon, J. L., Hodges, J. R., Summers, B. A., Robbins, T. W. Spatial and non-spatial working memory at different stages of Parkinson's disease. *Neuropsychologia*. 35:519-32. 1997.
76. Packard, M. G., Knowlton, B. J. Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review Neuroscience*, 25: 563-593. 2002.

77. Packard, M. G. Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proc Natl Academy Science*. 96(22):12881-86. 1999.
78. Packard, M. G. and McGaugh, J. L. Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*. 65: 65-72. 1996.
79. Packard, M.G. Cahill, L. McGaugh, J. L. Amygdala modulation of hippocampal-dependent memory processes. *Proc Natl Academy Science USA*. 91: 8477-8481. 1994.
80. Packard, M. G., and White, N. M. Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by post-training intracerebral injection of dopamine agonist. *Behav. Neurosci*. 105:295-306. 1991.
81. Packard, M. G., et al. Differential effects of fornix and caudate lesions on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. *J. Neuroscience*. 9: 1465-1472. 1989.
82. Parent, A. *Carpenter's human neuroanatomy*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1996.
83. Parent, A. Extrinsic Connections of the Basal Ganglia. *TINS*. 13(7): 254-258. 1990.
84. Pasik, P. Pasik, T. and Holstein, G. R. Anatomical Organization and Chemical Neuroanatomy of the basal ganglia. The Ultrastructural Chemoanatomy of the Basal Ganglia: The neostriatum. In: *The basal Ganglia III*. Bernardini, G., Carpenter, M. B., Di Chiara, G., Morelli, M., Stanzione, P., Eds. Third edition. 39:187-98. 1989.

85. Paxinos, G. and Watson, Ch. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Second edition. Academic Press. USA. 1986.
86. Pillon, B., Ertle, S., Deweer, B., Bonnet, A. M., Vidailhet, M., Dubois, B. Memory for spatial location in “de novo” parkinsonian patients. *Neuropsychologia*. 35:221-8. 1997.
87. Porras, G. Di Matteo, V., Fracasso, C., Lucas, G., De Deurwaerdere, P., Caccia, S., Esposito, E., Spampinato, U. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C/2B} receptor subtypes modulate dopamine release induced *in vivo* by amphetamine and morphine in both the rat nucleus accumbens and striatum. *Neuropsychopharmacology*. 26:311-322. 2002.
88. Postle BR, D'Esposito M. Spatial working memory activity of the caudate nucleus is sensitive to frame of reference. *Cognitive Affect Behavioral Neuroscience*. 3(2):133-44. 2003.
89. Postle, B., R., D' Esposito, M. Dissociation of human caudate nucleus activity in spatial and nonspatial working memory: an event-related fMRI study. *Cognitive Brain Research*, 8: 107-15; 1999.
90. Poucet B, Benhamou S. The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Crit Rev Neurobiol*. 11(2-3):101-20. 1997.
91. Poucet B. Spatial cognitive maps in animals: new hypotheses on their structure and neural mechanisms. *Psychology Review*. 100(2):163-82. 1993.
92. Prado-Alcalá, R. A. Serial and parallel processing during memory consolidation. In: *Plasticity in the central nervous system: Learning and memory*. Mc Gaugh, G. L., Bermúdez-Rattoni, F., Prado-Alcalá, R. A., Eds. Erlbaum, Mahwah, New Jersey, pp. 57-65. 1995.

93. Prado-Alcalá, R. A. and Cobos-Zapíaín, G. C. Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. *Neuroscience Letter*. 14: 253-258. 1979.
94. Ragozzino, M. E. and Choi, D. Dynamic Changes in Acetylcholine output in the medial striatum during place reversal learning. *Learning and Memory*. 11:70-7. 2004.
95. Ragozzino, M. E. Acetylcholine actions in the dorsomedial striatum support the flexible shifting of response patterns. *Neurobiology Learning and Memory*. 80:257-67. 2003.
96. Ragozzino, M. E., Detrick, S., Kesner, R. P. Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *Journal Neuroscience*. 19(11):4585-94. 1999.
97. Rauch, S. I., Savage, C. R. Neuroimaging and neuropsychology of the striatum. Bridging basic science and clinical practice. *Psychiatry Clinical North Am*. 20:741-68. 1997.
98. Redondo-Verge, L. Cognitive deterioration in Huntington disease. *Review Neurology*. 32: 82-5. 2001.
99. Richter-Levin, G., Greenberger, V., Segal, M. Regional specificity of raphe graft-induced recovery of behavioral functions impaired by combined serotonergic/cholinergic lesions. *Experimental Neurology*. 121:256-60. 1993.
100. Richter-Levin, G., Segal, M. Spatial performance is severely impaired in rats with combined reduction of serotonergic and cholinergic transmission. *Brain Research*. 447:404-07. 1989.

