

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/239615421>

CORTEZA PREFRONTAL HUMANA: ÁREAS 10m, 11o Y 46d CITOARQUITECTURA E IMPLICACIONES FUNCIONALES

Article · January 2005

CITATIONS

2

READS

399

6 authors, including:



Efrain Buritica

Universidad del Valle (Colombia)

16 PUBLICATIONS 101 CITATIONS

SEE PROFILE



Gabriel Arteaga

Universidad del Valle (Colombia)

8 PUBLICATIONS 67 CITATIONS

SEE PROFILE



Hernán Pimienta

Universidad del Valle (Colombia)

49 PUBLICATIONS 335 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Cellular response to brain injury [View project](#)



Cualitative and cuantitative study of Traumatic Brain Injury in humans [View project](#)



Volumen XXXVII(2005), No 1, ISSN 0121 - 0807

CANJE BIBLIOGRÁFICO INTERNACIONAL

Alemania: Ibero Amerikanisches Institut. **Argentina:** Liga Argentina contra la Tuberculosis. **Brasil:** Arquivos Brasileiros de Cirurgia, Academica Brasileira de Ciencias, Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Divisao de Epidemiologia, Editora Medica Ltda., Instituto Adolfo Lutz, Instituto Brasileiro de Estudios y Pesquisas de Gastroenterologia, R.B. Sociedade Portuguesa de Beneficencia, Sociedade Brasileira de Dermatologia, Sociedade Brasileira de Pediatria, Sociedade de Farmacia e Quimica de Sao Paulo, Universidad de Sao Paulo, Universidad Federal de Goias, Universidad Federal de Pernambuco de Antibioticos. **Chile:** Universidad de Valparaíso, Departamento de Microbiología y Parasitología de Chile, Sociedad de Biología de Chile. **Cuba:** Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. **Dinamarca:** Medical Faculties of the Universities of Copenhagen. **Ecuador:** Casa de la Cultura Ecuatoriana, Fundación Latinoamericana para la Investigación Materno Infantil y Perinatal, Universidad Central, Centro Latinoamericano de Información Científica (CENLIC). **El Salvador:** Universidad de El Salvador. **España:** Instituto de Información y Documentación en Ciencia y Tecnología, Real Academia de Farmacia de Barcelona. **Estados Unidos de Norteamérica:** American Chemical Society, Cleveland Clinic Educational Foundation, National Library of Medicine, Organización Panamericana de la Salud, The Williams, G.L.P. International A Division O German. **Francia:** Centre National de la Recherche Scientifique, Masson editeur at Monsieur E. Viel B.P., Monsieur Le Medicin General Inspecteur Parc Du Pharo. **Guatemala:** Asociación Pediátrica de Guatemala. **Holanda:** Institute of Tropical Medicine Rotterdamleiden. **Italia:** Food Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **México:** Academia Nacional de Medicina, Asociación Mexicana de Obstetricia y Ginecología, Centro Nacional de Información y Documentación sobre Salud, Escuela Superior de Medicina, Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano de Psiquiatría, Instituto Nacional de Nutrición, Sociedad Mexicana de Alergia e Inmunología, Universidad Nacional Autónoma de Guadalajara. **República Dominicana:** Centro de Documentación en Salud Rogelio Lamarche Soto. **Rumania:** Institutul de Medicina. **Suiza:** Comité Internacional de la Cruz Roja, Organización Mundial de la Salud. **Uruguay:** Instituto Interamericano del Niño, Facultad de Medicina de Montevideo. **Venezuela:** Asociación Interciencia, Escuela de Salud Pública, Instituto Nacional de Nutrición, Instituto Nacional de Psiquiatría, Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría, Universidad de Zulia, Universidad de los Andes, Gaceta Médica.

CANJE BIBLIOGRÁFICO NACIONAL

Universidad Nacional de Colombia, Universidad de Antioquia, Sociedad Colombiana de Oftalmología, Asociación Colombiana de Facultades de Medicina (ASCOFAME), Asociación Colombiana de Medicina Interna, Biblioteca Luis Ángel Arango, Biblioteca Nacional de Colombia, Colegio Médico de Caldas, Corporación Universitaria Metropolitana, Ediciones Lerner, Escuela Colombiana de Medicina, Escuela de Medicina Juan N. Corpas, Escuela Nacional de Salud Pública, Federación Odontológica Colombiana, Federación Panamericana de Facultades de Medicina, Hemeroteca Luis López de Mesa, Hospital Mental de Antioquia, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (I.C.B.F.), Sistema Nacional de Bibliotecas, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud, Secretaría de Salud de Santander, Sociedad Colombiana de Obstetricia y Ginecología, Universidad del Norte, Universidad de Caldas, Pontificia Universidad Javeriana, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Universidad Pontificia Bolivariana, Revista Internacional de

Salud UIS. Revista de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander. Apartado Aéreo 678. Bucaramanga. Colombia. Teléfono: 6344000 Extensión: 3210. Télex: 6325000. <http://www.uis.edu.co/publicaciones/saluduis> e-mail: saluduis@uis.edu.co Licencia del Ministerio de Gobierno del 3 de diciembre de 1958, Resolución 823. ISSN 0121-0807. Tarifa para libros y revistas No. 078 de la Administración Postal Nacional. Derechos reservados de autor. QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DEL MATERIAL GRÁFICO Y EDITORIAL DE LA PUBLICACIÓN SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL EDITOR. Las opiniones expresadas en cada artículo son responsabilidad exclusiva del autor. Publicación trimestral. Esta edición consta de 1.000 ejemplares. Posee canje bibliográfico con 70 instituciones internacionales y 40 nacionales. **SUSCRIPCIÓN ANUAL:** Estudiantes: \$12.000, Profesores UIS: \$20.000 Profesionales de la Salud: \$25.000.

Rector

Ingeniero Álvaro Beltrán Pinzón

Decano Facultad de Salud

Doctor Luis Ángel Villar Centeno

Editor

Doctor Carlos Conde

Consejo Editorial

Doctora Claudia Cristina Ortiz López

Doctor Gerardo Muñoz

Doctor Fidel Latorre

Doctor Gustavo Pradilla

Coordinador Revista Electrónica

Doctor Reynaldo Badillo

Consultores Internacionales

Doctor Pedro Valencia Mayoral, México

Doctor Norberto García Cairasco, Brasil

Doctor Eliseo Guallar Castellón, España

Doctor Eduardo Sagaró González, Cuba

Doctor Gustavo Bergonzoli, Guatemala

Doctora Wilma Suárez Pinzón, Canadá

Doctor Salvador Moncada, Inglaterra

Doctor Alex Rabinovitch, Canadá

Doctor Tomás Vega Blanco, Cuba

Doctor Richard Schulz, Canadá

Consultores Nacionales

Bacterióloga Alba Lucía Arámbula de Obregón

Bacterióloga Diana Marina Camargo Lemos

Doctor Carlos Hernán Becerra Mojica

Doctor Germán Pablo Sandoval Ortiz

Doctor Carlos Arturo Morillo Zárate

Doctor Carlos Julio Montoya Guarín

Bacterióloga Teresa Acevedo Gómez

Doctor Jürg Niederbacher Velásquez

Doctor Carlos Arturo Conde Cotes

Doctor Arnulfo Rodríguez Cornejo

Doctora Martha Agudelo García

Doctor Rafael Guerrero Lozano

Doctor Daniel Álvaro Terreros

Estudiantes Asistentes Editoriales

Claudia Lucía Acelas Anaya, Escuela de Bacteriología
Jessika Andrea Muñoz Herrera, Escuela de Bacteriología

Juan Manuel Jaimes Bravo, Escuela de Medicina

Clara Isabel Rueda Chamorro, Escuela de Nutrición

Astrid Berena Herrera López, Escuela de Fisioterapia

Cristian Camilo Villamizar, Escuela de Medicina

Edward Gonzales B., Escuela de Medicina

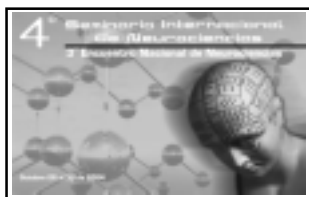
Miguel Medina, Escuela de Medicina

Diseño y Diagramación

División de Publicaciones UIS

Impresión

Publicaciones UIS



Portada: Afiche 4° Seminario Internacional
de Neurociencia, octubre 28 al 30 de 2004
Bucaramanga

Contenido

EDITORIAL.....	4	ARTICULOS DE REVISIÓN	
ARTICULOS ORIGINALES		Respuestas fisiológicas y psicogenética en el trastorno de estrés post-traumático	
Corteza prefrontal humana: Areas 10m, 11o y 46d citoarquitectura e implicaciones funcionales		<i>Carlos G. Herrera Ordóñez, Clara Isabel González, Clara Inés Vargas, Carlos Arturo Conde, Marta Dallos Arenales</i>	53
<i>Oscar Iván Perlaza Lozano, Efraín Buriticá Ramírez, John Umbarila Prieto, Gabriel Arteaga Díaz, Hernando José Pimienta Jiménez.....</i>	6		
Efectos del contenido emocional sobre la memoria declarativa: Dos estudios efectuados en sujetos sanos y pacientes cefalálgicos		ARTICULO DE COMUNICACIÓN CORTA	
<i>A. Gasbarri, B. Arnone, A. Pompili, A. Marchetti, P. Di Fabrizio, S. Saad Calil, M.C. Tavares and C. Tomaz.....</i>	15	Efectos comportamentales y hormonales derivados de exposiciones de ratas al laberinto en cruz elevado (Ice) y derivados de diferentes periodos de permanencia en el bioterio experimental	
Cambios en la expresion de parvoalbumina en neuronas del nucleo accumbens en ratas tolerantes a la metadona		<i>Fernando Rodríguez S., Lucila Leico K. Elias, José Antunes, Silvio Morato, Silvia Botelho de Oliveira, Carlos Conde</i>	58
<i>Andrés Alberto Quintero V., Adriana Medina M., Mauricio Palacios G., Oscar Gutiérrez M.....</i>	31	Resúmenes.....	60
Los gangliósidos y algunas variantes del síndrome de guillain-barré		Programa IV Seminario Internacional de Neurociencias.....	74
<i>Blanca Salazar, Miryam Romero, Santiago Castaño...36</i>			
Efectos de la isquemia focal sobre la interaccion glia - neurona: Un analisis basado en la expresion de transportadores de glutamato, las celulas gliales y las interneuronas corticales			
<i>Adriana Medina MD, Martha I Escobar.....</i>	45		



Cover: Afiche 4° Seminario Internacional de Neurociencia, octubre 28 al 30 de 2004 Bucaramanga

Contents

EDITORIAL..... 4

ORIGINAL ARTICLES

Cytoarchitecture of the human prefrontal cortex: Areas 10m, 11o and 46d cytoarchitecture, and functional implications.

Oscar Iván Perlaza Lozano, Efraín Buriticá Ramírez, John Umbarila Prieto, Gabriel Arteaga Díaz, Hernando José Pimienta Jiménez..... 6

Effects of emotional content on declarative memory: two studies conducted on healthy subjects and cephalalgic patients

A. Gasbarri, B. Arnone, A. Pompili, A. Marchetti, P. Di Fabrizio, S. Saad Calil, M.C. Tavares and C. Tomaz.....15

Changes in the Parvalbumine expression in neurons of accumbens nucleus in rats with tolerance to methadone

Andrés Alberto Quintero V., Adriana Medina M., Mauricio Palacios G., Oscar Gutiérrez M.....31

Gangliosides and some variants of the guillain-barré syndrome

Blanca Salazar, Miryam Romero, Santiago Castaño...36

Effects of focal ischemia on the Glia – Neuron interaction: An analysis based in glutamate carriers expression, the glial cells and the cortical interneuron.

Adriana Medina MD, Martha I Escobar.....45

REVIEW ARTICLE

Physiological and psychogenetic responses in the post-traumatic stress disorder

Carlos G. Herrera Ordóñez, Clara Isabel González, Clara Inés Vargas, Carlos Arturo Conde, Marta Dallos Arenales53

SHORT COMMUNICATION

Behavioral and hormonal effects in rats exposed to the elevated plus maze and resulted from different periods in the experimental vivarium.

Fernando Rodríguez S., Lucila Leico K. Elias, José Antunes, Silvio Morato, Silvia Botelho de Oliveira, Carlos Conde58

Abstracts.....60

Program of the IV International Seminar in Neuroscience.....74

Editorial

Tengo el placer de presentar en este número de la revista, las memorias del Cuarto Seminario Internacional de Neurociencias que se desarrolló en la ciudad de Bucaramanga y el Tercer Encuentro Nacional de Neurociencias del país. Este evento fue organizado por el Grupo de Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB (NYC), las Universidades Industrial de Santander y Pontificia Bolivariana de Bucaramanga, con decidido apoyo de los mas destacados grupos de investigación que desarrollan las Neurociencias en Colombia y con el respaldo derivado del proyecto 1210-04-13002 de Colciencias.

A través de este editorial, NYC quiere expresarle un reconocimiento a la organización internacional LARC-IBRO y en especial a uno de sus directivos, el Dr. José Ortiz, por su valioso respaldo académico y económico a este encuentro.

Cabe destacar también, el apoyo sistemático que investigadores como los Doctores Carlos Tomaz (Universidad de Brasilia) y José Ortiz (Universidad de Puerto Rico) han venido ofreciendo al desarrollo de las Neurociencias en Colombia, no solo a través de sus gestiones administrativas internacionales, sino también con su vinculación directa en Colombia y a través de la apertura de sus laboratorios y programas de estudios avanzados para estudiantes colombianos.

Entre los eventos de Neurociencias que se han desarrollado en Bucaramanga, éste se caracterizó por haber sido el más ampliamente representativo de lo que efectivamente se realiza de investigación en dicha área del conocimiento en Colombia, contó con la participación de 34 ponencias orales y más de 20 presentaciones en la modalidad de “Poster”. Se cubrieron temas desde la biología molecular hasta el comportamiento y la clínica; los participantes provenían de muy diversas Universidades e Institutos de investigación. Dentro de los conferencistas internacionales, además de los ya mencionados, se destacó la Doctora Antonella Gasbarri de la Universidad de L´Aquila, Italia.

Adicionalmente, este encuentro de investigadores nacionales y extranjeros, académicos y estudiantes de diversas carreras y de diversos niveles de pregrado y postgrado, sirvió de marco para un nuevo esfuerzo orientado a la consolidación del Colegio Colombiano de Neurociencias y Comportamiento. Sus frutos se vienen notando de manera progresiva y calificada.

Con este número impreso, la revista Salud-UIS, se vincula una vez más al desarrollo de las Neurociencias en Colombia esperando que los artículos y los resúmenes aquí publicados, sirvan de muestra del acelerado y excelente nivel científico que se viene alcanzando en nuestro país. Es nuestro deseo que la socialización de estos trabajos promueva muy especialmente entre los jóvenes, un interés siempre creciente por esta área del conocimiento.

Carlos Conde Ph.D.
Editor

CORTEZA PREFRONTAL HUMANA: ÁREAS 10m, 11o Y 46d CITOARQUITECTURA E IMPLICACIONES FUNCIONALES

Oscar Iván Perlaza Lozano*, Efraín Buriticá Ramírez*, John Umbarila Prieto*, Gabriel Arteaga Díaz**, Hernán José Pimienta Jiménez***

ABSTRACT

In the present paper the cytoarchitecture of the human prefrontal cortex is presented, particularly sectors from areas 10-medial, 11-orbital and 46-lateral. Brain tissue samples were obtained from post-mortem material of five human subjects from the Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, regional Bogotá. Tissue was processed by means of immuno-histochemical procedures, with the monoclonal anti-body NeuN, which stains the total population of cortical neurons. Systematic photographic registers were performed, as well as measurements of cortical depth and the relative thickness of each layer. This data were analyzed with one way ANOVA, in order to evaluate the degree of similitude or difference among the areas considered.

The results show a pattern of laminar organization, which differs in variable degrees, from that obtained with basic cellular staining, such as Nissl. As a general trend it was found more homogeneity between cortices from orbital and medial surfaces, while the lateral surface showed different characteristics when compared with the other cortical sectors considered. The analysis of these patterns were discuss considering that the cytoarchitectonic organization may predicts the connectivity allowing to draw inferences regarding function.

Key Words: Prefrontal Cortex, Cytoarchitecture, NeuN, Human

RESUMEN

En este artículo se presenta información referente a la organización citoarquitectónica de la región prefrontal de la corteza cerebral humana; en particular, de las tres superficies que la conforman: "Medial", "orbital" y "lateral". Para obtener esta información se recogieron muestras post-mortem del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, regional Bogotá de cinco sujetos humanos, específicamente de las áreas 10 medial, 11 orbital y 46 lateral.

Estos tejidos fueron tratados mediante procedimientos de inmunohistoquímica, para el anticuerpo monoclonal NeuN, el cual marca la población completa de neuronas corticales. De este material se realizaron registros fotográficos sistemáticos, en los cuales se practicaron mediciones tanto del espesor cortical, como del espesor relativo de cada una de sus láminas. Estos datos se sometieron a análisis de varianza de una vía, para determinar el grado de similitud o diferencia entre las distintas áreas.

Los resultados muestran patrones de organización laminar, que se diferencian en distinto grado, de las descripciones realizadas mediante tinciones celulares básicas, como la tinción de Nissl. En general se encuentra una mayor homogeneidad entre las cortezas procedentes de las superficies orbital y medial, mientras que la superficie lateral presenta características diferenciales respecto de las dos anteriores. El análisis de estos patrones, se consideró a la luz del concepto de acuerdo con el cual, la organización citoarquitectónica permite predecir los patrones de conectividad y estos a su vez permiten realizar inferencias sobre la función.

Palabras Claves: Corteza Prefrontal, citoarquitectura, NeuN.

Centro de Estudios Cerebrales. Facultad de Salud
Universidad del Valle

*Estudiante de Maestría en Neurociencias,

** Profesor Escuela de Psicología,
Estudiante de Doctorado en Neurociencias,

*** Director Centro de Estudios Cerebrales
Correspondencia: Profesor Hernán J Pimienta J
hernpim@telesat.com.co

INTRODUCCIÓN

La región prefrontal de la corteza cerebral en los primates no humanos y en el hombre, se ubica entre el polo frontal y la corteza premotora; de acuerdo con diversos estudios está compuesta por áreas heterogéneas, tanto anatómica como funcionalmente. Existe acuerdo general en atribuirle a la corteza prefrontal (CPF) las llamadas "funciones mentales superiores" (Luria, 1984; Barbas y Pandya, 1989; Carmichael y Price, 1994; Hof y col, 1995; Petrides y Pandya, 2001; Öngür y Price, 2000; Öngür y col, 2003).

En la CPF se identifican tres superficies: medial, orbital (basal) y lateral. Las funciones de la CPF dependen de las interacciones intrafrontales, de las conexiones con otras regiones corticales y con estructuras subcorticales; principalmente el estriado y el tálamo; sin embargo, a las diferentes superficies se les ha vinculado con algunas funciones particulares. De esta forma, las áreas que constituyen la cara medial se asocian con la atención, la motivación (interés) y con el control autonómico (Pandya y Yeterian, 1990; Barbas, 1991; Öngür y Price, 2000; Van Eden, 2000). La región orbitaria se relaciona con la integración sensorio-emocional, con algunos aspectos de la personalidad y con la conducta social (Damasio y col, 1985; Pandya y Yeterian, 1990; Barbas, 1991; Goldman-Rakic, 1995; Cavada y col, 2000; Öngür y Price, 2000). Por su parte a la superficie lateral se la considera fundamental en los procesos de cognitivos, memoria operativa y atención selectiva (Pandya y Yeterian, 1990; Barbas, 1991; Goldman-Rakic, 1995; Fuster, 2000).

La citoarquitectura de la corteza prefrontal se ha definido tradicionalmente con la técnica de Nissl, desde esta perspectiva en las tres superficies se observa una progresión, cuyas tendencias generales son las siguientes: en la pared medial se observan zonas alo corticales adyacentes a zonas de transición proisocorticales y extensa zonas neocorticales. El predominio de formas piramidales caracteriza a esta superficie y su extensión al giro frontal superior en la cara lateral. Las regiones orbitales incluyen corteza tipo "paleocortical", "proisocortical" e "isocortical"; esta progresión se caracteriza por una mayor granularidad y una mejor definición de las láminas corticales, a medida que se avanza en sentido rostral. Clásicamente la cara dorsolateral se ha considerado de tipo "isocortical" por tener una alta definición y homogeneidad laminar, con capas supragranulares prominentes (Zilles, 1990). Mientras las regiones dorsales presentan predominio piramidal, en las ventrales predominan las formas granulares.

La CPF humana no ha sido completamente caracterizada desde su "quimioarquitectura", especialmente en las áreas más rostrales. En los últimos años el desarrollo de técnicas inmunohistoquímicas, utilizando anticuerpos que reconocen antígenos específicos (Gittins y Harrison, 2004), ha hecho posible la marcación selectiva de subpoblaciones neuronales.

En el presente trabajo se describe y se discute información sobre la organización laminar de poblaciones neuronales en la corteza prefrontal humana, identificadas mediante el anticuerpo monoclonal "NeuN", el cual

permite la marcación, mediante la unión con proteínas del núcleo y del pericarión de estas neuronas.

Para el presente estudio se seleccionó un área representativa de cada superficie, teniendo en cuenta las descripciones realizadas en trabajos anteriores, en las cuales se tipifican las diferencias entre ellas con base en múltiples aspectos, tales como la conectividad, los correlatos clínico-patológicos y la citoarquitectura. Las áreas que se consideraron fueron las siguientes: área 10 en la superficie medial (10m) y 11 en la superficie orbital (11o), de acuerdo con la nomenclatura de Brodmann (1909); y el área 46 en la superficie dorsolateral (46d), según la nomenclatura de Walker (1940).

Barbas y Rempel-Clower (1997), luego de correlacionar la citoarquitectura y la conectividad en primates no humanos proponen que la primera es predictiva de la segunda. De aquí, la importancia de estudiar la organización laminar de las diferentes regiones de la CPF humana, cuya conectividad podría inferirse basado en su citoarquitectura.

Los datos obtenidos en este estudio permiten proponer que la organización laminar podría ser diferente a la clásicamente descrita, en particular para el área 46, la cual a la luz de los resultados obtenidos permitiría sugerir variaciones en sus patrones de conectividad.

Los resultados que se presentan en este artículo proporcionan datos cuantitativos útiles para estudios comparativos, estudios de desarrollo, así como para la identificación de los posibles cambios en condiciones patológicas.

MATERIALES Y METODOS

Tejido Cerebral

La muestra para este estudio se obtuvo de la corteza cerebral del hemisferio izquierdo de 5 sujetos (4 hombres y 1 mujer), con un rango de edad entre 22 a 75 años y un intervalo post-mortem no mayor de 12 horas. Los sujetos de quienes se tomaron las muestras no presentaban historia de enfermedades neurológicas ni psiquiátricas y no mostraron a la autopsia signos de trauma o edema cerebral.

La información se recolectó de los protocolos diligenciados por los médicos patólogos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses de la regional Bogotá. Variables como edad, género, nivel educativo, ocupación o estrato socio-económico de los sujetos que conformaron la muestra, no se tuvieron en cuenta para los propósitos de este estudio.

Localización Externa de las Áreas Corticales

Con base en la subdivisión arquitectónica establecida por Öngür y colaboradores (2003), se establecieron los criterios de localización topográfica de las áreas prefrontales 10m y 11o. Para el área 46d se tomó como referencia la nomenclatura y ubicación establecida por Rajkowska & Goldman-Rakic (1995).

Las muestras se tomaron mediante cortes perpendiculares a la superficie cortical, en la parte externa o "cresta" de los giros corticales; obteniendo de esta manera bloques de aproximadamente 1 cm³. El tejido se liberó de las meninges y se conservó parte de la sustancia blanca.

Preservación del Tejido

Luego de obtener las muestras se lavaron durante 10 minutos en solución salina al 10%, para remover en lo posible exceso de sangre y otros agregados; a continuación se depositaron en recipientes individuales con paraformaldehído-lisina-periodato (PLP), a un pH de 7.4. Este procedimiento permite la "fijación" del tejido, preservándolo en condiciones biológicamente estables para las proteínas celulares, deteniendo los procesos de descomposición estructural. Posteriormente, los recipientes se almacenaron, manteniéndolos refrigerados a 4°C durante un periodo de 6 a 8 días.

Corte de los Tejidos

Se realizaron cortes de 50 micras de espesor, coronales al tejido, utilizando un vibrátomo (Lancer Vibratome series 1000®). Los primeros cortes se utilizaron como prueba piloto mediante tinción rápida con azul de toluidina, para comprobar la adecuada orientación del corte y la integridad del tejido; para ello, el criterio consistió en observar la corteza cerebral en su totalidad, en particular la orientación de las dendritas apicales de las células piramidales dirigidas hacia la capa I.

Inmunohistoquímica

Con las muestras de tejido seccionadas se siguió un procedimiento por medio del cual, series de 6 cortes se destinaron para la reacción inmunohistoquímica específica con el anticuerpo monoclonal NeuN (Chemicon Internacional - MAB377®), el cual reconoce antígenos específicos de las neuronas, proporcionando tinción selectiva de los núcleos y somas (Gittins y Harrison, 2004).

Inicialmente, los tejidos fueron inmersos en una solución de metanol al 30% y peróxido de Hidrógeno al 0,3%, durante 10 minutos. Seguidamente, se lavó con "Buffer" Fosfato Salino (PBS) 3 veces por 5 minutos. La adhesión

de antígenos inespecíficos fue bloqueada con suero normal de caballo (Sigma) al 1,5 %, en PBS, el cual se aplicó por 40 minutos.

Posteriormente, los tejidos se incubaron por 18 horas en NeuN diluido en PBS con Tritón al 0,5% , en una proporción de 1:2500. Al final de este período, las secciones fueron expuestas por 40 minutos, al anticuerpo secundario biotinilado (anti-ratón de caballo), diluido a 1:200 en PBS. Terminado este proceso, las muestras fueron colocadas en una solución compuesta por el complejo avidina-biotina-HRP (Vectastain Elite ABC, Vector Laboratories), durante 40 minutos adicionales, a temperatura ambiente.

Para el proceso de "revelado", los cortes fueron tratados con una solución de Diaminobencidina al 4 %, peróxido de hidrógeno al 2 % y níquel al 2 %, en PBS durante 10 minutos. Todos los pasos fueron seguidos de los correspondientes lavados en PBS, 3 veces por 5 minutos cada uno. Finalmente, el material fué montado sobre placas de vidrio "cromoaluminadas", secados, lavados en agua destilada, deshidratados progresivamente en alcoholes y xiloles, y cubiertos con "Permout" y "cubreobjetos".

Procedimiento de Registro

Se obtuvieron fotografías digitales del tejido procesado por medio de una cámara Cannon Power Shot S30®, adaptada a microscopio de luz (Olympus CH-2 Optical modelo CHS®), con lente objetivo de 10x.

Las imágenes finales, se lograron mediante fotografías consecutivas, que luego se fusionaron digitalmente con el programa Photo Stitch versión 3.1 (2000). La fusión de estos campos parciales consecutivos, permitió producir imágenes completas de la corteza cerebral, sobre las cuales se realizaron los análisis correspondientes.

Análisis de Datos

El espesor relativo de las láminas de las áreas corticales estudiadas se determinó, estableciendo el cociente entre el espesor de cada lámina sobre el espesor total de la corteza. Estos valores se obtuvieron para cada sujeto, y luego fueron promediados. El espesor relativo de las capas supragranulares e infragranulares se calculó mediante la sumatoria de los espesores relativos de las láminas II y III, y las láminas V y VI, respectivamente.

Las comparaciones entre los espesores relativos de las mismas láminas de cada una de las áreas examinadas, así como las comparaciones entre los espesores relativos de capas supragranulares e infragranulares, se realizaron mediante análisis de varianza. Todos los valores F se obtuvieron con un nivel de confianza de al menos 0.05.

RESULTADOS

Neurohistología

En las tres áreas se observa en la lámina I la presencia de formas granulares y la menor densidad neuronal de todas las láminas corticales. La capa II se caracteriza por exhibir alta densidad de formas granulares y piramidales pequeñas. En la lámina III se encontró un predominio de células piramidales que aumentan progresivamente su tamaño al alejarse de la superficie cortical y acercarse a la capa granular interna o lámina IV.

La capa IV es delgada, regular y con bordes muy claros en el área 11o, moderados en el área 10m, mientras que en el área 46d se observa una menor definición de las láminas (ver figura 1). Adicionalmente, en esta lámina se encuentran células en las formas granulares y piramidales pequeñas, con marcado predominio de las primeras.

La lámina V se identifica por su baja densidad celular y por el predominio de neuronas piramidales de tamaño igual o mayor a las de la lámina III.

Finalmente, la lámina VI presenta un límite claro y regular con la sustancia blanca, en las áreas 10m y 11o, mientras que en el área 46d los límites son menos definidos. Dentro de la población celular de la lámina VI, prevalecen las células piramidales modificadas o multiformes, cuyos procesos no tienen una dirección específica tal como las dendritas apicales de las células piramidales de las demás láminas.

Patrones Laminares definidos con NeuN

La marcación con NeuN permite distinguir entre las subpoblaciones de neuronas granulares (interneuronas) y neuronas piramidales (neuronas de proyección), las cuales sumadas corresponden a la población total de neuronas de la corteza cerebral. Por este medio es posible

discriminar claramente la disposición horizontal de estos dos grandes grupos celulares, de tal modo, que en las imágenes observadas de las áreas 10m, 46d y 11o la apariencia es "eulaminada".

En particular el porcentaje del espesor relativo de las láminas del área 10m, indican que las láminas I, II y IV son las menos prominentes y las más homogéneas: 10.98%, 8.86% y 9.00%, respectivamente (ver tabla 1). La lámina III presenta el mayor espesor, con 31.44%, seguida de la lámina VI con 23.14%, superando en conjunto la mitad del espesor cortical total. La lámina V presenta un espesor relativo correspondiente al 16.58%, ubicándose en un lugar intermedio entre las láminas más delgadas y las más gruesas. Se encontró en esta área una similitud en el espesor relativo de las láminas supragranulares (láminas II-III: 40.30%) con respecto a las infragranulares (láminas V-VI: 39.72%), como se muestra en la figura 1.

En el área 11o, las láminas supragranulares (47.85%) superan de manera estadísticamente significativa (ver tabla 1) el espesor relativo de las infragranulares (32.95%). Las láminas de menor espesor relativo en el área 11o son I, II y IV, con 11.70%, 8.23% y 7.55% respectivamente. La lámina III es la de mayor espesor (39.63%), superando considerablemente a las que le siguen en su orden, las láminas VI (19.18%) y V (13.78%), como se observa en la figura 2.

El área 46d presenta un mayor tamaño de las láminas infragranulares (45.83%) respecto a las supragranulares (36.28%), como se verifica en la tabla 1. Las láminas de menor espesor cortical relativo y mayor homogeneidad de esta área prefrontal humana son I, II y IV, con 7.83%, 7.38% y 10.08% (ver figura 2), respectivamente. La lámina más extensa corresponde a la VI, con 31.13%, similar a la lámina III con 28.90%. La lámina V ocupa un lugar intermedio entre las capas de mayor y menor espesor cortical relativo, con 14.70%.

TABLA 1. ESPESOR RELATIVO

LÁMINAS	ÁREA 10m (%)	ÁREA 11o (%)	ÁREA 46d (%)
I	10.98	11.70	7.83
II	8.86	8.23	7.38
III	31.44	39.63	28.90
IV	9.00	7.55	10.08
V	16.58	13.78	14.70
VI	23.14	19.18	31.13
SUPRAGRANULARES	40.30	47.85	36.28
INFRAGRANULARES	39.72	32.95	45.83
SUPRA vs. INFRAA	0.01	10.91*	16.21*

Comparaciones establecidas entre los espesores relativos de las capas supragranulares (láminas II - III) e infragranulares (láminas V - VI) en cada una de las áreas corticales examinadas.

*: Valores F calculados que superan el valor crítico de F para un rango de confiabilidad de 0.05, por lo tanto, señalan aquellas comparaciones en las que se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

FIGURA 1.
ESPESOR RELATIVO DE CAPAS
SUPRAGRANULARES E INFRAGRANULARES.

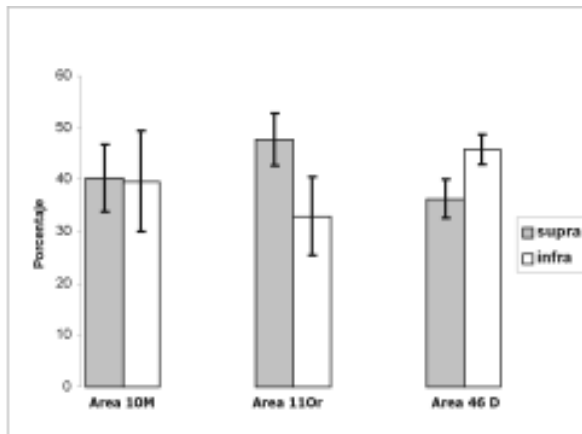
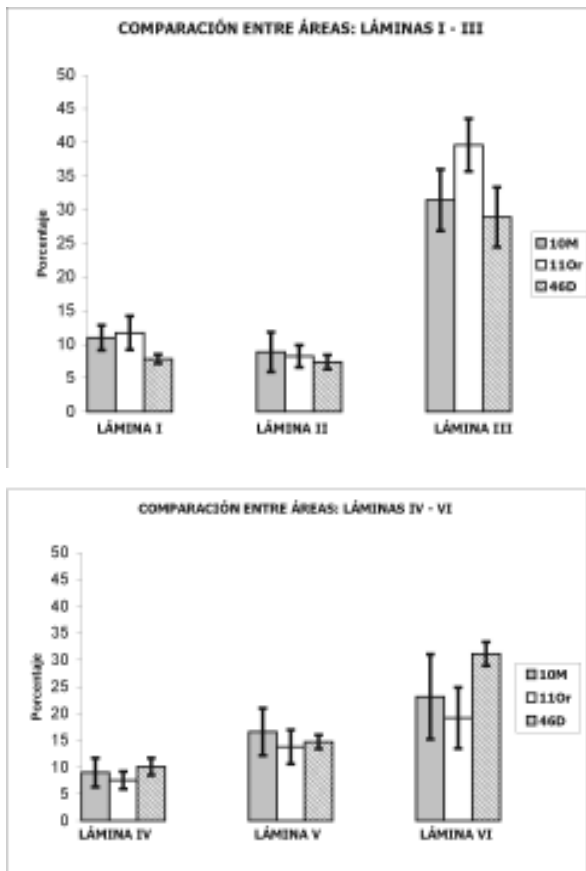


FIGURA 2.
ESPESOR RELATIVO DE LAS LÁMINAS EN CADA
UNA DE LAS ÁREAS



Comparación Entre Los Patrones Laminares Específicos

Al comparar los espesores relativos de cada una de las láminas de las áreas evaluadas, se observó que las láminas II, IV y V presentaron poca variabilidad, y ninguna de las comparaciones (entre las tres áreas o entre pares de áreas) muestran diferencias estadísticamente significativas (ver tabla 2) (Figura 3).

La lámina I, en las tres áreas consideradas mostró diferencias significativas como tendencia general; al especificar dichas diferencias en comparaciones por pares de áreas, se encontró que esta lámina es diferente entre los pares 11o - 46d y 46d - 10m, pero no en entre 10m - 11o (ver tabla 2). Es decir, la lámina I del área 46d es significativamente más pequeña que la misma lámina en las áreas 10m y 11o (ver figura 2).

En el espesor relativo de la lámina II, al igual que en las láminas IV y V, no se encontraron diferencias significativas entre las tres áreas evaluadas ni en las comparaciones entre pares de áreas.

El análisis de varianza mostró que la lámina III difiere significativamente entre las tres áreas corticales y de manera particular, entre los pares 10m - 11o y 11o - 46d (ver tabla 2). Es decir, el espesor relativo de la lámina III del área 11o es significativamente mayor al de la misma lámina en las áreas 10m y 46d (ver figura 2), pero el espesor relativo de esta lámina no es diferente entre las áreas 10m y 46d.

En la lámina VI se encontraron diferencias entre las tres áreas evaluadas, pero solo la comparación entre el par 11o - 46d evidencia diferencias estadísticamente significativas (ver tabla 2). Por lo tanto, el espesor relativo de la lámina VI del área 46d es significativamente mayor que el de la misma lámina en el área 11o, pero no al del área 10m. Así mismo, las áreas 10m y 11o no presentan diferencias significativas en el espesor relativo de su lámina VI.

En resumen, el análisis de varianza del promedio de los porcentajes muestra una diferencia significativa en el espesor relativo de las láminas I, III y VI, así como de las capas supragranulares entre las tres áreas estudiadas. Las áreas 10m y 11o, solo difieren en el espesor relativo de su lámina III. Las áreas 11o y 46d presentan diferencias notables en las láminas I, III y VI, y en las capas tanto supragranulares como infragranulares. Al comparar las áreas 46d y 10m, se encontró que solo difieren en el espesor relativo de la lámina I.

TABLA 2. ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ESPESOR RELATIVO

	10m vs. 11o vs. 46d	10m vs. 11o	11o vs. 46d	46d vs. 10m
LÁMINA I	5.07*	0.25	8.93*	10.16*
LÁMINA II	0.53	0.15	0.76	0.90
LÁMINA III	6.75*	8.06*	13.08*	0.71
LÁMINA IV	1.43	0.88	4.87	0.49
LÁMINA V	0.83	1.14	0.29	0.67
LÁMINA VI	4.11*	0.70	15.30*	3.74
SUPRA (II-III)	4.80*	3.59	13.66*	1.18
INFRA (V-VI)	2.89	1.30	10.25*	1.43

*: Valores F calculados que superan el valor crítico de F para un rango de confiabilidad de 0.05, por lo tanto, señalan aquellas comparaciones en las que se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN

Citoarquitectura de la Corteza Prefrontal

Citoarquitectónicamente, la CPF es una región heterogénea conformada por sectores granulares, disgranulares y agranulares definidos por el grado de desarrollo de la lámina IV, el cual se expresa en la clara separación de las láminas III y V. Según Barbas y Rempel-Clover (1997), la lámina IV es la más variable del lóbulo frontal en los primates. Esta organización se considera el resultado de dos progresiones evolutivas de la corteza cerebral propuestas por Sanides (1970, en: Pandya et al, 1989), y más tarde corroboradas en los trabajos citoarquitectónicos de Barbas y Pandya (1989).

Una de estas progresiones, la "paleocortical", con predominio granular, cursa desde la corteza olfatoria hasta la superficie ventrolateral de los hemisferios cerebrales; la otra, la "arquicortical", con predominio piramidal, se origina en la formación hipocampal y cursa por la cara medial de los hemisferios hasta la superficie lateral. De esta forma, los dos principales tipos de células de la corteza, piramidales y granulares, coexisten en las diferentes regiones corticales; en algunos casos con predominio de una de las dos tendencias. El grado de granularidad o piramidalidad de la corteza, sin ser el lóbulo frontal la excepción, da indicios de su origen y es fundamental para establecer correlaciones con el patrón de conexión, el cual solo ha podido ser estudiado con precisión en primates no-humanos.

La tendencia paleocortical está involucrada con la función sensorial, en la identificación de objetos o estímulos, es decir, respondería al "qué"; mientras que la tendencia arquicortical relacionada con el procesamiento de información espacial, respondería al "dónde" (Sanides, 1970; Yeterian y Pandya, 1991).

Las variaciones en la definición laminar de las capas granulares de las áreas corticales estudiadas podrían explicarse a partir de la especificidad de la técnica utilizada (ver figura 3). Convencionalmente la tinción de Nissl ha sido empleada para determinar patrones de organización y definición laminar y celular, no obstante, esta tinción no solo marca neuronas sino también la población de células gliales, causando dificultad en la distinción entre glías y neuronas pequeñas, particularmente en las capas granulares. Según Gittins y Harrison (2004) la inmunohistoquímica con NeuN, dado su carácter de marcador neuronal selectivo, proporciona mayor confiabilidad en el marcaje de la población neuronal total y en la determinación del nivel de definición laminar. Eventualmente los nuevos estudios inmunohistoquímicos que utilizan NeuN, como el presente, podrían discrepar en algunos aspectos frente a los hallazgos arquitectónicos obtenidos con base en otras técnicas.

Los resultados del presente estudio muestran que no hay diferencias significativas, entre una y otra área, en el tamaño relativo de la lamina IV. Sin embargo, el nivel de diferenciación de la lamina IV en el área 46d es menor al de las áreas 11o y 10m (ver figura 3), contrario a lo esperado según la progresión de los trenes evolutivos y la tipificación hecha por Barbas y Rempel-Clover (1997).

De acuerdo con los estudios inmunohistoquímicos en primates, las áreas insulares rostrales, y la porción posterior de las áreas orbitofrontales son agranulares, es decir, carecen de la capa IV (granular interna) y poseen láminas V y VI prominentes. En la misma superficie orbitofrontal, hay una zona de transición, caracterizada por una lámina IV incipiente y conformada por los sectores disgranulares de las áreas 12/47, 13 y 14. Hacia el polo frontal, las cortezas exhiben una capa IV bien

definida, con un predominio de células granulares o interneuronas; aquí se pueden incluir las áreas 10 orbital, 11, y 12/47 en su porción lateral y rostral (Dombrowski y col, 2001; Öngür y Price, 2000). En el presente estudio, se halló que el área 11o exhibe una lamina IV bien definida, lo cual concuerda con la caracterización hecha por Dombrowski y col (2001) sobre las áreas granulares de la superficie orbitofrontal.

La CPF medial se caracteriza por presentar áreas posteriores agranulares con pobre definición de sus láminas; mientras las áreas más anteriores, incluyendo la 10, que abarca una amplia zona de la pared medial, presenta en sentido postero-anterior un mayor nivel de definición laminar y granularidad (Öngür y col, 2003), tal como se encontró en el área 10m de los sujetos humanos del presente trabajo.

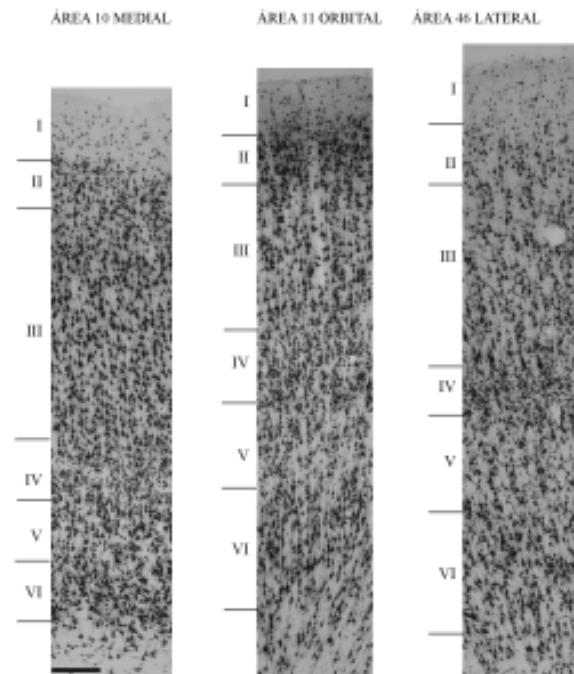
En humanos, no se registran antecedentes de estudios inmunohistoquímicos que describan el espesor relativo de las láminas del área 10m. Dombrowski y col (2001) determinaron a partir de la tinción de Nissl, que las capas supragranulares de los macacos no difieren significativamente en espesor, respecto de las capas infragranulares. Los datos sobre el área 10m que se originan del presente trabajo, corresponden con el equilibrio de capas supragranulares versus capas infragranulares (ver tabla 1 y figura 1) descritas en monos por Dombrowski y col (2001).

De las tres caras de la CPF, se ha considerado que la dorsolateral es la más homogénea y se caracteriza por tener el mayor nivel de definición laminar, una lamina IV prominente y mayor densidad supragranular (en capas II y III) (Dombrowski y col, 2001); sin embargo, los datos aquí obtenidos a partir del estudio del área 46d con NeuN sugieren una organización distinta, donde las capas infragranulares son más prominentes (ver tabla 1 y figura 1) y la diferenciación laminar se halla en un nivel inferior al de las áreas de las caras orbital y medial estudiadas (ver figura 3).

Implicaciones Funcionales

A las particularidades de la organización laminar de la región prefrontal subyacen ciertas implicaciones funcionales. Los estudios de conectividad cortico-cortical intra e interhemisférica han establecido que las láminas II/III o capas supragranulares son las que realizan este tipo de conexiones (Barbas y Rempel-Clower, 1997). Según los datos del presente estudio, el área 11o exhibe capas supragranulares prominentes, especialmente la capa III, la cual es la de mayor espesor frente a las demás láminas. Las características señaladas con anterioridad

FIGURA 3. COMPARACIÓN DEL ESPESOR CORTICAL Y LA DISTRIBUCIÓN LAMINAR DE TRES ÁREAS PREFRONTALES HUMANAS



De izquierda a derecha, las áreas prefrontales humanas 10 medial, 11 orbital y 46 dorsal. La barra en la parte inferior izquierda de la figura es para las tres fotos. = 200 μ m.

hacen pensar que el área 11o es una región asociativa, esencialmente de integración supramodal, puesto que la mayoría de aferentes y eferentes cortico-corticales llegan y se originan respectivamente, en las láminas II/III. Es decir, que el área 11o se conecta principalmente con otras áreas corticales asociativas tanto adyacentes como de otras regiones de la corteza cerebral ipsi y contralaterales. Esto concuerda con los estudios de conectividad realizados en primates no-humanos donde se evidencia una alta conectividad entre la corteza frontopolar y otras áreas prefrontales posteriores (Barbas y Rempel-Clower, 1997; Cavada y col, 2000).

Dado que las capas supragranulares superan en tamaño a las infragranulares, se presupone que esta región de la corteza orbitofrontal no se comporta de la misma manera que las áreas orbitales posteriores a ella. Barbas y Rempel-Clower (1997) plantearon un modelo de conectividad corticocortical que permite predecir el tipo de cortezas con las que se conecta una región específica, de acuerdo al nivel de granularidad y diferenciación laminar. Según este modelo y la descripción de la organización laminar hecha en el presente trabajo, el área 11o corresponde al tipo de corteza "eulaminada II", o sea, con seis láminas claramente definidas y acentuadas capas supragranulares que se proyectan predominantemente a las capas infragranulares de las

cortezas tipo "disgranular" y "agranular" (cortezas orbitales posteriores); estas a su vez, envían contingentes de axones desde las capas infragranulares a las capas supragranulares del área 11.