101. Ring, H. A., Serra-Mestres, J. Neuropsychiatry of the basal ganglia. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*. 72:12-21. 2002.
102. Robinson, S. E. Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus, cortex and striatum. *Life Science*. 32(4):345-53. 1983.
103. Roth, B. L., Hanizavareh, S. M, Blum, A. E. Serotonin receptors represent highly favorable molecular targets for cognitive enhancement in schizophrenia and other disorders. *Psychopharmacology*. 174:17-24. 2004.
104. Sari, Y., Miquel, M. C., Brisorgueil, M. J., Ruíz, G., Doucet, E., Hamon, M., Verge, D. Cellular and subcellular localization of 5-hydroxytryptamine 1B receptors in the rat central nervous system: immunocytochemical, autoradiographic and lesion studies. *Neuroscience*. 88:899-915. 1999.
105. Setlow, B., McGaugh, J. L. Involvement of the posteroventral caudate-putamen in memory consolidation in the Morris Water Maze. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71: 240-247; 1999.
106. Shear, D. A., Dong, J., Haik-Creguer, K. L., Bazzett, T. J., Albin, R. L., Dunbar, G. L. Chronic Administration of Quinolinic Acid in the rat striatum causes spatial learning deficits in a radial arm water maze task. *Experimental Neurology*, 150: 305-11; 1998.
107. Smith D. A., and Bolam, P. J. The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *TINS*. 13 (7):259-65. 1990.
108. Soghomonian, J. J., Descarries, L., Watkins, K. Serotonin innervation in adult rat neostriatum. II. Ultrastructural features: a

- radioautographic and immunocytochemical study. *Brain Research*. 481:67-86. 1989.
109. Squire, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology Learning and Memory*. 82(3):171-7. 2004.
110. Stein-busch, H. W. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience*. 6:557-618. 1981.
111. Szabo, S. T., Gould, T. D., Manji, H. K. Neurotransmitters, receptors, signal transduction, and second messengers in psychiatric disorders. En: *Textbook of psychopharmacology*. The American Psychiatric Publishing. Schatzberg, A. F., Nemeroff, C. B., Eds. Washington, D. C. London England. Third edition. 3-52. 2004.
112. Takakusaki, K., Oohinata, S. J. Role of basal ganglia-brainstem systems in the control of postural muscle tone and locomotion. En: *Brain Mechanisms for the Integration of Posture and Movement. Progress in Brain Research*. 143: 231-237. 2004.
113. Tang, K., Low, M. J., Grandy, D. K., Lovinger, D. M. Dopamine-dependent synaptic plasticity in striatum during in vivo development. *Proceedings of the National Academy of Science. USA*. 98:1255-60. 2001.
114. Thomas, K. M., Hunt, R. H., Vizueta, N., Sommer, T., Durston, S., Yang, Y., Worden, M. S. Evidence of developmental differences in implicit sequence learning: an fMRI study of children and adults. *Journal Cognition Neuroscience*. 8:1339-51. 2004.

115. Uphouse, L. Multiple serotonin receptors: too many, not enough, or just the right number. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 21(5): 679-98. 1997.
116. Vilaro, M. T., Domenech, T., Palacios, J. M., Mengod, G. Cloning and characterization of a novel human 5-HT₄ receptor variant that lacks the alternatively spliced carboxy terminal exon. RT-PCR distribution in human brain and periphery of multiple 5-HT₄ receptor variants. *Neuropharmacology*. 42:60-73. 2002.
117. Vilaro, M. T., Cortes, R., Gerald, C., Branchek, T. A., Palacios, J. M., Mengod, G. Localization of 5-HT₄ receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization histochemistry. *Brain Research Molecular Brain Research*. 43:356-60. 1996.
118. Vizi, E. S., Lendvai, B. Modulatory role of presynaptic nicotinic receptors in synaptic and non-synaptic chemical communication in the central nervous system. *Brain Research Reviews*. 30:219-35. 1999.
119. Weiner, D. M. et al. Psychosis of Parkinson's disease: serotonin 2A receptor inverse agonists as potential therapeutics. *Current Opinion Investigations Drugs*. 4:815-19. 2003.
120. Wenk, G., Hughey, D. T. Neurotransmitters and memory: Role of cholinergic, serotonergic, and noradrenergic systems. *Behavioral Neuroscience*. 101:325-32. 1987.
121. West, A. R. and Grace, A. A. Opposite influences of endogenous dopamine D1 and D2 receptor activation on activity states and electrophysiological properties of striatal neurons: studies combining *in vivo* intracellular recordings and reverse microdialysis. *The Journal of Neuroscience*. 22(1):294-304. 2002.

122. White, N. M., Packard, M. G., and Seamans, J. Memory enhancement by post-training peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect. *Behavioral Neural Biology*. 59:230-41. 1993.
123. White, N. M., and Viaud, M. Localized intracaudate dopamine D2 receptor activation during the post-training period improves memory for visual or olfactory conditioned emotional responses in rats. *Behavioral Neural Biology*. 55:255-69. 1991.
124. Wilson, Ch. J. Basal Ganglia. In: *The Synaptic Organization of the brain*. Shepherd, G. M., Ed. Fourth edition. Oxford University Press. New York. Cap 9:329-375. 1998.
125. Wilson, C. J., Kawaguchi, Y. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *Journal Neuroscience*. 16:2397-2410. 1996.
126. Wilson, C. J., The generation of natural firing patterns in neostriatal neurons. Chemical signaling in the basal ganglia. In: *Progress in brain research*, Vol. 99. Arbuthnott, G. W., Emson, P. C., Eds. Amsterdam: Elsevier. pp 277-97. 1993.
127. Wise, S. P., The role of the basal ganglia in procedural memory. *Semin. Neurosci*. 8:39-46. 1996.
128. Wolbers T, Buchel C. Dissociable retrosplenial and hippocampal contributions to successful formation of survey representations. *Journal Neuroscience*. 25(13): 3333-40. 2005.
129. Wonnacott, S. Presynaptic nicotinic Ach receptors. *Trends in Neurosciences*. 20:92-98. 1997.

130. Yañez-Baña, R. M. Bases fisiopatológicas de los trastornos psiquiátricos en la enfermedad de Parkinson. *Revista de Neurología*. 39(7):636-39. 2004.
131. Yin, H. H. and Knowlton, B. J. Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learning and memory*. 11:459-63. 2004.