Las regiones posteriores de la superficie orbital reciben información sensorial olfatoria, gustativa, visual, somatosensorial y visceral, así como información emocional proveniente del sistema límbico (Öngür y Price, 2000). Es decir, el área 11 recibe información sensorial y emocional altamente procesada que podría vincularla en un papel eminentemente integrador de las experiencias sensoriales y emocionales con elementos cognitivos aportados por las áreas más rostrales y laterales de la misma CPF. Estas últimas se conectarían recíprocamente con el área 11 a través de las capas supragranulares. Probablemente la razón por la cual las capas supragranulares del área 11 son notablemente más grandes que las infragranulares, es el origen y recepción en las primeras de una fuerte conectividad con cortezas orbitales posteriores y anteriores, y con la corteza prefrontal medial.

Por otra parte, en los datos obtenidos mediante este estudio se encontró que los patrones de organización laminar del área 10m y el área 11o difieren en un grado mucho menor de lo que sucede en relación al área 46d. Algunos autores han propuesto una subdivisión del área 11 en las porciones orbitolateral y orbitomedial (Öngür y col, 2003); la primera, ligada a la red orbital, integrando la información procedente de las áreas posteriores de esta superficie; la segunda, enlazaría la red orbital con la red medial a la cual pertenece el área 10m, la cual podría jugar un papel similar al área 11o pero en la pared medial, lo que explicaría la ausencia de diferencias significativas entre estas dos áreas.

Algunos autores consideraron que la CPF solo tenía un rol supresor de las expresiones autonómicas y emocionales, sin embargo, con el aporte de diversos estudios (Fuster, 1989 en: Van Eden y col., 2000; Damasio, 1994) hoy se sabe que la CPF, en especial la superficie medial, realiza un trabajo integrador autonómico y comportamental, dadas sus conexiones con centros autonómicos como el hipotálamo, el tallo cerebral y la medula espinal. Dicha conectividad involucra a la corteza prefrontal medial en funciones tales como la respiración, el ritmo cardiaco, la presión sanguínea, la motilidad gastrointestinal y la nocicepción.

Esto proporciona una relación entre las "funciones mentales superiores" y la información del medio interno y externo con las cuales se pueden realizar adaptaciones autonómicas y emocionales que modulan y seleccionan

el comportamiento adecuado (Van Eden, 2000). En este contexto la disposición equilibrada entre laminas supragranulares e infragranulares sugiere un papel integrador del área 10 medial.

Dada la conectividad descrita del área 46 en primates no-humanos y los hallazgos citoarquitectónicos con la tinción de Nissl, es de esperar que en esta área cortical las capas supragranulares sean más prominentes que las infragranulares. Sin embargo, esto no fue lo que se observó en el actual trabajo. La presencia en el área 46d humana, de capas infragranulares prominentes quizá esta relacionada con la necesidad de llevar a cabo un mayor control subcortical con el fin de gobernar las entradas sensoriales, especialmente las entradas talámicas a través de la lámina VI, en pro de los mecanismos de recuperación y manipulación de la información, y de los procesos de atención.

Las nuevas técnicas que emplean marcadores selectivos para poblaciones neuronales proporcionan mayor precisión en la determinación de la organización laminar de las regiones corticales estudiadas. Así mismo, dicha organización sumada a los estudios cuantitativos de subpoblaciones celulares de la corteza permitirá establecer la disposición de estas subpoblaciones y su conectividad intrínseca, como también predecir la conectividad corticocortical de cada región y por ende, su funcionalidad.

AGRADECIMIENTOS: Los autores desean expresar su agradecimiento al Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses Regional Bogotá por el suministro de los especímenes. A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle por el apoyo financiero. A Colciencias por el apoyo a través del programa de jóvenes investigadores. A la Dra Martha Isabel Escobar por el apoyo en los protocolos de inmunohistoquímica y por la revisión crítica del manuscrito y a la Dra Liliana Villamil por su apoyo técnico.

REFERENCIAS

- Barbas, H. (1992) Architecture and cortical connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Advances in Neurology*, 57: 91 - 115
- Barbas, H.; Pandya, D.N. (1989) Architecture intrinsic connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 286: 353 - 375
- Barbas, H.; Henion, T.H.H.; Dermon, C.R. (1991) Diverse thalamic projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 313: 65 - 94

- Barbas, H.; Rempel-Clower, N. (1997) Cortical structure predicts the patterns of corticocortical connections. *Cerebral Cortex*, 7: 635 - 646
- Carmichael, S.T.; Price, J.L. (1994) Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 346: 366 - 402
- Cavada, C.; Compañy, T.; Tejedor, J.; Cruz-Rizzolo, R. J.; Reinoso-Suarez, F. (2000) The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A Review. *Cerebral Cortex*, 10: 220 - 242
- Damasio, A.R. (1994) *Descartes' Error: Emotion, Reason, and the Human Brain.*, New York: Putman.
- Dombrowski, S.M.; Hilgetag, C.C.; Barbas, H. (2001) Quantitative architecture distinguishes prefrontal cortical systems in the rhesus monkey. *Cerebral Cortex*, 11: 975 - 988
- Escobar, M.I.; Palomino, J.C.; Arévalo, M.; Pimienta, H.J. (1998) Dorsolateral prefrontal cortex of the Owl monkey: a qualitative and quantitative Nissl and GABA immunostaining study. *Alzheimer's Disease Review*, 3: 57 - 62
- Fuster, J.M. (1989) en : Van Eden, C.G.; Buijs R.M. (2000) *Functional Neuroanatomy of the Prefrontal Cortex: Autonomic Interactions.* Progress in Brain Research, 126: 49-62
- Fuster, JM (2000). *Executive Frontal Functions.* Experimental Brain Research, 133: 66-70.
- Gittins, R.; Harrison, P.J. (2004) Neuronal density, size and shape in the human anterior cingulate cortex: a comparison of Nissl and NeuN staining. *Brain Research Bulletin*, 63: 155 - 160
- Groenewegen, H.J.; Uylings, H.B.M. (2000) The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in Brain Research*, 126: 3 - 23
- Hof, P.R.; Mufson, E.J.; Morrison, J.H. (1995) Human orbitofrontal cortex: cytoarchitecture and quantitative immunohistochemical parcellation. *The Journal of Comparative Neurology*, 359: 48 - 68
- Luria, A.R. (1984) *El Cerebro en Acción.* Martinez-Roca, Barcelona.
- Öngür, D.; Price, J.L. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*, 10 (3): 206 - 219
- Öngür, D.; Ferry, A.T.; Price, J.L. (2003) Architectonic subdivisions of the human orbital and medial prefrontal cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 460: 425 - 449
- Pandya, D.N.; Yeterian, E.H. (1990) Prefrontal cortex in relation to other cortical areas in rhesus monkey: architecture and connections. *Progress in Brain Research*, 85: 63 - 94
- Petrides, M.; Pandya, D.N. (1999) Dorsolateral prefrontal cortex: comparative cytoarchitectonic analysis in the human and the macaque brain and corticocortical connection patterns. *European Journal of Neuroscience*, 11: 1011 - 1036
- Petrides, M.; Pandya, D.N. (2001) Comparative cytoarchitectonic analysis of the human and the macaque ventrolateral prefrontal cortex and corticocortical connection patterns in the monkey. *European Journal of Neuroscience*, 16: 291 - 310
- Pimienta, H.J.; Escobar, M.I.; Palomino, J.C.; Quijano, M.C. (1999) Corteza prefrontal: un mosaico evolutivo, estructural, funcional y clínico. En: *Primates, evolución e identidad humana* (Muñoz, J.; Serrano, C., ed.) pp. 73 - 82
- Rajkowska, G.; Goldman-Rakic, P.S. (1995) Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex. I. Remapping of areas 9 and 46 using quantitative criteria. *Cerebral Cortex*, 5: 307 - 322
- Sanides, F. (1969) Comparative architectonics of the neocortex of mammals and their evolutionary interpretation. En: *Dorsolateral prefrontal cortex of the Owl monkey: a qualitative and quantitative Nissl and GABA immunostaining study* (Escobar, M.I.; Palomino, J.C.; Arévalo, M.; Pimienta, H.J.). *Alzheimer's Disease Review*, 3: 57 - 62
- Van Eden, C.G.; Buijs R.M. (2000) *Functional Neuroanatomy of the Prefrontal Cortex: Autonomic Interactions.* Progress in Brain Research, 126: 49-62
- Walker, A.E. (1940) A cytoarchitectural study of the prefrontal area of the macaque monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 73: 59 - 86
- Yeterian, E.H.; Pandya, D.N. (1994) Laminar origin of striatal and thalamic projections of the prefrontal cortex in rhesus monkeys. *Experimental Brain Research*, 99 (3): 383 - 398
- Zilles, K. (1990) Cortex. En: *The Human Nervous System* (Paxinos G, ed.), pp. 757 - 802

EFFECTS OF EMOTIONAL CONTENT ON DECLARATIVE MEMORY: TWO STUDIES CONDUCTED ON HEALTHY SUBJECTS AND CEPHALALGIC PATIENTS

EFFECTOS DEL CONTENIDO EMOCIONAL SOBRE LA MEMORIA DECLARATIVA: DOS ESTUDIOS EFECTUADOS EN SUJETOS SANOS Y PACIENTES CEFALÁLGICOS.

A. Gasbarri¹, B. Arnone¹, A. Pompili¹, A. Marchetti¹, P. Di Fabrizio¹, S. Saad Calil², M.C. Tavares² and C. Tomaz²

Abstract

Several studies suggest that emotional arousal can promote memory storage. We report two studies evaluating the effects of emotional content on declarative memory, conducted with healthy subjects and cephalgic patients. We utilized an adaptation of two versions of the same story, with different arousing properties (neutral or emotional), which have been already employed in experiments involving the enhancing effects of emotions on memory retention. In the first study, conducted on healthy students, we used event related potentials (ERP) to evaluate whether there is a sex-related hemispheric lateralization of electrical potentials elicited by the emotional content of a story. We compared left and right hemisphere P300 waves, recorded in P3 and P4 electrode sites, in response to emotional or neutral stimuli in men and women. In the left hemisphere, emotional stimuli elicited a stronger P300 in women, compared to men, as indexed by both amplitude and latency measures; moreover, the emotional content of the story elicited a stronger P300 in the right hemisphere in men than in women. The better memory for the arousal material may be related to the differential P300 at encoding. These data indicate that both sex and cerebral hemisphere constitute important, interacting influences on neural correlates of emotion, and of emotionally influenced memory.

In the second study we evaluated the influence of the same emotional stimuli, utilized in the first study, on declarative memory on cephalalgic patients, suffering from migraine headache, divided in 2 groups: migraineurs without any treatment and migraineurs treated with the antidepressant amitriptyline. No ERP analysis was performed in this part of research. The findings of the present experiments suggest that chronic migraine is associated with memory impairment. Taking into account that migraine is associated with major depression, in the present research the effect of the antidepressant amitriptyline was also evaluated. Our results showed that amitriptyline has an impairment effect on memory. In fact, in our study the untreated migraineurs recalled the most emotional phase of the arousal story significantly better compared to migraineurs treated with amitriptyline. Then, our data suggest that amitriptyline prevents the enhancing effects of emotional content on memory processes.

Key words: emotional memory, event related potentials, P300 wave, migraine, amitriptyline.

Resumen

Varios estudios sugieren que el despertar emocional puede promover el almacenamiento de información en la memoria. Nosotros reportamos dos estudios evaluando los efectos del contenido emocional sobre la memoria declarativa, efectuados con sujetos sanos y pacientes cefalálgicos. Utilizamos una adaptación de dos versiones del mismo relato, con diferentes propiedades (neutral o emocional), la cual ha sido previamente empleada en experimentos que abordan los efectos de mejoría sobre la retención de la

¹Department of Sciences and Biomedical Technologies,
Faculty of Sciences of Education, University of L'Aquila, Italy

²Department of Physiological Sciences, Laboratory of Neurosciences and Behavior,
Institute of Biology, University of Brasilia, CEP 70910-900 Brasilia, DF, Brasil

memoria causados por las emociones. En el primer estudio, efectuado en estudiantes sanos, empleamos potenciales relacionados a eventos (PRE) para evaluar si existe una lateralización hemisférica relacionada al sexo, de los potenciales eléctricos producidos por el contenido emocional de un relato. Comparamos las ondas P300 de los hemisferios izquierdo y derecho, registrados en los sitios correspondientes a los electrodos P3 y P4, en respuesta a estímulos neutrales o emocionales en hombres y mujeres. Los estímulos emocionales produjeron un P300 mayor, medido tanto por la amplitud como por la latencia del potencial, en el hemisferio izquierdo de mujeres comparado con el de los hombres, sin embargo, produjeron un P300 mayor en el hemisferio derecho en los hombres comparado con el de las mujeres. La mejoría en la memoria, originada por el contenido emocional de la información, puede estar relacionada con el diferencial del componente P300 durante la codificación. Estos datos indican que tanto el sexo como la lateralización hemisférica constituyen importantes factores que interactúan para influenciar tanto a los correlatos neurales de las emociones como a la memoria influenciada emocionalmente.

En el segundo estudio evaluamos la influencia del mismo estímulo emocional, utilizado en el primer estudio, sobre la memoria declarativa de pacientes cefalálgicos, que padecen migraña, divididos en dos grupos: migrañosos sin ningún tratamiento y migrañosos tratados con el antidepresivo amitriptilina. No se efectuó análisis de los PRE en esta parte de la investigación. Los hallazgos del presente experimento sugieren que la migraña crónica es asociada con deterioros en la memoria. Considerando que la migraña se asocia con depresión mayor, la presente investigación evaluó también el efecto del antidepresivo amitriptilina. Nuestros resultados mostraron que la amitriptilina tiene un efecto dañino sobre la memoria. De hecho, en nuestro estudio los migrañosos sin tratamiento recordaron la parte más emotiva del relato, de manera significativamente mejor comparados con los migrañosos tratados con amitriptilina. Por lo tanto, nuestros datos sugieren que la amitriptilina bloquea los efectos de mejoría sobre el procesamiento de la memoria causados por el contenido emocional de la información.

Palabras clave: Memoria emocional, potenciales relacionados a eventos, componente P300, migraña, amitriptilina.

GENERAL INTRODUCTION

It has long been known that emotional events are more likely to be later recollected than non emotional events. In the last decade, the field of cognitive neuroscience of emotion has grown dramatically. Most studies have focused on emotional processing (perception and evaluation of emotional stimuli) and on emotional memory (the effects of emotion on memory formation). A critical distinction in this literature is the one between two affective dimensions: emotional *arousal* and emotional *valence*. Arousal refers to a continuum that varies from calm to excitement, whereas valence refers to a continuum that varies from pleasant to unpleasant, with neutral as an intermediate value.

An extreme example of this enhancement of memory by emotion is the so-called flashbulb memory: a highly vivid memory for an intensely emotionally engaging event, such as hearing the news of the death of a relative or cherished celebrity. From an evolutionary perspective, emotional arousal, whether of an appetitive or aversive nature, signals an event or stimulus that is likely to have both immediate and future relevance to survival and reproductive success. Accordingly, it is adaptive to enhance memory for stimuli that elicit emotional arousal, thus ensuring that important information is available on future occasions.

In recent years, brain mechanisms subserving emotion, and the influence of emotion on memory have received increasing attention. For example, strongly converging

evidence from studies conducted on animals and human subjects implicates endogenous stress hormones and the amygdala as key, interacting components of a neural mechanism by which emotional arousal influences memory storage (1, 2, 3).

The aim of this research was to evaluate the effects of emotional content on declarative memory; in particular we evaluated whether retention is enhanced by an emotionally arousing story as compared to a neutral one. We utilized an adaptation to an Italian sample of two stories with different arousing properties (neutral and emotional), both presented with the same set of slides, explained through a narrative. These stories have been already employed in experiments with brain damaged and healthy adult subjects, involving the enhancing effects of emotions on memory retention (2, 4, 5, 6, 7). The use of the same set of slides for both versions represented a useful instrument in demonstrating the emotional effect on long-term declarative memory in studies with Urbach-Wiethe patients, suffering from a degenerative disease involving the amygdala (8), in research on amnesic patients (6, 7, 9, 10), and in studies on noradrenergic arousing effects on memory (11). The emotional and neutral versions of the story were as similar as possible in complexity and comprehensibility (2, 5, 6) in order to offer a better control for the evaluation of the principal effect (i.e. the emotional content). This also avoided that memory differences between the neutral and emotional groups could result from “story effects” (12), such as novelty or inherent memorability of the stimuli used, rather than “emotional effects”. The setting and “actors”

were taken from an Italian sample and the text was adapted to the local culture.

The study was divided in 2 parts. In the first part, conducted on healthy subjects (students), we used ERP to evaluate if there is a sex-related hemispheric lateralization of electrical potentials elicited by the emotional content of a story. In the second part of our research we evaluated the influence of emotional stimuli on declarative memory on cephalalgic patients, divided in 2 groups: migraineurs without any treatment and migraineurs treated with the antidepressant amitriptyline.

Event related potentials are ideally suited to study of cerebral processes requiring high temporal resolution as it is for investigation of emotional information processing (Lucchese and Mecacci, 1999).

STUDY 1

Sex-related lateralized effect of emotional content on declarative memory on healthy subjects: an event related potential study. Several studies show that emotions can be considered response dimensions defining affective states along two orthogonal axes of arousal and valence (Osgood et al., 1957; Russel, 1980; Watson & Tellegen, 1985). Arousal refers to the intensity of an emotion, related to the property of the stimuli (from neutral to exciting) whereas valence indicates the degree to which that emotion is pleasant or unpleasant (Lang et al, 1990; 1992; 1993).

INTRODUCTION

Recent evidence from research conducted on animals and humans began to reveal seemingly large, but previously unsuspected, sex-related influences on brain mechanisms subserving the relation between emotion and memory (2, 13). For example, the role of amygdala in memory for emotional material exhibits a different hemispheric lateralization depending on the sex of the subjects tested: activity of the right, but not left, hemisphere amygdala relates significantly to memory for emotional material in men; conversely, activity of the left, but not right, hemisphere amygdala relates significantly to memory for emotional material in women (14, 15, 16). Taking into account that each amygdala likely modulates information processing in other brain regions (17, 18), and amygdalo-cortical projections are almost exclusively ipsilateral, we hypothesized the possibility that a sex-related hemispheric lateralization of processing for emotional material may also exist to some degree in cortical regions.

Event related potentials (ERP) are ideally suited in many ways to study cortical processing, affording very high

temporal resolution, including in the domain of emotional information processing.

In general, human response to emotional stimuli is stronger for emotionally arousing (pleasant and unpleasant) stimuli as compared to neutral. In skin conductance studies, changes were significantly larger for emotionally arousing pictures compared to neutral pictures (19). ERPs can be used to differentiate affective dimensions of emotional qualities of visual stimuli (20).

ERPs to emotional stimuli often generate the P300 component, which is robust around 300ms post-stimulus (21). The P300 event-related brain potential is thought to reflect neuroelectric activity related to cognitive processes, such as attention allocation and activation of immediate memory. Greater magnitude of the P300 as well as a strong positive waveform characterizes this waveform to emotionally salient stimuli (22). Indeed, pleasant and unpleasant pictures elicit larger P300 components than neutral stimuli (23). We focused on the P300 wave since it has been revealed sensitive to effects of emotional arousal (24). More specifically, on the basis of findings with the amygdala, and given evidence correlating P300 amplitude in response to visual stimuli with amygdala size (25), we hypothesized that emotionally arousing stimuli might elicit a stronger P300 response in the right hemisphere in men compared to women, but a stronger P300 wave in the left hemisphere in women than in men. We also anticipated that this effect may be most likely detected over parietal recording sites (Pz).

In the investigations of EEG to emotional visual stimuli showed higher cortical positivity in response to emotional material compared to neutral than to neutral one, suggesting indicating a deeper processing of the emotional information (26). ERPs in response to emotional pictures showed that unpleasant visual stimuli, compared to neutral, produced more robust P300 components (27, 28, 29). Similarly, significantly larger evoked potentials to arousing versus neutral stimuli were reported (30, 31, 32).

Some studies involving EEG have focused more specifically on the role the two hemispheres play in emotional information processing; however the data from these studies appear somewhat conflicting. For example, a differential left hemisphere P300 response to line drawings of emotional compared with neutral faces was reported (33). In contrast, a differential P300 component from the right hemisphere centro-parietal region in response to emotional versus neutral faces was later reported (34). One possible explanation for some of the inconsistencies in the literature is that, as far as we know, no study has controlled simultaneously for the influences

of *both* the sex of the subjects and the hemisphere over which recording electrodes were located when assessing evoked potentials to emotional stimuli. Regarding sex, studies frequently either pool men and women without reporting separate analyses of each (31), or restrict their population to only men (35) or women (32). Therefore, understanding brain responses to emotional material may require careful attention simultaneously to the effects of *both* sex and hemisphere.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twenty four subjects (12 female and 12 male), mean age 26 (± 4.7) years, all University of L'Aquila psychology students, participated as a course requirement. Their main age was 25 years. All the subjects were initially submitted to a screening interview for any health problems, drug use, or signs of mental retardation. All subjects were right-handed, had normal vision and were not suffering from any neurological disorder. Exclusionary criteria included any major medical or psychiatric illness, substance abuse, or history of head injury. After arrival at the laboratory, participants read and signed thean informed consent form before participating in the study, in accordance with the regulations of the University Institutional Review Board.

Material

The stimulus materials, utilized in this study, consist in an adaptation of instruments previously used (2, 5, 6, 36), which were kept as close to the original as possible. The materials consisted of a set of 11 slides, accompanied

by the narrative of two versions of a simple story – one neutral and one arousal. Slides 1, 2, 3 4, 5, 6, 9, 10, 11 were new pictures taken locally. The general appearance of the “actors”, in terms of age, physical characteristics, type of clothing, and the quality of the scenes were as similar as possible to the ones previously utilized (2, 4, 5, 6). The slides previously used and included in this paper were 7 and 8. The subjects viewed one of two versions of a simple story (either a neutral or an arousing one) each consisting of 11 slides presented for approximately 10 s each and accompanied by one sentence of narration. The slides were projected utilizing a multi-medial system consisting in a portable IBM PC Think Pad A31, with a color screen XGA TFT color 14, 1” (1024x768) and Pro-compatible Sound Blaster audio card and integrated loud speakers. The images were sequenced using Microsoft Power Point 2000 (Office 2000), integrating video signals with audio signals previously recorded in digital format. The synchronization of the image projections was obtained through a digital fototrigger, consisting in an amplified phototransistor and a Schmitt Trigger. Both stories depicted a mother taking her young son to visit his father’s workplace. The slides were the same, even though there was a difference in the arousing properties of the story content (Tab I). The stories are about a mother and her young son going to visit the father boy’s at the nearby hospital where he works. In the neutral version, on their way, they see a car accident that caught the attention of the child. In the arousal version, the boy is the victim of a serious car accident in which he is critically injured and thus operated on the emergency room of the hospital.

Table I - Narrative accompanying slide presentation

Slide	Neutral version	Arousal version
1)	A mother and her son are leaving home in the morning	A mother and her son are leaving home in the morning
2)	She is taking him to visit his father’s workplace	She is taking him to visit his father’s workplace
3)	The father is the chief laboratory technician at a nearby hospital	The father is the chief laboratory technician at a nearby hospital
4)	They check before crossing a busy road	They check before crossing a busy road
5)	While walking alone, they pass the scene of a minor accident, which the boy finds interesting	While crossing the road, the boy is struck by a runaway car, which critically injures him
6)	At the hospital, the staff are preparing for a practice disaster drill, which the boy will watch	At the hospital, the staff prepare the emergency room, to which the boy is rushed
7)	All morning long, surgeons practiced the standard disaster still procedures	All morning long, surgeons struggled to save the boy’s life
8)	Special make-up artist were able to create realistic injuries on actors for the drill	Specialized surgeons were able to successfully re-attach the boy’s severed feet
9)	After the drill, while the father stayed with the boy, the mother left to phone her other child’s preschool	After the surgery, while the father stayed with the boy, the mother left to phone her other child’s preschool
10)	Running late, she phones the preschool to tell them she will soon pick up her child	Feeling distraught, she phones the preschool to tell them she will soon pick up her child
11)	Heading to pick up her child, she hails a taxi at the number nine bus stop	Heading to pick up her child, she hails a taxi at the number nine bus stop

Slide	Italian version	
1)	Una madre e suo figlio/ stanno uscendo di casa/ al mattino	Una madre e suo figlio/ stanno uscendo di casa/ al mattino
2)	La madre sta portando il figlio/ a visitare/ il posto dove lavora il padre	La madre sta portando il figlio/ a visitare/ il posto dove lavora il padre
3)	Il padre/ è tecnico di laboratorio/ all'ospedale	Il padre/ è tecnico di laboratorio/ all'ospedale
4)	Prestano attenzione prima di attraversare/ una strada abbastanza trafficata	Prestano attenzione prima di attraversare/ una strada abbastanza trafficata
5)	Lungo il cammino,/ si imbattono in un piccolo incidente,/ che il ragazzo/ si ferma a guardare incuriosito	Nell'attraversare la strada,/ il ragazzo/ viene investito da una macchina in corsa,/ che lo ferisce gravemente
6)	Nell'ospedale/ i medici/ si stanno preparando per un'esercitazione relativa alle procedure da adottare in un caso di urgenza,/ e il ragazzo viene invitato a guardare	All'ospedale,/ i medici/ stanno preparando la sala per le urgenze/ dove stanno portando velocemente il ragazzo
7)	Per tutta la mattinata,/ i medici/ si esercitano nelle procedure da usare in caso di urgenza	Per tutta la mattinata,/ i medici lottano per salvare la vita del ragazzo
8)	Truccatori specializzati/ realizzano finte ferite molto realistiche/ per l'esercitazione	Chirurghi specializzati/ ricostruiscono e riattaccano/ i piedi del ragazzo
9)	Dopo l'esercitazione,/ mentre il padre rimane con il ragazzo,/ la madre si allontana per andare a telefonare/ all'asilo dell'altro figlio	Dopo l'intervento,/ mentre il padre rimane con il ragazzo,/ la madre si allontana per andare a telefonare/ all'asilo dell'altro figlio
10)	Poiché era in ritardo,/ telefona all'asilo/ per avvisare che presto andrà a riprendere il figlio	Sconvolta dal dolore,/ telefona all'asilo/ per avvisare che presto andrà a riprendere il figlio
11)	Per andare a riprendere il figlio/ chiama un taxi/ alla fermata dell'autobus n. 9	Per andare a riprendere il figlio/ chiama un taxi/ alla fermata dell'autobus n. 9

According to previous findings (2, 4, 5, 6), the story can be divided into 3 phases: phase 1 (the first 4 slides), consisting of relatively non emotional material (the mother and her son are on their way to the hospital), phase 2 (the middle 4 slides) containing emotionally arousing elements (child's hospitalization, including a picture of the boy's badly hurt legs and the surgery ward), and phase 3 (the last 3 slides) consisting again of material that is normally judged as not being very emotional (the mother leaves the hospital to make a phone call and goes home).

A professional actor narrated both versions, in a flat and unemotional voice. The structure of the sentences was similar in both emotional and neutral versions of the story. The slides were adapted to the Italian environment.

A similar version of the questionnaire for the 11-slide sequence previously used (2, 5, 6) was translated into Italian. The questionnaire had 5-10 questions about each slide, with a total of 74 multiple-choice questions.

The scoring system for story recall was in agreement with the criteria used to score most memory test for stories (37). As shown in table I, each slide narration was divided into segments and the subjects received a point for the recall of each segment. The recall of each segment earned them 1 point; for example, for slide 1 the subject could earn up to 3 points, plus additional points for precise description of details, such as "the boy was carrying a ball" in slide 1. In the recall the subjects could use sentences that differed from the originals, but they had

to express the same meaning and the same idea. The narration was segmented in agreement with criteria referring to its structure and content, such as main idea of the slide, action (what happened), complement to the main idea or to the action (what, how, to whom) and time complement (when, after, before). We scored also the recall of any additional details, not stated by the narrator of the stories (such as color of clothing, etc.), because they reflected increased visual memory of the slides.

Procedure

The subjects were randomly assigned to the arousing or neutral conditioning. The two groups were equivalent in terms of gender.

Participants were seated in a comfortable chair in a sound-attenuated, dimly lit room. After electrode attachment and laboratory adaptation, in both conditions they were told that the aim of our study was to evaluate how people pay attention to stories. They were told that they were going to watch a slide presentation accompanied by a short sentence narrating the story. They were instructed to concentrate on each slide for the duration of its presentation and to view the slide-show as if they were watching a movie, paying attention to everything seen and heard. Immediately after viewing the slide show, the participants were asked to rate the emotionality of the story using a scale from 0 to 10. A score of 0 indicated "not emotional", and a score of 10 indicated "highly emotional". At the end of the first session, the subjects were told that the second part of the study would be

carried out 10 days later and more details would be given after that session. They had no indication that their memory would be tested. The subjects were also asked not to discuss the experiment with other people, as this could jeopardize results. On their return, ten days later, the subjects were informed that their memory of the story viewed would be tested. Prior to starting memory testing, the subjects were asked whether they were expecting a memory test despite our efforts to avoid it. All reported that a memory test was unexpected to them. The memory was tested by means of free recall and recognition test. First, they were asked to perform a free recall of the story, which was recorded on a portable tape recorder. Then, they were asked to answer the multiple-choice questionnaire about it. The 74 questions were presented orally by the experimenter and, for each question, 1 correct and 3 incorrect but plausible choices were presented. Testing was individual in both sessions.

Psychophysiological recording procedures

Electroencephalogram (EEG) signals were recorded from 1 second before slide onset until 8 seconds after the end of the post-picture period, using Biopac Mod. MP150 system and 6 standard system amplifiers (Mod. EEG 100C, Biopac System, Inc, Santa Barbara, U.S).

The auditory stimulus (narration) is presented 1 s after the visual stimulus.

The EEG was measured through Ag/AgCl electrodes placed at P3, P4, according to the International 10/20 System (Jasper, 1958) and using A1 and A2 as reference. Electrode sites were cleaned with alcohol and abraded to reduce electrode impedance. Impedance of each electrode was checked to insure it was below 5KOhm. Vertical and horizontal electrooculogram (EOG) was recorded from electrodes placed above and below the left eye, in order to control for eye movement artifacts using miniature Ag/AgCl electrodes and the same frequency range as for the EEG.

Data reduction and analysis

Data were collected for the entire time of the slides projection, including the intertrial interval with a sampling rate of 1000 Hz. Subjects presenting trials containing electrooculographic shifts exceeding 100 μ V were automatically rejected from further analysis. Averaging was performed, and both amplitudes and latencies of P300 peak were considered. The amplitude of the P300 component to each slide and at each recording location was determined by subtracting the baseline (defined as the mean amplitude for the 100 msec period immediately before stimulus onset) from the peak value obtained 250-

400 msec after stimulus onset. The latency was defined as the peak value observed in the 250 to 400 ms range after stimulus onset.

Statistical analysis

Data were analyzed using the analysis of variance, followed by the Tukey's Honestly Significant Different (HSD) test. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

In the figures the results are presented as mean \pm S.E.M.

RESULTS

Ratings of emotionality

The ratings of emotionality of the arousal and neutral groups differed significantly in their main ratings of the emotionality of the stories [$F(1,22) = 37.91$; $p < 0.0001$] (Fig. 1). The mean emotional rating for the arousal group was $6.62 (\pm 0.25)$ versus $4.12 (\pm 0.35)$ for the neutral group.

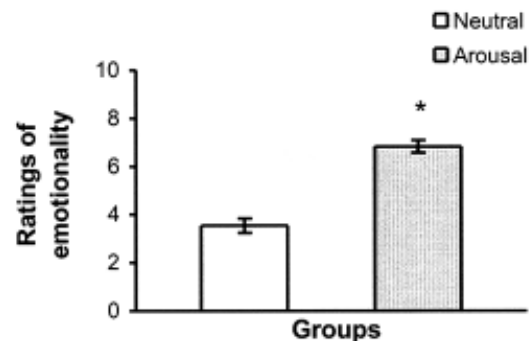


Figure 1. Mean (\pm SEM) ratings of emotional reaction to the neutral and emotionally arousing narratives. * $p < 0.0001$ compared to the neutral group.

Evoked Potentials

The P300 amplitude and latency were determined for P3 and P4 electrode sites in both men and women.

P300 Amplitude

At site P3, the arousal story produced a significantly larger P300 in women than neutral story did [$F(1,22) = 75.84$; $p < 0.0001$]. Also, the P300 amplitude in response to arousal story was significantly higher in women than in men [$F(1,22) = 53.34$; $p < 0.001$] (Fig. 2). At site P4, a significant difference between men and women in P300 amplitude was detected in response to the arousal version of the story [$F(1,22) = 8.59$; $p < 0.008$] (Fig. 2). A significant difference in amplitude between P3 and P4 was found both in men [$F(1,22) = 12.28$; $p < 0.002$] and women [$F(1,22) = 30.78$; $p < 0.0001$], in response to the arousal story (Fig. 3).

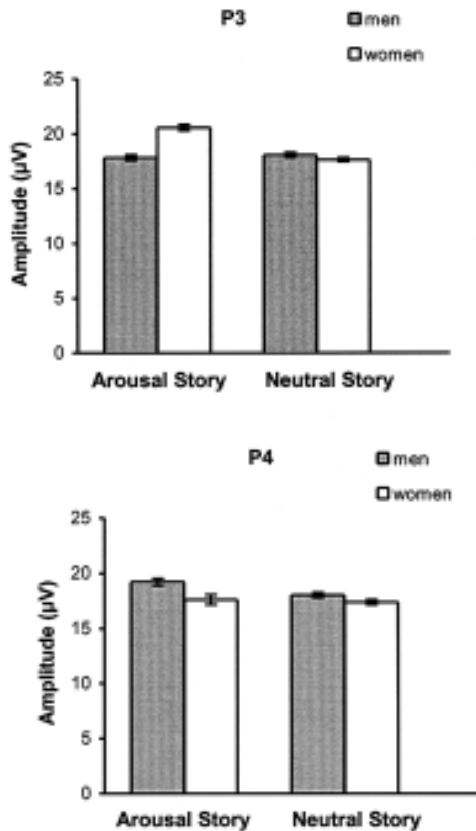


Figure 2. Mean amplitude (\pm SEM) of P300 wave in men and women at the P3 and P4 electrode sites. At site P3, the arousal story produced in women a significantly larger P300 than did the neutral story. Also, the P300 amplitude at site P3 in response to arousal story was significantly higher in women than in men. At site P4, the arousal story produced in men a significantly larger P300 amplitude than did the neutral story.

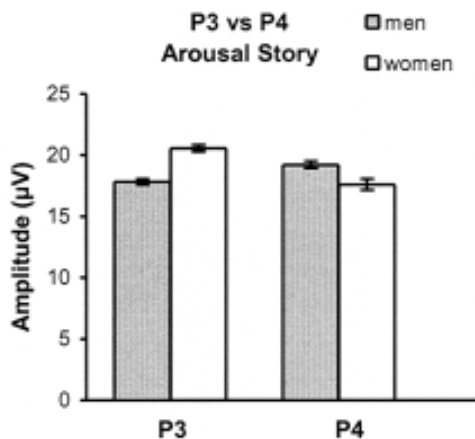


Figure 3. Mean amplitude (\pm SEM) of P300 wave in men and women at the P3 and P4 electrode sites in response to the arousal version of the story.

P300 Latency

The P300 latency was determined for P3 and P4 electrode sites in both men and women (Fig. 4). At site P3, the P300 latency in men after the presentation of arousal story was significantly longer than it was in response to neutral [F (1,22)=24,89; $p < 0.0001$]. Furthermore, latency at site P3 was significantly longer in men than in women [F (1,22)=17,59; $p < 0.0005$] in response to the arousal version of the story. At site P4, no significant difference between men and women was found in response to arousal version of the story, compared to neutral. Indeed, the latency in response to arousal story was significantly longer at P3 than at P4 electrode site in men [F (1,22)=90,91; $p < 0.0001$], but not in women.

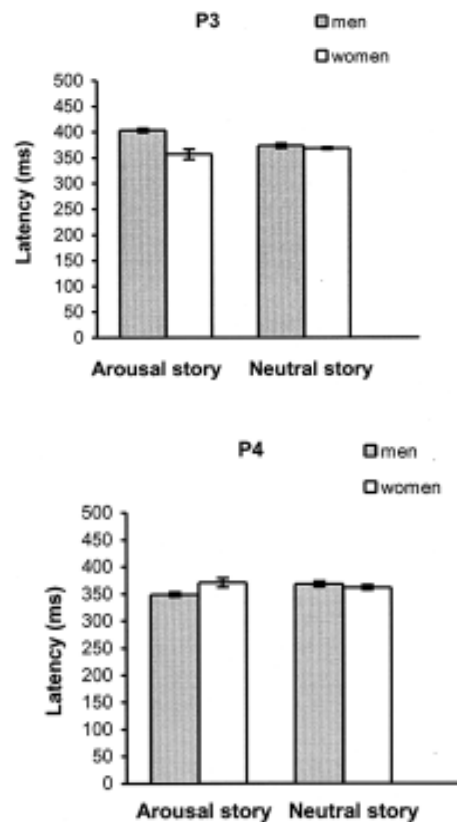


Figure 4. Mean latency (\pm SEM) of P300 wave at P3 and P4 electrode sites in men and women for each of the 2 versions of the stories. At *site P3*, the P300 latency in men, after the presentation of arousal story, was significantly longer than it was in response to neutral story. In men, the P300 latency in response to arousal story was also significantly longer than in women. At *site P4*, no significant difference between men and women was found in response to arousal version of the story, compared to neutral.

Indeed, the latency in response to arousal story was significantly longer at P3 than at P4 electrode site in men ($p < 0.0001$), but not in women

Memory

The influence of the emotional content on memory was evaluated by means of free recall and recognition test.

Free recall.

The free recall test showed that men In men, memory for stimuli was significantly higher to and women recalled the arousal version of the story more than the neutral version, even though the difference is statistically significant in men [$F(1,10)=5.2$; $p<0.05$], but not in women [$F(1,10)=0.13$; n.s.] (Fig. 5). The mean recall was 15.16 (± 0.97) and 11.00 (± 1.31) units of information for participants in the arousal and neutral conditions, respectively.

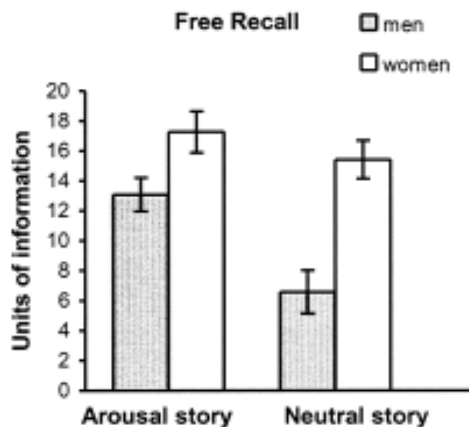


Figure 5. Recall scores (mean \pm SEM) on arousal and neutral versions of the story. The free recall test showed that men In men, memory for stimuli was significantly higher to and women recalled more the arousal than the neutral version of the story, even though the difference is statistically significant in men, but not in women.

Recognition test

The results of the recognition test indicated that there was no overall difference between the two groups. Subjects in the neutral condition answered an average of 61 % of the questions and subjects in the arousal condition were correct on 67 %. Nevertheless, a phase-by-phase comparison of the results revealed a difference between the two groups for phase 2 of the stories, which is the phase in which the emotionally arousing information was presented (Fig.6); in fact, the arousal group recalled more story elements than the neutral group [$F(1,22)=7.18$; $p<0.01$]. The two groups did not differ for either phase 1 or phase 3. The mean recall score for

the subjects in the arousal condition was 15.16 (± 0.97) versus 11.00 (± 1.31) for the subjects in the neutral condition (Fig.6).



Figure 6. Recognition memory for the neutral and emotionally arousing versions of the stories. In phase 2, the arousal group recalled more story elements than did the neutral group.

DISCUSSION

Several key findings emerged from this investigation. First, the emotionally arousing version of the story evoked a differential EEG response depending both on the sex of the subjects and the hemisphere over which the potentials were recorded. Most interestingly, the arousal story evoked a significantly larger P300 component in location P3 (left hemisphere) in women than in men. The P300 amplitude significantly differ between men and women at site P4 (right hemisphere); in fact, the statistical analysis showed that it was larger in men than in women, and confirmed the existence of a significant interaction between sex and hemisphere in P300 amplitude, in response to the arousal version of the story, with this interaction being carried primarily by a significant difference between P3 and P4 both in men and women. Analysis of P300 latencies revealed a similar hemispheric lateralization: for the arousal version of the story, the latency at site P3 was significantly shorter in women compared to men. Sex and hemisphere also significantly interacted in influencing P300 latency. These results parallel those of recent brain imaging results indicating greater left hemisphere amygdala participation in processing into memory of emotionally arousing material in women, but greater right hemisphere amygdala processing into memory of the same material in men (14, 15, 16).

P300 latency is generally considered a metric of stimulus classification speed, with shorter latencies thought to reflect superior cognitive perform (24). In addition, P300

latency and amplitude are negatively correlated (24). Thus our finding of shorter P300 latencies in the left hemisphere in women, in response to the arousal version of the story fits well with our findings concerning P300 amplitude in suggesting a greater left hemisphere parietal response to arousing stimuli in women, and a greater right hemisphere parietal response to the same pictures in men. Of course, EEG recorded at left and right parietal scalp locations may have generators other than parietal ones. However, converging neuropsychological, intracranial recording, and imaging evidence points towards a major P300 source in temporal-parietal cortex (38). Furthermore, there exists a significant correlation between amygdala volume and visual P300 responses (25), suggestive of an amygdala-parietal cortex functional linkage which may underlie the present sex-related differences in P300 response.

We obtained greater left hemisphere P300 responses in women, and right hemisphere responses in men, to arousing stimuli, which were also better remembered in a long-term (10 days) incidental free recall test, raising the hypothesis that the enhancement of P300 response could be related to the enhancement of memory.

Sex-related influences on the EEG have been reported sporadically for many years, but mostly without being the subject of sustained, systematic investigation. Sutton and Davidson (39) found that, only in women and not in men, frontal EEG asymmetry is significantly related to an index of "positivity". Consistently with earlier studies examining only women (40) greater left and right frontal activation related to enhanced defensiveness was found in women and men, respectively (41, 42). Similarly, opposite relationships between frontal asymmetry and mood in men and women was reported (43). Finally, in female a sex-specific effect on N400 response using emotional stimuli was recently observed (44).

Studies focused on amygdala reported a differential effect of left versus right temporal lobectomies on memory for an emotional story depending on the sex of the subjects was reported (2, 3, 10).

These findings clearly indicate that subject sex is a crucial variable in understanding cerebral hemisphere function, in particular in relation to emotional conditions. Indeed, future studies should control for menstrual cycle activity as well in female subjects, at least in studies such as the present concerning arousing stimuli, as an influence of the menstrual cycle on P300 responses to relatively arousing stimuli has been reported (30).

A rapidly increasing number of studies involving human subjects document neurobiological differences between men and women. Functional sex-related differences have been reported in brain correlates of emotional (45) and facial processing (46, 47), auditory (48, 49, 50) and language processing (51, 52), working memory (53), and even in visual cortex responsiveness to specific light wavelengths (54). The present findings underscore the view that the influences of both subject sex and cerebral hemisphere must be considered in future studies of neural correlates of emotion, and of emotion's relation to memory.

STUDY 2

Effect of emotional content on declarative memory on migraine headache patients.

In the second part of our research we evaluated the influence of emotional stimuli on declarative memory on cephalgic patients. The cephalgic subjects participating in this study were all migraine headache patients.

Migraine headaches have been attributed to a genetically determined defect of cranial neurovascular function (55, 56), occurring in approximately 18% of females and 6% of males over 11 years old (57), with the onset appearing before age 40 in about 90% of cases (58). Migraine is typically characterized by recurrent and extended episodes of unilateral, pulsating, and moderate to severe pain. For migraines with aura, visual disturbances are the most commonly reported aura symptom, but other sensory, motor, affective, and cognitive symptoms may occur in the prodrome, aura, and/or headache phase of an attack (58, 59, 60, 61). Conflicting evidence exists regarding the effect of chronic migraine headache on neuropsychological test performance. The performance of migraine headache patients has been reported to be significantly below the level of normal controls on a variety of cognitive measures, including tests assessing sensorimotor functioning, attention and information processing, language, and memory (62, 63, 64, 65, 66). These results lead to the hypothesis that chronic migraine may result in persistent, subtle central nervous system dysfunction. This hypothesis is consistent with the association of migraine attacks with vascular and neuronal disturbances (67, 68), and with findings that migraineurs may show difference from healthy controls on neurophysiologic and neuroradiological measures including cerebral blood flow, auditory and visual evoked potentials, and MRI (69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76). However, other neuropsychological studies, with similar sample sizes, have found no differences between migraine

headache patients and controls (77, 78, 79). These data are in agreement with the hypothesis that migraine is typically a neurologically benign syndrome (58, 80, 81).

The present study was designed to examine the effect of emotional content on declarative memory in migraineurs. We evaluated 2 groups of migraineurs, one without treatment and the other one treated with the antidepressant amitriptyline, one of the first “reference” tricyclic antidepressants (82).

MATERIALS AND METHODS

Subjects

The participants were volunteers divided in 3 groups: healthy subjects, patients with migraine headache without any prescription, migraineurs treated with the antidepressant amitriptyline. There were 48 individuals in the healthy group (24 men and 24 women), 29 in the migraineurs group without prescription (8 men and 21 women), and 19 subjects (5 men and 14 women) in migraineurs treated with the antidepressant amitriptyline. The groups did not differ in race, education, or intelligence, as measured by the National Adult Reading Test (83). ~~Their main age was 25 years.~~ All the subjects were initially submitted to a screening interview for any health problems, drug use, or signs of mental retardation. All subjects had normal vision. Exclusion criteria included recent substance abuse, systemic disease, a history of a learning disability or special education, and central nervous system disease. A history of head trauma with persistent cognitive sequel was an exclusionary criterion for the migraineurs group. The medical history was acquired from medical records and/or patient interviews. The migraine patients were recruited in part (60%) at the Neurological Clinic of the University of L’Aquila, and in part (40%) at the Neurological Clinic of the Hospital of Penne (PE). Migraine was diagnosed by clinic specialists based on the criteria of the Headache Classification Committee of the International Headache Society (84).

After arrival at the laboratory, participants read and signed the informed consent form before participating in the study, in accordance with the regulations of the University Institutional Review Board. to the participation in this research

Material

The stimulus material utilized in the second part of this study is the same we utilized in the first part, consisting in 2 versions (emotional and neutral) of the same story (2, 5, 6, 36).

Procedure

The procedure followed in the second part of our study was analogous to the one followed in the first part of the research, except that no ERP analysis was performed.

Statistical analysis

Data were analyzed using ANOVA, followed by the Tukey’s Honestly Significant Different (HSD) test. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

In the figures the results are presented as mean \pm S.E.M.

RESULTS

Ratings of emotionality

The healthy subjects rated the emotionally arousing narrative as being more emotional than the neutral [F (1,46)=66.98; $p < 0.0001$] (Fig.7). The mean emotional rating was 6.62 (± 0.25) for the emotionally arousing narrative versus 4.12 (± 0.35) for the neutral narrative.

In the patients with migraine headache without any prescription and the migraineurs treated with amitriptyline the mean emotional rating for the emotionally arousing narrative did not significantly differ from the neutral narrative [F (1,29)=0.47; n.s.] and [F (1,15)=0.004; n.s.], respectively (Fig.7). In the untreated migraineurs group, the mean emotional rating for the arousal group was 7.38 (± 0.42) versus 6.50 \pm 0.68 for neutral group. In the group of migraineurs treated with amitriptyline, the mean emotional rating for the arousal group was 6.7 \pm 0.93 versus 6.55 \pm 0.60 for neutral group.

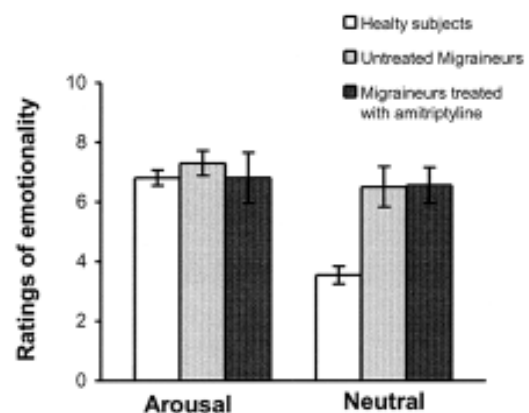


Figure 7. Mean (\pm SEM) ratings of emotional reaction to the neutral and emotionally arousing narratives in healthy subjects, untreated migraineurs and migraineurs treated with amitriptyline.

Memory

The influence on memory of the emotional content was evaluated by means of free recall and recognition test.

Free recall

In all the 3 groups, there were no statically significant differences between the total amount of information recalled by participants who heard the neutral narrative and participants who heard the emotionally arousing narrative (Fig. 8). In the healthy subjects group, mean recall was 15.16 (± 0.97) and 11.00 (± 1.31) units of information for participants in the arousal and neutral conditions, respectively. In the untreated migraineurs group, mean recall was 16.33 (± 0.79) and 12.87 (± 0.83) units of information for participants in the arousal and neutral conditions, respectively. In the group of migraineurs treated with amitriptyline, mean recall was 11.50 (± 1.13) and 9.44 (± 0.55) units of information for participants in the arousal and neutral conditions, respectively.

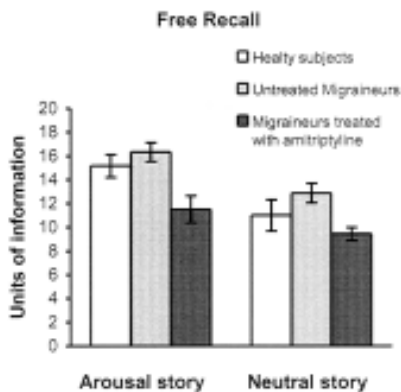


Figure 8. Recall scores (mean \pm SEM) on arousal and neutral stories in healthy subjects, untreated migraineurs and migraineurs treated with amytriptyline. The free recall test showed that in all the 3 groups, there were no statically significant differences between the total amount of information recalled by participants who heard the neutral narrative and participants who heard the emotionally arousing narrative.

Recognition memory.

The results of the multiple choice test were analyzed for percent correct of total information recognition, as well as for percent correct as a function of narrative phase. In all the 3 groups the total recognition for participants who heard the emotionally arousing narrative did not statically differ from the subjects who heard the neutral story. Nevertheless, as is shown in

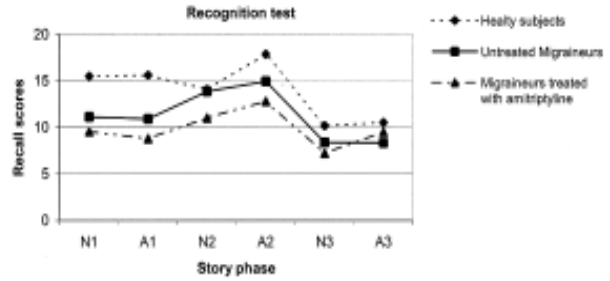


Figure 9. Recognition test. In the 3 groups, the total recognition for participants who heard the emotionally arousing narrative did not statically differ from the subjects who heard the neutral story. Nevertheless, an enhanced recognition for the emotionally arousing of the narrative, compared to the neutral narrative was evidenced in the phase 2 of the story, which is the phase where the emotionally arousing information was presented. A significantly enhanced recognition was evidenced in the phase 2 of the arousal narrative in the group of untreated migraineurs compared to the group of migraineurs treated with amitriptyline. The comparison of the 3 groups for the phase 2 of the arousal version of the story evidenced in the healthy subjects a statistically better recognition memory compared to both untreated migraineurs and migraineurs treated with amitriptyline. In all the groups, no statistically significant difference between the participants in the neutral and arousal condition was evidenced in the recognition memory for either phase 1 or phase 3.

Figure 9, an enhanced recognition for the emotionally arousing of the narrative, compared to the neutral narrative was evidenced in the phase 2 of the story, which is the phase containing emotionally arousing information. In particular, in the healthy subjects group, participants in the neutral condition answered an average of 61% of the questions and participants in the arousal condition were correct on 67%. An enhanced recognition for the emotionally arousing of the narrative was evidenced in phase 2 of the narrative. Participants in the arousal condition recalled more story elements than did the subjects in the neutral condition [F (1,94)= 15.87; p<0.0002)].

In the groups of the untreated migraineurs and the migraineurs treated with amitriptyline, participants in the neutral condition answered an average of 51% and 42 % of the questions, respectively, and participants in the arousal condition were correct on 52 % and 48 %, respectively. A significantly enhanced recognition was evidenced in the phase 2 of the arousal narrative in the group of untreated migraineurs compared to the group of migraineurs treated with amitriptyline [F (1,29)=4.32; p<0.05)]. The comparison of the 3 groups for the phase 2 of the arousal version of the story evidenced in the healthy subjects a statistically better recognition memory

compared to both untreated migraineurs [$F(1,43) = 13.92$; $p < 0.0006$] and the migraineurs treated with amitriptyline [$F(1,32) = 25.72$; $p < 0.001$].

In all the groups, no statistically significant difference between the participants in the neutral and arousal condition was evidenced in the recognition memory for either phase 1 or phase 3.

DISCUSSION

The findings of the present experiments suggest that chronic migraine is associated with memory impairment. As mentioned in the introduction, memory dysfunctions in migraineurs have already been reported (59, 63, 66, 85, 78, 85, 86). Among studies who found deficiencies in the cognitive processing of migraineurs, it was reported that migraineurs show significantly poorer performances in memory and information processing tests (66). Also, neuropsychological impairment and cognitive defects were also reported in migraine patients (59, 63). Impairment of short and long term memory was also showed in children suffering common migraine, compared to controls (62). Verbal and visual memory was also lower in patients with common migraine, compared to controls (87). Defects both in verbal and visual memory were detected either in patients suffering migraine with aura and patients suffering migraine without aura (88). These cognitive defects, however, were not confirmed by other authors who did not find significant differences between migraineurs and controls in any of the neuropsychological tasks administered (85). Also, other studies did not report cognitive impairment in samples of female migraine patients (77, 78). Likewise, a study evaluating the cognitive and psychomotor capacity in migraineurs with aura, migraineurs without aura, and healthy controls showed similar results in every group (89). Previous neuropsychological studies suggesting that frequent migraine headache may lead to a subtle decline in cognitive functioning as a result of the repeated paroxysms in hemodynamic associated with migraine. For example, it was suggested that chronic migraine is not typically associated with meaningful cognitive impairment (90). This conclusion is reinforced by the fact that there was no significant correlation between duration of migraine and cognitive performance.

Taking into account that personality traits and /or psychological factors may influence the neuropsychological performance, some of the above mentioned authors studied also some of these aspects. In this respect, many authors have found that neuroticism personality profile is higher among migraineurs than in healthy subjects (91, 92), and that

migraine patients have also been found to be at increased risk for affective and anxiety disorders (92, 93). It was also found that, even though migraine patients scored higher in free-floating anxiety, obsessiveness and somatic complaints, there was no correlation between these data and cognitive results (66). Besides, even though scores obtained in the Hamilton Depression Scale from both migraineurs with aura and without aura were higher than those of the control group, the difference was not statically different (88). In disagreement with the results of Burker et al. (77), Leijdekkers et al. reported that migraine patients, compared to controls, had higher traits and state anxiety levels, as well as more depressed mood and lower vigour scores; no correlation between any of these parameters and the results of cognitive tests was found. Other studies reported that patients with migraine with aura and without aura showed impaired neuropsychological performances only on some cognitive tests. Both groups were similarly affected on visuo-spatial memory tasks, whereas only the migraineurs without aura showed significantly impaired verbal performances and attention defects compared to controls (88). Disturbances in visuomotor speed processing, attention, and memory were observed among migraineurs with a long history of migraine and in those experiencing higher frequency of attacks (94).

The discordances in results between the studies which found cognitive affectation in migraine, and those who did not, might be explained by differences in the selection of subjects: the patients of previous studies (62, 63, 66, 87, 94) and also the subjects we examined in the present research came from headache clinics, whereas others (77, 78, 88, 89) were recruited among the general population or students.

Moreover, results from headache pain and memory studies suggest that pain, as it adversely affects memory, may operate at a threshold level rather than on a dose-response continuum (95, 96, 97, 98)

It is interesting to note that migraine has also been reported in association with two important syndromes: the transient global amnesia (TGA) and the antiphospholipid syndrome (APS, Hughes' syndrome). The TGA is a benign clinical neurological syndrome consisting of an acute onset and short-lasting episode of global memory loss, repetitive queries, and disorientation in time. The attack resolves within 24 h, with no sequel except amnesia for the attack itself. Many attacks are triggered by special circumstances as sexual intercourses, highly emotional experiences, pain (99, 100).

APS is a prothrombotic disease in which neurological events feature prominently. Strokes, transient ischemic attacks, headaches (including migraine) and memory loss are important complications (101).

Taking into account that migraine with and without aura is associated with major depression, in the present research we also evaluated the effect of the antidepressant amitriptyline, which represented the treatment of the subjects of one of the 2 groups of migraineurs we examined. The tertiary tricyclic antidepressants (TCAs), such as amitriptyline, are highly effective in the treatment of panic disorder, migraine and major depression, which is also associated with migraine (102). Antidepressants may ameliorate the social and occupational life of depressed patients, but also impair these domains due to the negative impact on psychomotor and cognitive functions (103). The risk of impairment varies widely among antidepressant drugs, depending also on their pharmacological properties. TCAs block histaminergic, adrenergic and cholinergic receptors which may induce sedation and performance impairment in a wide range of tasks (103, 104). Moreover, drugs with anticholinergic properties may interfere particularly with attention and memory processes, although studies reporting conclusions on the specificity of the cognitive effects of TCAs are rare (105). The results of our research showed that expectations concerning the effects on memory of the amitriptyline were confirmed. In fact, in our study the healthy subjects and the untreated migraineurs recalled the most emotional phase of the arousal story significantly better compared to migraineurs treated with the TCA amitriptyline. Then, our data suggest that amitriptyline prevents the enhancing effects of emotional content on memory processes.

Acknowledgements

We thank Dr. Liliانا Ercole for language assistance and Dr. Alessandro Sevi for the excellent narration of the stories he provided.

REFERENCES

1. Cahill L & McGaugh JL Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory, *Trends in Neuroscience*, 1998; 21: 294-299.
2. Tomaz C, Frank JE & Conde C. Integrative function of the amygdala in emotional memory storage. In: Ono, T.; Matsumoto, G.; Llinas, r.R.; Norgren, R.; Nishijo, H.; Tamura, R. (Eds.) *Cognition and Emotion in the Brain*. Elsevier, Amsterdam, 2003 (a); pp. 335-346.
3. Tomaz C, Verbarg MS, Boere V, Pianta TF, Belo M. Evidence of hemispheric specialization in marmosets (*Callithrix penicillata*) using tympanic membrane thermometry, *Braz J Med Biol Res*, 2003 (b); 36: 913-918.
4. Adolphs R, Cahill L, Schul R, Babinsky R. Impaired declarative memory for emotional material following bilateral amygdala damage in humans. *Learn Mem* 1997; 4:291-300.
5. Cahill L & McGaugh JL. A novel demonstration of enhanced memory associated with emotional arousal. *Consciousness and Cognition*. 1995; 4:410-421.
6. Frank JE & Tomaz C. Enhancement of declarative memory associated with emotional content in a Brazilian sample. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33:1483-1489.
7. Hamann S, Cahill L, McGaugh JL, Squire LR. Intact enhancement of declarative memory for emotional material in amnesia. *Learn Mem* 1997; 4:301-309.
8. Mauro R, Sato K, Tucker J. The role of appraisal in human emotions: a cross-cultural study. *Journal of Personality and Social Psychology* 1992, 62:301-317.
9. Hamann SB, Cahill L. Emotional perception and memory in amnesia. *Neuropsychology* 1997; 11:104-113.
10. Frank J & Tomaz C. Lateralized impairment of the emotional enhancement of verbal memory in patients with amygdala-hippocampus lesion. *Brain and Cognition*, 2003, 52: 223-230.
11. Cahill L, Prins B, Weber M, McGaugh JL. Adrenergic activation and memory for emotional events. *Nature* 1994; 307:702-704.
12. Burke A, Heuer F & Reisberg D. Remembering emotional events. *Mem Cogn* 1992; 20:277-290.
13. Cahill L. Sex-related influences on the neurobiology of emotionally influenced memory. *Ann NY Acad Sci*, 2003, 985: 163-173.
14. Cahill, L, Haier, R., White, N, Fallon, J, Kilpatrick, L, Lawrence, C, Potkin, S & Alkire, M. Sex-related difference in amygdala activity during emotionally influenced memory storage. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2001, 75: 1-9.
15. Cahill, L., Uncapher, M. Kilpatrick, L., Alkire, M. & Turner, J. Sex-Related Hemispheric Lateralization of Amygdala Function in Emotionally-Influenced Memory: An fMRI Investigation. *Learn and Mem*, 2004, 11:261-6.
16. Canli T, Desmond J, Zhao Z & Gabrieli J. Sex differences in the neural basis of emotional memories. *Proceedings of the National Academy of Science*, 2002, 99: 10789-10794.
17. McGaugh, J.L. Memory—a century of consolidation. *Science*, 2000, 287:248-251.
18. Kilpatrick, L. & Cahill, L. Amygdala modulation of parahippocampal and frontal regions during emotionally influenced memory storage. *Neuroimage*,

- 2003, 20: 2091-2099.
19. Codispoti, M., Bradley, M. M., & Lang, P. J. Affective reactions to briefly presented pictures. *Psychophysiology*, 2001, 38: 474-478.
 20. Bernat, E., Bunce, S., & Shevrin, H. Event-related brain potentials differentiate positive and negative mood adjectives during both supraliminal and subliminal visual processing. *International Journal of Psychophysiology*, 2001, 42: 11-34.
 21. Polich, J. Overview of P3a and P3b. In J. Polich (ed.), *Detection of change: Event-related potential and fMRI findings*. Boston: Kluwer Academic Press, 2003: pp.83-98.
 22. Keil, A., Bradley, M. M., Hauk, O., Rockstroh, B., Elbert, T., Lang, P. J. Large-scale neural correlates of affective picture processing. *Psychophysiology*, 2002, 39: 641-649.
 23. Schupp, H. T., Cuthbert, B. N., Bradley, M. M., Cacioppo, J. T., Ito, T., & Lang, P. J. Affective picture processing: The late positive potential is modulated by motivational relevance. *Psychophysiology*, 2000, 37: 257-261.
 24. Polich, J. & Kok, A. Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review. *Biol Psychol.* 1995, 41: 103-46.
 25. Hill, S. & Shen, S. Neurodevelopmental patterns of visual P3b in association with familial risk for alcohol dependence and childhood diagnosis. *Biological Psychiatry*, 2002, 51: 621-631.
 26. Palomba D, Angrilli A, & Mini A. Visual evoked potentials, heart rate responses and memory to emotional picture stimuli. *International Journal of Psychophysiology*, 1997, 27: 55-67.
 27. Radilová J. The late positive components of visual evoked responses sensitive to emotional factors. *Activitas Nervosa Superior, Supplement*, 1982, 3:334.
 28. Radilová J, Figar S, & Radil T. Sexual arousal and visual perception. *Activitas Nervosa Superior*, 1983 25: 168-170.
 29. Radilová J, Figar S, & Radil T. (1984) Emotional states influence the visual evoked potentials. *Activitas Nervosa Superior*, 1984, 26: 159-160.
 30. Johnston, V. & Wang, X. The relationship between menstrual phase and the P3 component of ERPs. *Psychophysiology*, 1991, 28: 400-409.
 31. Cuthbert, B., Schupp, H., Bradley, M., Birbaumer, N. & Lang, P. Brain potentials in affective picture processing: covariation with autonomic arousal and affective report. *Biological Psychology*, 2000, 52: 95-111.
 32. Dolcos, F. & Cabeza, R. Event-related potentials of emotional memory: Encoding pleasant, unpleasant, and neutral pictures. *Cognitive, Affective, and Behavioral Neuroscience*, 2002, 2: 252-263.
 33. Vanderploeg RD, Brown WS, & Marsh JT. Judgments of emotion in words and pictures: ERP correlates. *International Journal of Psychophysiology*, 1987, 5: 193-205.
 34. Laurian S, Bader M, Lanares J, & Oros. Topography of event-related potentials elicited by visual emotional stimuli. *International Journal of Psychophysiology*, 1991, 10: 231-238.
 35. Mueller, M, Keil, A., Gruber, T. & Elbert, T. Processing of affective pictures modulates right-hemispheric gamma band activity. *Clinical Neurophysiology*, 1999, 110: 1913-1920.
 36. Heuer F. & Reisberg D. Vivid memories of emotional events: the accuracy of remembered minutiae. *Mem Cogn* 1990; 18:496-506.
 37. Lezak MD. *Neuropsychological Assessment*. 3rd edn. Oxford University Press, New York 1995
 38. Soltani, M & Knight, R.T. Neural origins of the P300. *Critical Reviews in Neurobiology*, 2000, 14: 199-224.
 39. Sutton, S & Davidson, R. Prefrontal brain electrical asymmetry predicts the evaluation of affective stimuli. *Neuropsychologia*, 2000, 38: 1723-1733.
 40. Tomarken, A & Davidson, R. Frontal brain activation in repressors and nonrepressors. *Journal of Abnormal Psychology*, 1994, 103: 339-349.
 41. Kline, J., Allen, J., & Schwartz, G. Is left frontal brain activation in defensiveness gender specific? *Journal of Abnormal Psychology*, 1998, 107: 149-153.
 42. Kline, J., Blackhart, G. & Schwartz, G. (1999). Gender specificity of resting anterior electroencephalographic asymmetry and defensiveness in the elderly. *The Journal of Gender-Specific Medicine*, 1999, 2: 35-39.
 43. Blackhart, G, Kline, J., Donohue, K., LaRowe, S., & Joiner, T. Affective responses to EEG preparation and their link to resting anterior EEG asymmetry. *Personality and Individual Differences*, 2002, 32: 167-174.
 44. Schirmer, A. & Kotz, S. ERP evidence for a sex-specific stroop effect in emotional speech. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 2003, 15: 1135-1148.
 45. George MS, Ketter TA, Parekh PI, et al. Gender differences in regional cerebral blood flow during transient self-induced sadness or happiness. *Biological Psychiatry*, 1996, 40: 859-871.
 46. Killgore WD, Oki M, & Yurgelun-Todd DA Sex-specific developmental changes in amygdala responses to affective faces. *Neuroreport*, 2001a, 12: 427-433.
 47. Killgore WD, & Yurgelun-Todd DA. Sex differences in amygdala activation during the perception of facial affect, *Neuroreport*, 2001b, 12: 2543-2547.

48. Baumann, S., Rogers, R., Guinto, F. Gender differences in source location for the N100 auditory evoked magnetic field. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 1991, 80: 53-59.
49. Reite M, Sheeder J, & Teale P. MEG based brain laterality: sex differences in normal adults. *Neuropsychologia*, 1995, 33: 1607-1616.
50. Salmelin R, Schnitzler A, Parkkonen L, et al. Native language, gender, and functional organization of the auditory cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96: 10460-10465
51. Shaywitz BA, Shaywitz SE, & Pugh KR Sex differences in the functional organization of the brain for language. *Nature*, 1995, 373: 607-609
52. Pugh K.R., Shaywitz B.A., & Shaywitz S.E. Cerebral organization of component processes in reading. *Brain*, 1996, 119: 1221-1238.
53. Speck O, Ernst T, Braun J, et al. Gender differences in the functional organization of the brain for working memory. *Neuroreport*, 2000, 11: 2581-2585.
54. Cowan RL, Frederick BB, Rayney M, et al. Sex differences in response to red and blue light in human primary visual cortex: a bold fMRI study. *Psychiatry Research*, 2000, 100: 129-138.
55. Eadmeads, J. Migraine: New views on an old theory. *Canadian Journal of Neurological Science*, 1984, 11: 363-364.
56. Lance, J. Current concepts of migraine pathogenesis. *Neurology*, 1993, 43 (Suppl.3): 11-15.
57. Lipton, R. & Stewart, W. Migraine in the United States: A review of epidemiology and health care use. *Neurology*, 1993, 43 (Suppl.3): 6-10.
58. Bartleson, L. Transient and persistent neurological manifestations of migraine. *Stroke*, 1984, 15: 383-386.
59. Ardila, A. & Sanchez, E. Neuropsychological symptoms in the migraine syndrome. *Cephalalgia*, 1988, 8: 67-70.
60. Merskey, H. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. *Pain*, 1986, 25 (Suppl. 3): S1-226.
61. Rose, F. C. Clinical characterisation of migraine. In J. Olesen & L. Edvinson (Eds.) *Basic mechanism of headache*, 1988, pp. 3-8. New York: Elsevier.
62. D'Andrea, G, Nertempi, P., Milone, F. F., Joseph, R. & Cananzi, A. Personality and memory in childhood migraine. *Cephalalgia*, 1989, 9: 25-28.
63. Hooker, W. & Raskin, N. Neuropsychologic alterations in classic and common migraine. *Archives of Neurology*, 1986, 43: 709-712.
64. Koehler, S. & Fennel, E. Learning and memory functioning in migraine headache. *Journal of Clinical and experimental Neuropsychology*, 1991, 13: 60.
65. Puca, F., Antonacci, F., Savarese, M., Covelli, V., Tarascio, G, Bellizi, M., Lamorgese, C., Musmeci, G. & Sorrento, G. memory impairment and painful side: neuropsychological and electrophysiological study of 21 classic migraine sufferers. In C. Rose (Ed), *Migraine: Clinical and research advances*, 1985: pp.1-10. Basel, Switzerland: karger.
66. Zeitlin, C. & Oddy, M. Cognitive impairment in patients with severe migraine. *British Journal of clinical Psychology*, 1984, 23: 27-35.
67. Glover, V. & Sandler, M. Can the vascular and neurogenic theories of migraine finally be reconciled? *Trends in Pharmacological Sciences*, 1989, 10: 1-3.
68. Tfelt-Hansen, P. Migraine-Diagnosis and pathophysiology. *Pharmacology and Toxicology*, 1994, 75 (Suppl. II): 72-75.
69. Cavestri, R., Areghini, M., Longhini, M., Ferrarini, F., Gori, D., Ubbiali, A., Buontempi, L. & Longhini, E. Interictal abnormalities of regional cerebral blood flow in migraine with and without aura. *Minerva medica*, 1995, 86: 257-264.
70. De Benedittis, G, Lorenzetti, A., Sina, C. & Bernasconi, V. Magnetic resonance imaging in migraine and tension type headache. *Headache*, 1995, 35: 264-268.
71. Hirsch, A. Olfaction in migraineurs. *Headache*, 1992, 32: 233-236.
72. Levine, S., Welch, K., Ewing, J., Joseph, R., & D'Andrea, G. Cerebral blood flow asymmetries in headache-free migraineurs. *Stroke*, 1987, 18: 1164-1165.
73. Montagna, P. Magnetic resonance spectroscopy in migraine. *Cephalalgia*, 1995, 15: 323-327.
74. Robbins, L. & Friedman, H. MRI in migraineurs. *Headache*, 1992, 32: 507-508.
75. Schlake, H., Grottemeyer, K., Hofferberth, B., Husstedt, I. & Wiesner, S. Brainstem auditory evoked potentials in migraine – Evidence of increased side differences during the pain-free interval. *Headache*, 1990, 30: 129-132.
76. Tagliati, M., Sabbadini, M., Bernardi, G & Silvestrini, M. Multichannel visual evoked potentials in migraine. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 1995, 96: 1-5.
77. Burkner, E., Hannay, H. & Halsey, J. Neuropsychological functioning and personality characteristics of migrainous and nonmigrainous female college students. *Neuropsychology*, 1989, 3: 61-73.
78. Leijdekkers, M., Passchier, J., Goudswaard, P., Menges, L. & Orlebeke, J. Migraine patients cognitively impaired? *Headache*, 1990, 30: 352-358.
79. Mazzucchi, A., Sinforiani, E., Zinelli, P., Agostinis, C., Granella, F., Miari, A., Manzoni, G. & Parma, M.

- Interhemispheric attentional functioning in classic migraine subjects during paroxysmal and interparoxysmal phases. *Headache*, 1988, 28: 488-493.
80. Jain, S. & Ahuja, G. Unusual transient high and low density CT lesion in migraine: A case report. *Headache*, 1986, 26: 19-21.
 81. Raskin, N. H. *Headache* (2nd ed). 1988. New York: Churchill Livingstone.
 82. Barbui, C. & Hotopf, M. Amitriptyline v. the rest: still the leading antidepressant after 40 years of randomised controlled trials. *British Journal of Psychiatry*, 2001, 178: 129-144.
 83. Blair, J. & Spreen, O. Predicting premorbid IQ: A revision of the national Adult reading test. *The Clinical Neuropsychologist*, 1989, 3: 129-136.
 84. Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia*, 1988, 8 (Suppl.7): 1-96.
 85. Sinforiani, E., Farina, S., Mancuso, A., Manzoni, G. C., Bono, G. & Mazzocchi, A. Analysis of higher nervous functions in migraine and cluster headache. *Funct. Neurol.* 1987, 2: 69-77.
 86. Ai, Q. A neuropsychologic study in migraine patients. *Chung Hua Shen Ching Shen Ko Tsa Chich*, 1992, 25: 92-95.
 87. Messa, G., Libro, G., Giudo, M., Granella, F. & Puca, F. Eemicrania senz'aura e memoria. *Confinia Cephalalgica*, 1996, 2: 61-4.
 88. Le Pira, F., Zappalà, G., Giuffreda, S., Lo Bartolo, M.L., Morana, R. & Lanaia, F. Memory disturbances in migraine with and without aura: a strategy problem? *Cephalalgia*, 2000, 20: 475-8.
 89. Mulder, E.J.C.M., Linssen, W.H.J.P., Passchier, J., Orlebeke, J.F. & de Geus, E.J.C. Interictal and postictal cognitive changes in migraine. *Cephalalgia*, 1999, 19: 557-65.
 90. Bell, B.D., Primeau, M., Sweet J.J. & Lofland, K.R. Neuropsychological Functioning in Migraine Headache, Nonheadache Chronic Pain, and Mild Traumatic Brain Injury patients. 1999, 14: 389-399.
 91. Breslau, N. & Andreski, P. Migraine, personality, and psychiatric comorbidity. *Headache*, 1995, 35: 382-6.
 92. Silberstein, S.D., Lipton, R.B. & Breslau, N. Migraine: association with personality characteristics and psychopathology. *Cephalalgia*, 1995, 15: 358-69.
 93. Guillem, E., Pelissolo, A. & Lepine, J.P. Troubles mentaux et migraine: données épidémiologiques. *Encephale*, 1999, 25: 436-42.
 94. Calandre, E.P., Bembibre, J., Arnedo, M.L. & Becerra, D. Cognitive disturbance and regional cerebral blood flow abnormalities in migraine patients: their relationship with the clinical manifestations of the illness. *Cephalalgia*, 2002, 22: 291-302.
 95. Kuhaida, M.C., Thorn, B.E. & Sides, A. The effect of pain on memory for affective words. Poster session presented in the 15th Annual Scientific Meeting of the American Pain Society, Washington, D.C., 1996.
 96. Kuhaida, M.C. & Thorn, B.E. The effect of pain on memory for affective pain-related words versus pain-unrelated words: a replication study with increased pain stimulus. Poster session presented in the 16th Annual Scientific Meeting of the American Pain Society, New Orleans, L.A., 1997.
 97. Kuhaida, M.C., Thorn, B.E. & Klinger, M.R. The effect of pain on memory for affective words. *Ann. Behav. Med.*, 1998, 20: 1-5.
 98. Kuhaida, M.C., Thorn, B.E., Klinger, M.R. & Rubin, N.J. the effect of headache pain on attention (encoding) and memory (recognition). *Pain*, 2002, 97: 213-221.
 99. Frederiks, J.A.M. transient global amnesia. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 1993, 95: 265-283.
 100. Reinvang, I. & Gjerstad, L. Focal retrograde amnesia associated with vascular headache. *Neuropsychologia*, 1998, 36: 1335-1341.
 101. Hughes, G.R.V. Migraine, memory loss, and "multiple sclerosis". Neurological features of the antiphospholipid (Hughes') syndrome. *Postgrad. Med. J.*, 2003, 79: 81-83.
 102. Post, R. M. & Silberstein, S.D. Shared mechanisms in affective illness, epilepsy, and migraine. *Neurology*, 1994, 44 (Suppl. 7): S37-S47.
 103. van Laar, M.W., Volkerts, E.R., Verbaten, M.N., Trooster, S., van Megen, H.J. & Kenemans, J.L. Differential effects of amitriptyline, nefazodone and paroxetine on performance and brain indices of visual selective attention and working memory. *Psychopharmacology*, 2002, 162: 351-363.
 104. Knegtering, H., Eijck, M. & Huijsman, A. effects of antidepressants on cognitive functioning of elderly patients review. *Drugs Aging*, 1994, 5: 192-9.
 105. Curran, H.V. Antidepressant drugs, cognitive function and human performance. In: Liebermann, H.R. (ed) *Handbook of human performance*. 1992, Academic Press, London, pp. 319-336.

CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE PARVOALBUMINA EN NEURONAS DEL NUCLEO ACCUMBENS EN RATAS TOLERANTES A LA METADONA.

Andrés Alberto Quintero V*; Adriana Medina M.**; Mauricio Palacios G.***;
Oscar Gutiérrez M. ****

RESUMEN

Los fenómenos de tolerancia a opioides se han relacionado con modificaciones de los receptores y sus funciones en las estructuras mesolímbicas, entre ellas el Núcleo Accumbens. Este núcleo se ha vinculado directamente con la regulación opioide del dolor, por lo cual una sobreestimulación con metadona podría generar tolerancia al efecto analgésico y cambios en este núcleo. Utilizando técnicas de inmunohistoquímica se evaluó la expresión de la parvoalbúmina en las neuronas (un marcador de la homeostasis del calcio intracelular) del Núcleo Accumbens, encontrándose que existe una mayor expresión de esta proteína en animales expuestos a metadona con respecto al control, que correlacionaba con las pruebas de tolerancia analgésica. Estos hallazgos sugieren una acción de entrada de calcio, posiblemente relacionada con fenómenos de "up regulation" de los receptores NMDA en este núcleo, lo cual puede ser uno de los mecanismos plásticos de tolerancia analgésica con opioides.

Abstract

Opioid tolerance phenomena have been related to changes in receptors and their functions in mesolimbic structures, among them, the Nucleus Accumbens. This nucleus has been directly related with opioid pain regulation; therefore a methadone overstimulation could generate changes in it, and tolerance to the analgesic effect. Using immuno-histochemical techniques, the parvoalbumine expression of the Nucleus Accumbens neurons was evaluated (an intracellular calcium homeostasis marker); a greater expression of this protein was found in animals exposed to methadone than in control ones, directly correlating to the analgesic tolerance tests. These findings suggest a calcium entry action, possibly related to "Up regulation" phenomena of the NMDA receptors in this nucleus, which could be one of the plastic mechanisms of analgesic tolerance to opioids.

INTRODUCCION

Los medicamentos opioides son las sustancias más usadas para manejar dolor severo (1, 2) pero tienen la característica de generar tolerancia, pierden su potencia analgésica cuando son usados a la misma dosis durante periodos prolongados de tiempo (3). Se han descrito cambios asociados al comportamiento de los receptores opioides y cambios en la función de otros receptores no opioides como el receptor para glutamato NMDA durante las etapas de tolerancia (4). Cuando un agonista opioide es administrado de forma continua, su efecto analgésico disminuye con el tiempo y se recupera al aumentar la dosis del medicamento.

Los fármacos opioides actúan en los receptores de péptidos opioides endógenos, principalmente los receptores μ y κ (5). El receptor μ pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G, y se han descrito diversos subtipos de proteínas del tipo Gi/Go asociadas a él. Entre sus acciones está la inhibición de la Adenilato Ciclasa, disminución de AMPc y secundariamente la Protein Kinasa A (PKA) (6). Los receptores opioides inducen la activación de Guanilil Ciclasa y la producción de GMPC, el cual está encargado de activar la Protein Kinasa C (PKC). Se ha descrito un aumento en la conductancia al potasio por apertura de canales de K⁺ inducida por la acción de los agonistas opioides y una disminución en la conductancia al Ca⁺⁺ al inhibir los canales de calcio dependientes de voltaje (4).

Los fármacos opioides pueden inducir analgesia activando los receptores opioides que se encuentran asociados a la primera y segunda neurona nociceptiva en las láminas I, II y V de Rexed en la médula espinal, disminuyendo la liberación de neurotransmisores excitatorios como glutamato y sustancia P, al mismo tiempo

*Odontólogo. Candidato a MSc en Farmacología- Universidad del Valle.

**MD., Candidata a PhD en Ciencias Básicas, Centro de Estudios Cerebrales, Universidad del Valle.

***MD., MSc en Farmacología. Docente de Farmacología, Centro de Estudios Cerebrales, Universidad del Valle.

****MD., MSc en Farmacología. Docente de Farmacología. Universidad del Valle.

que inducen cierto grado de hiperpolarización neuronal por el aumento en la conductancia del potasio (4,11).

Además de la regulación medular, los receptores opioides se encuentran en diversas estructuras límbicas como la corteza del cíngulo, la amígdala, el hipocampo y en los núcleos hipotalámicos. Estas áreas constituyen circuitos emocionales que influyen directamente la percepción del dolor, y su participación media en gran medida el efecto analgésico de los fármacos opioides.

El Núcleo Accumbens se localiza en la región ventral del núcleo caudado, y su citoarquitectura está constituida principalmente por neuronas multipolares medianas y grandes. En los mamíferos no primates, el 90% de estas neuronas son neuronas espinosas medianas, las cuales son neuronas GABAérgicas de proyección, y el 10% son interneuronas; de estas la mayoría son interneuronas GABAérgicas, y las restantes son neuronas colinérgicas, las cuales constituyen alrededor del 1% del total de las células del núcleo (10,14).

En los últimos años se ha descrito un papel importante de los opioides en la regulación del dolor relacionada con la actividad del núcleo accumbens. En roedores, las microinyecciones de morfina en el Núcleo Accumbens revirtieron la sensación de dolor causada por la inyección plantar de capsaicina (cita). Estudios inmunohistoquímicos han mostrado una gran presencia tanto de receptores opioides como neuronas productoras de péptidos opioides en el núcleo accumbens, dando esto un sustrato biológico para la acción analgésica de los medicamentos opioides en esta área (7,8,15).

Existen diversos cambios en los receptores opioides y no opioides y en su señal de transducción asociados a los periodos de tolerancia a los medicamentos opioides.

Como se ha descrito anteriormente, los receptores opioides, vía una proteína G tipo Gi/Go, poseen la capacidad de inhibir la Adenil Ciclasa, disminuyendo los niveles de AMPc; pero durante los periodos de tolerancia se ha demostrado que la Adenil Ciclasa es activada por el receptor. Como consecuencia se observa un aumento en los niveles de AMPc y una posterior activación de la PKA. Tanto la PKA y la PKC activan una enzima GRK (G-coupled Receptor Kinase) que se encarga de fosforilar al receptor opioide, induciendo que éste se desensibilice. Una vez el receptor está fosforilado y desensibilizado, es blanco para una proteína citoplasmática, arrestina, la cual se ancla al receptor y va a inducir su posterior endocitosis (11).

Al tiempo se observa un aumento en la expresión en membrana de los receptores para glutamato NMDA, además de una sensibilización de estos receptores.

Los receptores NMDA son canales para iones de calcio, sodio y potasio. El aumento en el número de receptores aumenta también la cantidad de calcio que entra a la célula. Este estudio pretende evaluar la expresión de la proteína atrapadora de calcio parvoalbúmina en el núcleo accumbens, durante el periodo de tolerancia a los opioides.

MATERIALES Y METODOS

Modelo de tolerancia a la Metadona. Se determinaron dos grupos de 7 ratas Sprague Dawley® con peso entre 150 y 250 g de peso, los cuales se mantuvieron en las siguientes condiciones: ciclos de luz /oscuridad de 12 horas, temperatura ambiental de 27°C, con agua y alimento (Kanina de Purina) ad libitum. Al primer grupo, se le administró una dosis de 9 mg/Kg/día de metadona vía oral durante 9 días; al segundo grupo se le administró un volumen de 0.3mL de NaCl 0.9%. Después de 30 minutos de la administración del fármaco, los dos grupos de animales fueron sometidos a la prueba nociceptiva de Hot Plate.

Hot Plate. Se precalentó el dispositivo a una temperatura de 55.0°C. Se determinó el tiempo de tolerancia al estímulo calórico, retirando el animal al mostrar alguna expresión de dolor (lamerse las patas delanteras, emisión de sonido, alzar una pata cuando esta en posición anatómica). Se examinaron diariamente todos los animales durante 9 días.

Procedimiento de perfusión.

Bajo anestesia general con éter inhalado, los animales fueron perfundidos con 250 cc De solución salina 0.9% y 300 c.c. de fijador PLP (paraformaldehído - lisina-periodato a pH 4.4). Se extrajeron los cerebros y se fijaron durante 48 horas en PLP a un volumen 10:1 del volumen del espécimen.

Procedimiento de inmunohistoquímica.

Los cerebros fijados fueron montados para cortarlos en secciones coronales de 50µm en un vibrátomo Lancer®. Las secciones seleccionadas corresponden a las coordenadas bregma anterior + 1.7 mm del atlas estereotáxico de Paxinos.

Las secciones obtenidas se procesaron flotantes en pozos individuales, donde el procedimiento de inmunohistoquímica se inició con un bloqueo con suero normal en PBS (buffer fosfato salino pH 7,5) (anti Horse

normal serum, anti mouse ABC kit, PK-6102 Vector laboratories) durante 40 minutos. Posteriormente se incubó con el anticuerpo primario anti -parvoalbúmina en una dilución 1: 5000 en PBS (anti - parvoalbumin, Sigma-Aldrich) por una hora. Después de lavar las secciones tres veces por cinco minutos con PBS, se agregó el anticuerpo secundario biotinilado (anti mouse IgG, anti mouse ABC kit, PK-6102 Vector laboratories) y se incubó por 40 minutos. Después de lavar nuevamente con PBS, se agregó avidina (A + B reagent anti mouse ABC kit, PK-6102 Vector laboratories). Luego de 40 minutos se lavó de nuevo con PBS y se reveló con diaminobenzidina - nickel (DAB brown, sk - 4100, Vector laboratories).

Las secciones procesadas se montaron en placas de vidrio preparadas con solución cromoaluminio; se dejaron secar por 24 horas y se cubrieron con cubreobjetos fijados con Permunt®.

Procedimiento de microscopía y microfotografía.

Las placas obtenidas fueron analizadas directamente por microscopía de luz para su análisis cualitativo y luego fotografiadas digitalmente para facilitar el conteo celular. Los resultados del conteo fueron analizados estadísticamente utilizando GraphPad Prims 3.0 utilizando un análisis t-student.

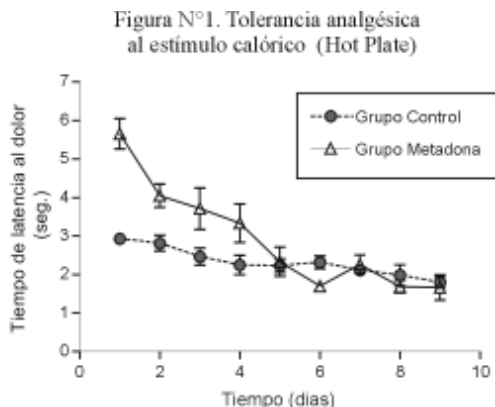
Comité de Ética

EL proyecto fue presentado y aprobado por el Comité de Ética en experimentación animal de la Facultad de Salud, de la Universidad del Valle.

RESULTADOS.

Prueba del Hot Plate

Después de 9 días de tratamiento farmacológico, el efecto analgésico evaluado en la prueba del Hot Plate mostró que el grupo con metadona disminuyó su tolerancia al dolor, hasta ser similar al control a partir del 5° día de tratamiento (Figura N°1).



Distribución de la inmunoreactividad a parvoalbúmina en el Núcleo Accumbens.

En los sujetos control, las células positivas para parvoalbúmina en el Núcleo Accumbens son neuronas multipolares medianas, con cuatro a seis troncos dendríticos de aspecto varicoso. Con esta morfología, sumada a la característica de ser positivas para parvoalbúmina sugiere que se trata de células GABAérgicas, y probablemente interneuronas (Foto N°1). Estas células reciben una poderosa aferencia glutamatérgica proveniente de la corteza cerebral.

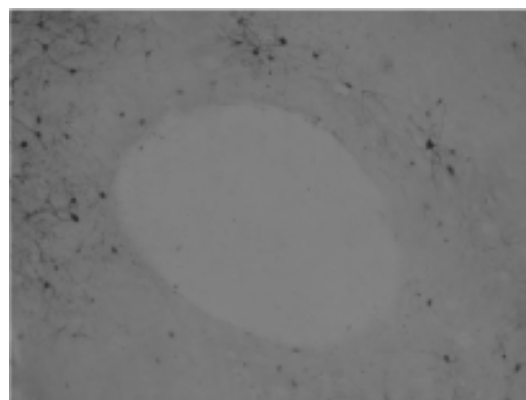


Foto N°1. Neuronas del núcleo Accumbens marcadas con parvoalbúmina, grupo control.

En los sujetos tolerantes a metadona, hay un incremento significativo del número de células marcadas para parvoalbúmina. Los árboles dendríticos de las neuronas positivas en los sujetos tolerantes son de mayor diámetro, y la extensión de las dendritas marcadas es mayor en estos casos (Foto 2).

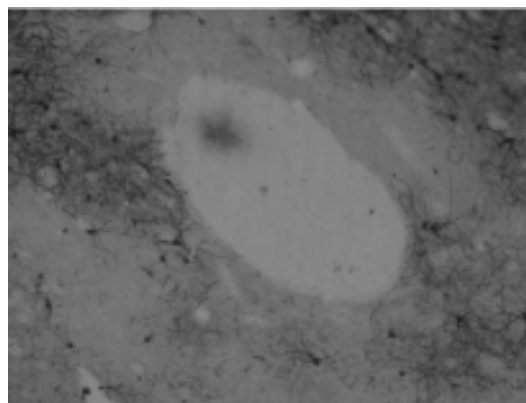


Foto N°2. Neuronas del núcleo Accumbens marcadas con parvoalbúmina, grupo con tolerancia a la metadona.

Al comparar el conteo de células en el Núcleo Accumbens, se encontró que la marcación para parvoalbúmina en las ratas control fue de 22.4 ± 3.39 células/4800 μ^2 , mientras que en los animales tratados con metadona se halló 28.89 ± 5.81 células/4800 μ^2 ($p < 0.001$), lo que significa que la expresión de esta proteína aumentó con la estimulación opioide.

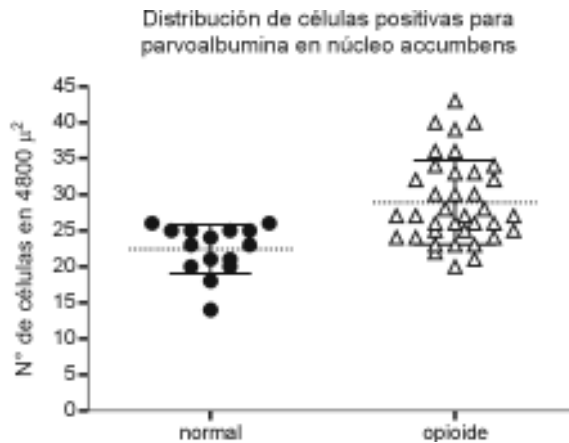


Gráfico 2. Comparación en el conteo de neuronas que expresan parvoalbúmina en el Núcleo Accumbens en los dos grupos

DISCUSION

El uso prolongado y repetido de agonistas totales opioides ha mostrado generar tolerancia al efecto analgésico de estos medicamentos. Gracias a la prueba del Hot Plate se pudo observar como el uso de un agonista total como la metadona en ratas generó tolerancia. La eficacia analgésica del medicamento varió del tal forma que al quinto día el grupo al cual se le administraba la metadona no tuvo una diferencia significativa con el grupo control respecto al tiempo de respuesta al estímulo nociceptivo generado por el Hot Plate (gráfico 1). Estos resultados están de acuerdo con otros autores que mostraron la aparición de tolerancia a la morfina al quinto día de uso en un modelo en ratas de inserción quirúrgica subcutánea de tabletas de morfina (12).

El Núcleo Accumbens es una estructura que recibe aferencias de neuronas glutamatérgicas de diferentes áreas corticales y estructuras límbicas como el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal (14). En condiciones normales el Núcleo Accumbens posee una densidad moderada de receptores para glutamato del tipo NMDA. Estos receptores son canales iónicos permeables a calcio, y se ha demostrado que median fenómenos de plasticidad sináptica del tipo LTP y LTD fundamentales

en la actividad sináptica corticoestriatal. Se ha descrito una co-localización de los receptores NMDA con receptores opioides principalmente en axones, dendritas y terminales de las neuronas del Núcleo Accumbens (14,15,18). y una relación estrecha entre las funciones de estos dos sistemas de neurotransmisores. Estudios de comportamiento han mostrado que los receptores NMDA están involucrados en los procesos de tolerancia y dependencia generados por los fármacos opioides (17). Los receptores opioides regulan de forma presináptica y postsináptica la generación de potenciales postsinápticos excitatorios asociados a la función de los receptores NMDA (14)

En casos de tolerancia a fármacos opioides se ha descrito un Down-regulation de los receptores opioides y un Up-regulation de los receptores NMDA (17). Al verse aumentado el número de receptores NMDA los niveles de calcio que entran a la neurona vía este canal de iones se verán proporcionalmente aumentados. La neurona para realizar una homeostasis del calcio ejecuta cambios en sus proteínas atrapadoras de calcio como la parvoalbúmina.

Con los resultados obtenidos se puede sugerir que la estimulación de manera sostenida de los receptores opioides, induce una actividad de los receptores NMDA, que lleva a una entrada de calcio en las neuronas del Núcleo Accumbens. Estos hallazgos pueden relacionarse con los fenómenos de tolerancia analgésica observados. Aunque existen otros cambios plásticos asociados a la disminución del efecto analgésico, se podría proponer al Núcleo Accumbens como una de las regiones funcionales para plantear la búsqueda de mecanismos que disminuyan o eviten la pérdida analgésica de los medicamentos opioides.

Agradecimientos:

Este proyecto contó con la colaboración de Colciencias quien patrocinó al Dr. Andrés A. Quintero, por medio del programa "Jóvenes Investigadores". Al "Centro de Estudios Cerebrales" dirigido por el Dr. Hernán Pimienta y la Dra. Martha Escobar, por su apoyo logístico en varias de las etapas del presente proyecto.

REFERENCIAS

- 1 Portenoy R K, Lesage P. Management of cancer pain. *Lancet* 1999; 353: 1695–1700
- 2 Ballantyne J C. and Mao J. Opioid Therapy for Chronic Pain. *N Engl J Med* 2003;349:1943-53.
- 3 Chavkin C., McLaughlin J P, Celver J P. Regulation of Opioid Receptor Function by Chronic Agonist Exposure: Constitutive Activity and Desensitization.

- Mol Pharmacol* 60:20–25, 2001
- 4 Quock R M., Burkey T H., Varga E, Hosohata Y, Hosohata K., Cowell S M, Slate C A., Ehler F J., Roeske W R, Yamamura H I. The μ -Opioid Receptor: Molecular Pharmacology, Signal Transduction, and the Determination of Drug Efficacy. *PHARMACOLOGICAL REVIEWS* Vol.51, No.3.503-532
 - 5 Hardman et al, Goodman and Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Mc Graw Hill, novena edición, México 1996.
 - 6 Chakrabarti S, Rivera M, Yan S-z, Tang W-j., Gintzler A R. Chronic Morphine Augments Gbg/Gsa Stimulation of Adenylyl Cyclase: Relevance to Opioid Tolerance. *Molecular Pharmacology*, 54:655–662 (1998).
 - 7 Borsook D, LeBel A., McPeck B. Massachusetts General Hospital tratamiento el dolor. Editorial Marban. España 1999
 - 8 Bolay H, Moskowitz M A. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. *NEUROLOGY* 2002;59(Suppl 2):S2–S7
 - 9 Haber, S. Johnson Gdowsky, M. The Basal Ganglia. In *The Human Nervous System*. Edited by Paxinos G and Mai, J. Elsevier 2004, p. 676-738.
 - 10 Svingos A.L., Moriwaki A, Wang J B, Uhl G R., Pickel V M. Ultrastructural Immunocytochemical localization of m-Opioid Receptors in Rat Nucleus Accumbens: Extrasynaptic Plasmalemmal Distribution and Association with Leu5-Enkephalin. *J. Neurosci.* 1996, 16(13):4162–4173
 - 11 Tso PH, Wong YH. Molecular basis of opioid dependence: role of signal regulation by G-proteins. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2003 May-Jun;30(5-6):307-16.
 - 12 Yabaluri N, Medzihradsky F. Down-regulation of m-Opioid Receptor by Full but Not Partial Agonists Is Independent of G Protein Coupling.
 - 13 Heimer L, Zahm Ds, And Alheid GF. Basal ganglia. In: *The Rat Nervous System*, edited by Paxinos G. San Diego, CA: Academic, 1995, p. 579–628.
 - 14 Mulder Ab, Hodenpjl Mg, And Lopes Da Silva FH. Electrophysiology of the hippocampal and amygdaloid projections to the nucleus accumbens of the rat: convergence, segregation, and interaction of inputs. *J Neurosci* 18: 5095–5102, 1998.
 - 15 Gracy K. N, Svingos A.L., Pickel V M. Dual Ultrastructural Localization of m-Opioid Receptors and NMDA-Type Glutamate Receptors in the Shell of the Rat Nucleus Accumbens. *J Neurosci* 15, 1997, 17(12):4839–4848
 - 16 Marek P, Ben-Eliyahu S, Gold M, Liebeskind JC (1991) Excitatory amino acid antagonists (kynureate acid and MK-801) attenuate the development of morphine tolerance in the rat. *Brain Res* 547:77–81.
 - 17 Trujillo KA (1995) Effects of noncompetitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on opiate tolerance and physical dependence. *Neuropsychopharmacology* 13:301–307.
 - 18 Martin G, Nie Z, Siggins GR (1997) m-Opioid receptors modulate NMDA receptor-mediated responses in nucleus accumbens neurons. *J Neurosci* 17:11–22.
 - 19 M Jianren. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Research Reviews* 30 1999 289–304

LOS GANGLIÓSIDOS Y ALGUNAS VARIANTES DEL SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ

GANGLIOSIDES AND SOME VARIANTS OF THE GUILLAIN-BARRÉ SYNDROME

Blanca Salazar*, Miryam Romero*, Santiago Castaño**

Resumen

Los gangliósidos se encuentran frecuentemente en diferentes porciones del sistema nervioso de los vertebrados. Hay actualmente considerable investigación sobre el papel que los gangliósidos puedan estar jugando en ese sistema, sobre su localización específica y la implicación que puedan tener en la fisiopatología de diversas enfermedades. Las interacciones moleculares, tanto hidrofóbicas como hidrofílicas, les permiten gran movilidad, interacción con diversos ligandos y por lo tanto, participación en múltiples funciones. Entre los diferentes procesos celulares, tanto fisiológicos como fisiopatológicos, en los que se ha encontrado su participación están: la termorregulación, la neuroprotección, la apoptosis, el cáncer, las neuropatías autoinmunes. Actualmente la investigación tanto macroscópica como a nivel celular y molecular de la fisiopatología de las neuropatías autoinmunes ha tenido gran desarrollo y una de las enfermedades bastante estudiada es el Síndrome de Guillain-Barré (GBS), neuropatía inflamatoria aguda de alta incidencia, en la cual el 20% de los pacientes que la padecen quedan severamente incapacitados o fallecen. Se presenta en diversas variantes, con unos niveles específicos de anticuerpos antigangliósidos, una presentación neurohistológica, un cuadro clínico y un pronóstico. Cada uno de estos aspectos se está tratando de precisar actualmente a través de la investigación, para lo cual se hace necesario y es una de las preocupaciones actuales, poder lograr una buena extrapolación, a modelos animales, de las condiciones fisiopatológicas halladas en humanos. Otra de las preocupaciones es la de las técnicas para la localización de gangliósidos *in situ*, pues normalmente se encuentran en estructuras no fácilmente accesibles. Algo en lo que se está haciendo bastante énfasis es en la asociación de los niveles de anticuerpos contra gangliósidos, los hallazgos neurohistológicos y el fenotipo clínico, pues muchas veces dicha asociación no se presenta. En esta revisión se describen algunas de las variantes del GBS, sus características particulares y algo de la investigación que se está haciendo al respecto. Las variantes seleccionadas fueron: el síndrome de Miller-Fisher (SMF), la polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP) (Asbury et al., 1969), las neuropatías precedidas por la infección del *Campylobacter jejuni*, y otras variantes axonales del GBS denominadas neuropatía axonal sensorial (AMSAN) y neuropatía axonal motora aguda (AMAN).

Palabras Clave: gangliósidos, síndrome de Guillain-Barré, neuropatías autoinmunes

Abstract

Gangliosides are often found in diverse portions of the nervous system of vertebrates. There is abundant current research on the role that gangliosides may be playing in that system and on the specific localization and their physiopathological implications in several diseases. The possible interactions, hydrophobic or hydrophilic, between gangliosides and other types of molecules allow great mobility, binding on various ligands and therefore participation in many functions. Among the cellular processes, either physiological or physiopathological, in which gangliosides participate are: thermal regulation, neuroprotection, apoptosis, cancer and immune neuropathies. Presently, both macroscopic and cellular, molecular level research on the physiopathology of autoimmune neuropathies, had marked development, specially in the case of Guillain-Barré Syndrome (GBS). This acute inflammatory disease has high incidence and 20% of patients are severely disabled or die. This illness presents several variants differing in type of antiganglioside antibodies, clinical and neurohistological picture and prognosis. There is current research on each of these aspects, including the finding of animal models with physiopathologies that can be extrapolated to human beings. Another concern are the techniques for recognizing the location of gangliosides *in situ*, on structures that often are not easily accessible. Emphasis is also being made on the association of the antiganglioside antibodies levels with the neurohistological findings and the clinical phenotype. In this Review we describe some of the variants of the GBS, their particular characteristics and some of the topics of current research. The chosen variants are the Miller-Fisher Syndrome (MSF), the acute inflammatory demyelinating polyneuropathy (AIDP), the neuropathies preceded by *Campylobacter jejuni* infection and other variants of GBS called acute motor sensory axonal neuropathy (AMSAN) and acute motor axonal neuropathy (AMAN).

Key words: gangliosides, Guillain-Barré syndrome, autoimmune neuropathies

*Profesoras, Departamento de Ciencias Fisiológicas y Centro de Estudios Cerebrales Facultad de Salud Universidad del Valle

** Estudiante de Doctorado, Centro de Estudios Cerebrales Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Correspondencia:
Blanca C. Salazar C.:
Avda 4ª. Oeste # 10-71 Barrio Santa Rita
Teléfono: 558 3985
Fax: 514 0029
blasalaz@telesat.com.co

INTRODUCCIÓN

Entre las estructuras especializadas que están presentes en forma abundante en las membranas neuronales pre y postsinápticas de los vertebrados están los gangliósidos complejos. Esto ha hecho pensar que estos sialoglicolípidos juegan un papel funcional en la transmisión sináptica, desarrollándose así mucha investigación sobre ellos desde hace aproximadamente 30 años.

La estructura anfipática de los gangliósidos les permite hacer parte de la membrana en la que se distribuyen asimétricamente (Thomas P. and Poznansky M, 1989) y además difundir a través de medios hidroelectrolíticos e hidrofóbicos; les permite además, participar en múltiples funciones a través de la unión a varios ligandos (Bullens *et al*, 2002), como también a algunos microorganismos. Entre las diversas interacciones moleculares de los gangliósidos, una de las importantes en cuanto a mecanismos moleculares es la relacionada con la modulación de proteínas de transporte, de canales iónicos (Salazar *et al*, 2004) y de enzimas.

La participación de estos glicosfingolípidos en procesos celulares está relacionada con la termorregulación, el crecimiento celular y sus alteraciones como en el cáncer, la apoptosis y la neuroprotección entre otros. Toda esta gama de actividades a nivel celular ha sido tema de investigación sobre los gangliósidos, que ha permitido ampliación del conocimiento a nivel de la fisiopatología de las enfermedades y por lo tanto un mayor desarrollo en el diagnóstico, tratamiento o pronóstico de éstas. Dentro de las líneas de investigación, la relacionada con los gangliósidos y las enfermedades autoinmunes, específicamente las neuropatías autoinmunes, ha tenido un gran desarrollo e importancia actualmente. Los mayores avances al respecto son sobre la localización de los gangliósidos en la estructura histológica y la

relación entre los hallazgos serológicos de anticuerpos antigangliósido y el fenotipo clínico. Una de las enfermedades bastante estudiadas en estos aspectos es el Síndrome de Guillain-Barré (GBS) y sus variantes. El GBS es una neuropatía inflamatoria aguda en la que hay parálisis y alteración de los reflejos después de una infección. En Estados Unidos la incidencia de síndrome es de 1–2 por 100,000, 20% de los cuales son pacientes discapacitados o que fallecen 1 año después de iniciarse la enfermedad (Hahn, 1998). En esta neuropatía se han encontrado diferentes anticuerpos contra varios glicosfingolípidos.

Actualmente hay una gran variedad de los anticuerpos antiglicosfingolípidos determinados específicamente para cada una de las variantes de esta enfermedad. Entre las diferentes variantes conocidas está el síndrome de Miller-Fisher (MFS) que se caracteriza por progresar con oftalmoplejia además de presentar la neuropatía en miembros y tener una gran asociación entre los niveles de anticuerpos en sangre y el curso clínico. Otra variante frecuente en Europa y en Norteamérica es la polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP) (Asbury *et al*, 1969). Otras neuropatías más frecuentes en el Oriente son las precedidas por la infección del *Campylobacter jejuni*, y otras variantes axonales del GBS son la neuropatía axonal sensorial y motora aguda (AMSAN) y la neuropatía axonal motora aguda (AMAN). En esta revisión vamos a referirnos a estas presentaciones del síndrome de

Guillain-Barré, describiendo la localización de los gangliósidos, la asociación clínico-serológica y algunos de los cambios que se producen a nivel histológico.

LOS GANGLIÓSIDOS

La química y la biología de los gangliósidos ha sido revisada por varios autores. Estas moléculas son glicosfingolípidos que contienen una porción ceramida y otra oligosacárida en la que hay ácido siálico (Yu and Saito, 1989). La presencia de estos dos grupos en múltiples combinaciones (IUPAC-IUB Commission on Biochem. Nomenclature, 1977; Vennerholm, 1994) hace explicable su gran heterogeneidad y sus propiedades fisicoquímicas complejas puesto que se combinan en una misma estructura grupos hidrofóbicos e hidrofílicos (Wiegandt, 1982).

Los gangliósidos forman micelas en solución acuosa y mezclados en vesículas lipídicas se distribuyen asimétricamente de manera que predominan en la monocapa externa de ellas y de la membrana plasmática (Thomas and Podder, 1982; Thomas and Poznansky,

1989). Los gangliósidos pueden migrar aparentemente por difusión entre membranas plasmáticas sinaptosomales, vesículas y células (Brown *et al*, 1985; Phillips *et al*, 1987). Varios autores han investigado la formación de microdominios enriquecidos con gangliósidos en el plano de la membrana plasmática y en sistemas de lípidos mezclados (Curatolo, 1987; Yuan and Johnston, 2001).

Las características estructurales de los gangliósidos les permiten el poder desarrollar varias funciones en la célula e interactuar con una serie de ligandos. Mediante la porción ceramida pueden participar en funciones de soporte dentro de la membrana como en transducción de información a través de ella (Bradt and Fishman, 1979; Sonnino *et al*, 1985), mientras que mediante la porción oligosacárida puede unirse a una variedad de moléculas, como toxinas (Bullens *et al*, 2002; Sharon and Halina 1993), iones metálicos divalentes (Abrahamson

***et al*, 1972; Sillerud *et al*, 1978; Maselli *et al*, 2003) y anticuerpos (Graham *et al*, 2001; Willison and Yuki, 2002). Además, se ha reportado también que esta porción es utilizada como sitio de fijación de bacterias y de virus.**

Estos glicoesfingolípidos se han encontrado también asociados con neuroprotección ante variaciones de temperatura (Rahmann, *et al*, 1998), con la regulación del crecimiento celular, con la fisiopatología del cáncer (Ravindranath *et al*, 2002, 2003; Perez *et al*, 2004), con la modulación de canales iónicos dependientes de voltaje (Recio-Pinto, *et al*, 1990; Salazar *et al*, 2004; Sergeeva, *et al*, 2004) y no dependientes de voltaje como el canal de sodio de epitelio renal (Spiegel, *et al*, 1986) y con la actividad de algunas enzimas como las ATPasas. Hay mucha investigación sobre estas asociaciones con los gangliósidos, sobre todo aquellas en donde hay aplicación a nivel de diagnóstico, terapéutica o pronóstico como en el cáncer, aplicación en la que ya se habla de glicoinmunoterapia (Ravindranath *et al*, 2002, 2003; Pérez *et al*, 2002) o en neuropatías autoinmunes de las cuales se conocen alrededor de 20 glicolípidos distintos identificados como blanco de anticuerpos (O'Hanlon *et al*, 2002).

Generalidades sobre la relación anticuerpos antigangliósido y neuropatías autoinmunes

Considerables avances han sido hechos en la relación entre los anticuerpos contra glicolípidos y las neuropatías, sobre todo a partir de observaciones clínico-serológicas (Willison and Yuki, 2002). Estos adelantos también se han desarrollado mediante

investigaciones de grandes cohortes de pacientes con neuropatía periférica, en los que se han identificado anticuerpos contra glicolípidos y su asociación con fenotipos clínicos particulares.

Lo más reciente y de gran apogeo en la investigación sobre el papel de los anticuerpos dirigidos contra glicolípidos está relacionado con las neuropatías inflamatorias como el Síndrome de Guillain-Barré (GBS). Los primeros anticuerpos asociados con este síndrome fueron encontrados en 1988 (Ilyas *et al*.). Actualmente se han encontrado anticuerpos a un gran grupo de glicolípidos, tales como: GM1, GM1(NeuGc), GM1b, GalNAc-GM1b, GD1a, GalNAc-GD1a, GD1b, 9-Oacetil, GD1b, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b, GQ1ba, LM1, asociados a GBS y otras neuropatías inflamatorias (Willison and Yuki, 2002). A pesar de estos avances, hay dificultades en extrapolar estos hallazgos serológicos de neuropatías en humanos a modelos animales con los que se podría profundizar más en la investigación. Por otro lado, la fisiopatología ha sido un poco compleja de estudiar puesto que hay gran variabilidad técnica entre las pruebas de laboratorio y más cuando son determinaciones de anticuerpos para diferentes gangliósidos. A esto se suma la influencia de los factores epidemiológicos de los anticuerpos antigangliósido, los cuales también pueden variar según las regiones geográficas, los subtipos de GBS y la infección que lo haya precedido. Otro factor importante que introduce variabilidad es la susceptibilidad del huésped a la respuesta inmune de los glicolípidos determinada genéticamente y por factores ambientales; algunos estudios han tenido en cuenta estos aspectos (Ang *et al*, 1999; Yuki *et al*, 2000). A pesar de esta variabilidad, se han hecho grandes avances en el entendimiento de esta asociación clínico-inmunológica.

Los análisis bioquímicos han sido útiles para identificar la composición de los gangliósidos entre los diferentes nervios; sin embargo, teniendo en cuenta la complejidad de la distribución microanatómica de ellos en el tejido, se han hecho importantes los estudios de unión de ligando, aprovechando la unión gangliósido-toxinas. Este método brinda información más detallada de la distribución de los gangliósidos a nivel celular y subcelular (Simona and Ikonen, 1997).

Como se dijo anteriormente, los gangliósidos desempeñan múltiples funciones, de tal forma que cuando los anticuerpos se unen a ellos no sólo afectan su número y distribución, sino que se alteran sus funciones.

En cuanto a los lugares que se han reportado como blanco de las neuropatías autoinmunes están por un lado,

el ganglio de la raíz dorsal de humano en el que abunda GM1 (O'Hanlon *et al*, 1996, 1998) que no se asocia a neuropatía sensorial, mientras que el GD1b que también predomina en este ganglio, sí está asociado con la clínica de esta neuropatía. Otro lugar de ataque inmunológico son las raíces ventrales de las neuropatías motoras en las que se encuentran anticuerpos contra GD1a y hay buena correlación con el fenotipo clínico (Gong *et al*, 2001). Además de estos lugares, también ha sido reportado el nodo de Ranvier como blanco de estos anticuerpos. El nodo es rico en GM1, GD1b y GQ1b.

En las células de Schwann (Willinson *et al*, 1996) específicamente, se han encontrado anticuerpos contra diasilgangliósidos localizados en la superficie de ellas, produciendo desmielinización. También se ha observado que estos anticuerpos se dirigen contra gangliósidos en los axones llevándolos a degeneración que se expresa como un trastorno de la conducción (Corbo *et al*, 1993; Molander *et al*, 1997).

La unión neuromuscular ha sido otro lugar afectado, como se ha observado en el GBS; con relación a esto, hay que considerar varios factores que hacen este lugar susceptible (Willison and Nobuhiro, 2002): es un lugar de fácil acceso a anticuerpos circulantes, rico en gangliósidos como el GM1, GQ1b y el GD1a y a donde se unen toxinas bacterianas (cólera, tétanos y botulínica) que usan gangliósidos para dicha unión (Willinson and Kennedy, 1993).

ALGUNAS VARIANTES DEL SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ

El síndrome de Guillain-Barré es una neuropatía aguda que transcurre con parálisis simétrica flácida y arreflexia de rápida evolución, de 3 a 4 semanas después de una infección. Fue descrito por Guillain-Barré y Strohl en 1919. En esta enfermedad se generan anticuerpos antiglicolípidos cuyas moléculas blanco se encontraron por primera vez en 1988 (Ilyas *et al*, 1988b). Estos anticuerpos se producen sobre todo en la fase aguda, pueden ser tipo IgG o IgM y tendrán peso en la patogénesis dependiendo de la asociación de sus niveles con el fenotipo clínico. Hay otros factores patogénicos también importantes como las células T y la respuesta a otros anticuerpos (Pestronk *et al*, 1998). El pronóstico y la recuperación dependen del daño neuronal; esta última puede ser acelerada por transfusiones de plasma o aplicación de inmunoglobulinas neutralizantes.

No todo paciente con GBS tiene anticuerpos en niveles altos. La asociación mas clara y reproducible entre estos

anticuerpos y el fenotipo clínico se da en una variante del GBS que es el síndrome de Miller-Fisher (SMF) en el cual tales anticuerpos son dirigidos contra GQ1b y GT1a. Este síndrome ha sido clasificado según el grado de desmielinización y el daño axonal que puedan estar presentes. La variante mas frecuente en Europa y Norteamérica es la polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP) (Asbury *et al*, 1969), en la que predomina la desmielinización y en casos severos puede acompañarse de daño axonal.

Otras neuropatías más frecuentes en el Oriente son las precedidas por la infección del *Campylobacter jejuni*, en las que hay directamente daño axonal sin ser precedida por desmielinización (Feasby *et al*, 1986). Posteriormente se clasificaron otras variantes axonales de GBS denominadas neuropatía axonal sensorial y motora aguda (AMSAN) y neuropatía axonal motora aguda (AMAN).

La degeneración de los axones motores con escasa desmielinización y poca infiltración linfocítica son los hallazgos patológicos en la neuropatía del tipo AMAN. Además, se ha observado IgG y depósito de complemento en las fibras motoras del nodo de Ranvier (Griffin *et al*, 1996b). En AIDP el ataque inmune es sobre todo en las membranas de las células de Schwann y lo que predomina es la desmielinización (Hafer-Macko *et al*, 1996)

Neuropatía axonal motora aguda (AMAN)

Los primeros reportes de anticuerpos anti-GM1 en GBS aparecieron a principios de los años 1990s, mas o menos por el tiempo cuando surgieron los conceptos de GBS que condujeron a las subclasificaciones de AMAN (neuropatía axonal motora aguda) y AIDP (polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda). La literatura alrededor de los anticuerpos anti-GM1 que son encontrados tanto en AMAN y en AIDP es confusa por un gran número de razones.

En primer lugar existe la posibilidad de que los anticuerpos anti-GM1 sean irrelevantes al desarrollo de AMAN o de AIDP y que existan solamente en el suero de GBS como eventos secundarios. En segundo lugar está la posibilidad de que haya subcategorías de anticuerpos anti-GM1 que todavía no han sido completamente dilucidadas. En tercer lugar, el GM1 y los epítopes relacionados pueden estar presentes en ambos tipos de membranas, la del axolema y la de la mielina, en concentraciones variables o en configuraciones que pueden conducir a unión preferencial del anticuerpo bajo circunstancias diferentes en los distintos individuos. Así, algunos individuos pueden ser más susceptibles a daño de la mielina y otros a daño axonal con la exposición a

una subcategoría particular o clase de anticuerpo anti-GM1. Además, esto puede variar en el curso de la enfermedad. Con estas complicaciones en mente, es fácil suponer que una enfermedad que comenzó como AIDP pudiera evolucionar a AMAN con daño axonal secundario. Se puede ver claramente que un gran número de complejidades pueden introducirse de tal manera que pueden confundir estas consideraciones.

En 1990 hubo un reporte de dos pacientes con AMAN después de una enteritis por *Campylobacter jejuni* y en ellos se encontraron títulos altos de IgG anti-GM1 durante la fase aguda de la enfermedad; este hallazgo persistió en otros estudios Yuki *et al.* (1990). Más tarde, en 1991, Walsh *et al.* reportaron el hecho de que 14 casos de los 95 pacientes (15%) con GBS tenían anticuerpos anti-GM1 y que la clase de inmunoglobulina predominante era la IgG mas que la IgM. Estos hallazgos se precisaron más con los análisis electrofisiológicos que mostraron que los anticuerpos anti-GM1 son mas comunes en los grupos de pacientes con daño axonal o con nervios inexcitables (Hadden *et al.*, 1998). De todas formas se está considerando la contribución relativa de los anticuerpos IgG e IgM en estas características clínicas.

Además de los anticuerpos dirigidos contra GM1 descritos antes, Kusunoki *et al.* (1996) encontraron que los anticuerpos contra un monosialosilgangliósido menor GM1b estuvieron presentes en 22 casos de 104 de GBS analizados y que este hallazgo era altamente específico para la enfermedad; esto fue confirmado en otros estudios (Yuki *et al.*, 1997). Por lo demás, se han detectado otros anticuerpos en AMAN como son los IgG anti-GD1a. Esto se pudo ver en un estudio en pacientes chinos con GBS y sus controles, en los cuales el 24% de pacientes con AMAN y ninguno de los pacientes con AIDP o sujetos control tenían títulos altos de anticuerpos IgG anti-GD1a. En este mismo estudio, el anticuerpo anti-GD1a fue el más específico para AMAN entre otros anticuerpos anti-glicolípidos probados (como GM1, GD1b, asialo-GM1 y GQ1b), y en particular indicó que el anticuerpo IgG anti-GD1a fue con el que más se pudo discriminar entre AMAN y AIDP que el anticuerpo anti-GM1 (Ho *et al.*, 1999). En otro estudio, el de Kusunoki *et al.* (1994) se encontró que el GalNAc-GD1a es otra molécula blanco para los anticuerpos séricos en la variante AMAN del GBS, que se detectó en 6 de 50 pacientes (12%), un hallazgo posteriormente confirmado por Yuki *et al.* (1996).

En resumen, se ha demostrado en numerosos estudios que los anticuerpos IgG anti-GM1, anti-GM1b, antiGD1a y anti-GalNAc-GD1a tienen una fuerte asociación con el patrón de AMAN del GBS. En un estudio relativamente

reciente (Ogawara *et al.*, 2000) de 86 pacientes japoneses con GBS se mostró con criterios electrodiagnósticos que el 36% de los pacientes presentaron AIDP y el 38% exhibieron AMAN. Este mismo estudio demostró que los anticuerpos anti-ganliósidos más frecuentes fueron los de la clase IgG y contra GM1 (40%), GD1a (30%) y GalNAc-GD1a (17%) y que todos mostraron una fuerte asociación con AMAN. Por consiguiente, hay relaciones muy definidas entre el fenotipo clínico, el anticuerpo anti-ganliósido y una infección precedente.

Los casos de AMSAN presentan una recuperación más lenta que los de AMAN, además del compromiso de fibras sensoriales, pero lo que sí es claro es que las patologías de ambas enfermedades son muy similares (Feasby *et al.*, 1986; McKhann *et al.*, 1993; Griffin *et al.*, 1996a). Además, ambas condiciones pueden venir después de una enteritis por *Campylobacter jejuni*. Griffin *et al.* (1996a) han propuesto que AMAN y AMSAN son parte del espectro de un solo tipo de ataque inmune del axón. En un estudio hecho para investigar si los anticuerpos IgG anti-ganliósido podrían ser usados como marcadores inmunológicos para diferenciar AMAN de AMSAN, las frecuencias de anticuerpos IgG anti-GM1, anti-GM1b y anti-GD1a fueron similares (Yuki *et al.*, 1999). Estos datos sugieren que AMAN y AMSAN comparten un perfil inmunológico común y apoyan el punto de vista de que ellas forman un solo espectro como proponen Griffin *et al.* (1996a).

Polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP)

Los pacientes con AIDP presentan, al examen clínico, parálisis flácida y arreflexia y usualmente tiene pérdida sensorial ya sea sintomática o al examen físico. Las pruebas electrofisiológicas revelan típicamente, latencias motoras distales aumentadas y ondas F acompañadas por reducciones en la velocidad de conducción además de una dispersión temporal. Por mucho tiempo se consideró que la AIDP era predominantemente un desorden mediado por células T. Este planteamiento se basó en el hecho de encontrar, en muchos casos de biopsia nerviosa, una inflamación linfocítica (Asbury *et al.*, 1969) y una analogía con el modelo animal ampliamente estudiado, el de la neuritis alérgica experimental. La inmunopatología de casos de autopsias bien preservadas sugiere que el daño mediado por anticuerpos puede ser mas importante, al menos en algunos casos, que lo que se había reconocido anteriormente (Hafer-Macko *et al.*, 1996b). En un estudio patológico altamente informativo sobre un paciente que murió a los tres días después del comienzo de los síntomas, la inflamación fue limitada y solamente unas

pocas fibras habían sido completamente desmielinizadas. La tinción para la activación del complemento mostró productos de la activación del complemento en la mayoría de estas fibras que tenían cambios vesiculares tempranos en las capas de mielina, usualmente comenzando en las lamelas más externas de la capa. El cuadro patológico resultante se parecía en forma muy estrecha a la apariencia de condiciones experimentales en las cuales se habían expuesto las fibras nerviosas a anticuerpo antigalactocerebrósido en la presencia de complemento (Saida *et al*, 1979; Saida *et al*, 1979b).

Así, una reconstrucción atractiva basada en esta patología es la de que un anticuerpo dirigido contra antígenos de la superficie más externa de la célula de Schwann se une al complemento resultando en el desarrollo de la formación de un poro transmembrana. Los macrófagos también se reclutan y también participan en la remoción de la mielina dañada. La naturaleza del o de los antígenos en la membrana superficial de la célula de Schwann y dentro de la mielina compacta que pueden estar involucrados en dirigir el ataque inmune a las células de Schwann en la AIDP, permanece incierto y difícil de comprender. Alguna evidencia sugiere que los anticuerpos anti-glicolípidos de la mielina pueden estar involucrados, junto con los anticuerpos contra la proteína de la célula de Schwann o contra los determinantes carbohidratos que están también expresados en la superficie de la célula (Hughes *et al*, 1999).

Síndrome de Miller-Fisher (MFS)

Es una variante del síndrome de Guillain-Barré y como este, es una neuropatía autoinmune, aguda postinfecciosa que frecuentemente sigue a una enteritis por *Campylobacter jejuni*. Se caracteriza por un comienzo agudo de oftalmoplejía, ataxia y arreflexia (Fisher, 1956). La patogénesis se cree que involucra un remedo o mímica molecular entre epítopes siálicos en lipolisacáridos de *C. jejuni* y gangliósidos neurales. Más del 90% de los casos de síndrome de Miller-Fisher tienen anticuerpos séricos antigangliósidos GQ1b y GT1a que pueden también reaccionar con otros gangliósidos disílicos incluyendo GD3 y GD1b (Chiba *et al*, 1993, Yuki *et al*, 1996). Los anticuerpos presentes en la fase aguda de esta enfermedad son IgG de GQ1b (Willison *et al*, 1993b; Carpo *et al*, 1998).

Ha sido reportado el bloqueo pre y post-sináptico de la transmisión neuromuscular por IgG purificado de pacientes con MFS en terminales nerviosos motores de ratón adulto (Buchwald *et al*, 1998), el cual ha sido reversible y mayor a mayor concentración de anticuerpo.

Este podría ser uno de los factores que explica la debilidad muscular en el MFS, la cual se recupera rápidamente después de intercambio de plasma.

Análisis bioquímicos e inmunohistoquímicos de nervios craneales mostraron que los nervios oculomotor, troclear y abducen que inervan los músculos extraoculares, tienen una alta proporción de GQ1b (Chiba *et al*, 1997). Usando microscopía de inmunofluorescencia con análisis de imagen luego de que los anticuerpos anti-GQ1b se ponen en contacto con los terminales nerviosos (O'Hanlon *et al*, 2001), se observa pérdida de neurofilamentos, depleción de vesículas y procesos infiltrantes en las células de Schwann, todo lo cual puede explicar la asociación entre oftalmoplejía y anticuerpos IgG de GQ1b (O'Hanlon *et al*, 2002).

Estudios serológicos y estructurales han mostrado que los núcleos oligosacáridos de lipopolisacáridos de aislados de *C. jejuni* provenientes de casos de GBS y MFS se comportan como los gangliósidos (Yuki *et al*, 1993). Varios aislados de *C. jejuni* de pacientes con neuropatía contienen GT1a y GD3 (Aspinall *et al*, 1994; Salloway *et al*, 1996) que además presentan reacción cruzada con gangliósidos (Yuki *et al*, 1994; Jacobs *et al*, 1995). Esto sugiere que los anticuerpos antigangliósido en post-*C. jejuni* pueden producirse como una imitación molecular.

BIBLIOGRAFÍA

- Agranoff B and Aprison M. (eds.): Advances in Neurochemistry, Volume 4. Plenum Press, New York, 1982.
- Ang C, Yuki N, Jacobs B, Koga M, Van Doorn P, and Scmitz P. Rapidly progressive, predominantly motor Guillain-Barré syndrome with anti-GalNAc-GD1a antibodies. *Neurology* 1999; 53: 2122-2127
- Asbury A, Arnason B and Adams R. The inflammatory lesion in idiopathic polyneuritis: its role in pathogenesis. *Medicine (Baltimore)* 1969; 48: 173-215
- Aspinall G, McDonald A, Pang H, Kurjanczyk L and Penner J. Lipopolysaccharides of *Campylobacter jejuni* serotype O:19: structures of core oligosaccharide regions from the serostrain and two bacterial isolates from patients with the Guillain Barré syndrome. *Biochemistry*. 1994; 33:241-249.
- Brown R, Sugar I and Thompson T. Spontaneous transfer of gangliotetraosylceramide between phospholipid vesicles. *Biochemistry*. 1985;24:4082-4091
- Buchwald B, Weishaupt A, Toyka KV, Dudel J. Pre-and postsynaptic blockade of neuromuscular transmission by Miller-Fisher syndrome IgG at mouse

- motor nerve terminals. *European Journal of Neuroscience*, 1998; 10:281
- Bullens R, O'Hanlon G, Wagner E, Molenaar P, Furukawa K, Furukawa K, Plomp J, and Willison H. Complex gangliosides at the neuromuscular junction are membrane receptors for autoantibodies and botulinum neurotoxin but redundant for normal synaptic function. *Neurosci*. 2002;16:6876-6884
- Carpo M, Pedotti R, Lolli F, Pitrola A, Allaria S, Scarlato G. Clinical correlate and fine specificity of anti-GQ1b antibodies in peripheral neuropathy. *J Neurol. Sci* 1998; 155: 186-191
- Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barré syndrome: clinical and immunohistochemical studies. *Neurology* 1993; 43: 1911-1917.
- Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Ganglioside composition of the human cranial nerves, with specific reference to pathophysiology of Miller Fisher syndrome. *Brain Res* 1997; 745: 32-36.
- Corbo M, Quattrini A, Latov N, Hays A. Localization of GM1 and Gal(beta1-3)GalNAc antigenic determinants in peripheral nerve. *Neurology* 1993; 43: 809-814
- Curatolo W. The physical properties of glycolipids. *Biochim. Biophys. Acta* 1987; 906:111-136
- Feasby T, Gilbert J, Brown W, Bolton C, Hahn A, Koopman W. An acute axonal form of Guillain-Barré polyneuropathy. *Brain* 1986; 109: 1115-1126
- Fisher M. An unusual variant of acute idiopathic polyneuritis: syndrome of ophthalmoplegia, ataxia and areflexia. *N Engl J Med* 1956; 255: 57-65
- Griffin J, Li C, Ho T, Tian M, Gao C, Xue P. Pathology of the motor-sensory axonal Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1996a; 39:17-28
- Griffin J, Li C, Macko C, Ho T, Hsieh S-T, Xue P. Early nodal change in the acute motor axonal neuropathy pattern of the Guillain-Barré syndrome. *J Neurocytol* 1996b; 25: 33-51
- Hadden R, Cornblath D, Hughes R, Zielasek J, Hartung H, Toyka K. Electrophysiological classification of Guillain-Barré syndrome: clinical associations and outcome. *Ann Neurol* 1998; 44: 780
- Hafer-Macko C, Sheikh K, Li C, Ho T, Cornblath D, McKhann G. Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 1996; 39: 625-635
- Hahn A. Guillain-Barre syndrome. *Lancet*. 1998; 352:635-641.
- Hakomori S. Glycosphingolipids. *Scientific American*. 1986; 254:32
- Ho T, Willison H, Nachamkin I, Li C, Veitch J, Ung H. Anti-GD1a antibody is associated with axonal but not demyelinating forms of Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1999; 45: 168-173
- Hughes R, Hadden R, Gregson N and Smith K. Pathogenesis of Guillain-Barré syndrome. (Review). *J Neuroimmunol* 1999; 100: 74-97
- Ilyas A, Willison H, Quarles R, Jungalwala F, Cornblath D, and Trapp B. Serum antibodies to gangliosides in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1988; 23: 440-447.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). The nomenclature of lipids. *Eur J Biochem* 1977; 78: 11-21.
- Jacobs B, Endtz H, Van der Meche F, Hazenberg M, Achtereekte H, van Doorn P. Serum anti-GQ1b antibodies recognize surface epitopes on *Campylobacter jejuni* from patients with Miller Fisher syndrome. *Ann. Neurol*. 1995; 37:260-264.
- Kusunoki S, Chiba A, Kon K, Ando S, Arisawa K, Tate A. N-acetylgalactosaminyl GD1a is a target molecule for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1994; 35: 570-576
- Kusunoki S, Iwamori M, Chiba A, Hitoshi S, Arita M, Kanazawa I. GM1b is a new member of antigen for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 1996; 47: 237-242.
- Maselli R, Books W and Dunne V. Effect of Inherited Abnormalities of Calcium Regulation on Human Neuromuscular Transmission. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2003; 998: 18-28
- McKhann G, Cornblath D, Griffin J, Ho T, Li C, Jiang Z. Acute motor axonal neuropathy: a frequent cause of acute flaccid paralysis in China. *Ann neurol* 1993; 33: 333-342.
- Molander M, Berthold C-H, Persson H, Andersson K and Fredman P. Monosialoganglioside (GM1) immunofluorescence in rat spinal roots studied with a monoclonal antibody. *J Neurocytol* 1997; 26: 101-111.
- Ogawara K, Kuwabara S, Mori M, Hattori T, Koga M, Yuki N. Axonal Guillain-Barré syndrome: relation to anti-ganglioside antibodies and *Campylobacter jejuni* infection in Japan. *Ann Neurol* 2000; 48: 624-631.
- O'Hanlon GM, Paterson GJ, Wilson G, Doyle D, McHardie P, Willison HJ. Anti-GM1 ganglioside antibodies clones from autoimmune neuropathy patients show diverse binding patterns in the rodent nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55: 184-195.
- O'Hanlon GM, Paterson GJ, Veitch J, Wilson G, Willison

- HJ. Mapping immunoreactive epitopes in the human peripheral nervous system using human monoclonal anti-GM1 ganglioside antibodies. *Acta neuropathol* (Berl) 1998; 96: 605-616.
- O'Hanlon G, Plomp J, Chakrabarti M, Morrison I, Wagner E, Goodyear C, Yin X, Trapp B, Conner J, Molenaar P, Stewart S, Rowan E and Willison H. Anti-GQ1b ganglioside antibodies mediate complement-dependent destruction of the motor nerve terminal. *Brain* 2001; 124:893-906
- O'Hanlon G, Bullens R, Plomp J, Willison H. Complex gangliosides as autoantibody targets at the neuromuscular junction in Miller Fisher syndrome: a current perspective. *Neurochem Res.* 2002; Aug; 27 (7-8):697-709.
- Perez C, Ravindranath M, Soh D, Gonzales A, Ye W, Morton D. Serum anti-ganglioside IgM antibodies in soft tissue sarcoma: clinical prognostic implications. *Cancer J.* 2002; 8:384-394
- Pestronk A, Choksi R, Yee W, Kornberg AJ, Lopate G and Trotter J. Serum antibodies to heparan sulfate glycosaminoglycans in Guillain-Barré syndrome and other demyelinating polyneuropathies. *J Neurol* 1998; 91: 204-209.
- Phillips M, Johnson W and Rothblat G. Mechanisms and consequences of cellular cholesterol exchange and transfer. *Biochim. Biophys. Acta.* 1987; 906:223-276
- Ravindranath M, Wood T, Soh D, Gonzales A, Muthugounder S, Perez C, Morton D and Bilchik A. Cryosurgical ablation of liver tumors in colon cancer patients increases the serum total ganglioside level and then selectively augments antiganglioside IgM. *Cryobiology* 2002; 45:10-21.
- Ravindranath MH, Hsueh EC, Verma M, Ye W, Morton DL. Serum total ganglioside level correlates with clinical course in melanoma patients after immunotherapy with therapeutic cancer vaccine. *J Immunother* 2003; 26:277-285
- Rahmann H, Jonas U. and Hildebrandt H. Gangliosides in termal adaptations: Towards a Physicochemical Model of Ganglioside Function. *Trends in Glycoscience and Glicotechnology.* 1998; 10:421-437
- Recio-Pinto E, Thornhill D, Duch D, Levinson S. & Urban B. Neuroaminidase treatment modifies the function of electroplax sodium channels in planar lipid bilayers. *Neuron* 1990;5:675-684
- Saida K, Saida T, Brown MJ, Silberberg DH. In vivo demyelination induced by intraneural injection of anti-galactocerebroside serum: a morphologic study. *Am J Pathol* 1979; 95: 99-116.
- Saida T, Saida K, Dorfman SH, Silberberg DH, Sumner AJ, Manning MC, et al. Experimental allergic neuritis induced by sensitization with galactocerebroside. *Science* 1979b; 204: 1103-1106.
- Salazar B, Castaño S, Sanchez J, Romero M. and Recio E. Ganglioside GD1a increases excitability of voltage-dependent sodium channels. *Brain Research* 2004; 1021: 151-158
- Salloway S, Mermel L, Seamans M, Aspinall G, Nam Shin J, Kurjanczyk L and Penner J. Miller Fisher syndrome associated with *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD3. *Infect. Immun.* 1996; 64:2945-2949.
- Sergeeva S, Zapryanova E, Sotnikov O, Deleva D, Filichev A. Analysis of the Effects of Antibodies to Gangliosides on the Electrical Activity of Retzius Neurons in the Leech and on the Functional Activity of Influx Sodium Current Channels. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2004; 34:579-585
- Sharon N and Halina L. Carbohydrates in cell recognition 1993; 268:82-89.
- Sillerud L, Prestegard J, Yu R, Schafer D, and Konigsberg W. Assignments of the I3C NMR spectrum of aqueous ganglioside GMI micelles. *Biochemistry.* 1978; 17:2619-2628
- Simons K and Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. (Review). *Nature* 1997; 387:569-572.
- S Sonnino, Kirschner G, Ghidoni R, Acquotti D and Tettamanti G. Preparation of GMI ganglioside molecular species having homogeneous fatty acid and long chain base moieties *J. Lipid Res.* 1985; 26:248-257
- Spiegel S, Handlers J. & Fishman P. Gangliosides Modulate Sodium Transport in Cultured Toad Kidney Epithelia. *The journal of biological chemistry* 1986; 261:15755-15760.
- Thomas P and Podder S. Reactivity of glycoconjugates in membranes. I. Determination of transbilayer distribution of gangliosides in lipid vesicles by chemical methods. *Biochim Biophys Acta.* 1982 Jun 14;688:453-9
- Thomas P and Poznansky M. Curvature and composition-dependent lipid asymmetry in phosphatidylcholine vesicles containing phosphatidylethanolamine and gangliosides. *Biochim Biophys Acta.* 1989. 978:85-90.
- Thomas P and Brewer G. Gangliosides and Synaptic transmiión. *Biochimica et Biophysica Acta* 1990; 1031:277-289
- Walsh F, Cronin M, Koblar S, Doherty P, Winer J, Leon A. Association between glyconjugate antibodies and *Campylobacter* infection in patients with Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol* 1991; 34: 43-51.
- Willison H and Kennedy P. Gangliosides and bacterial toxins in Guillain-Barré syndrome. (Review). *J Neuroimmunol* 1993; 46: 105-112.

- Willison H, Veitch J, Paterson G, and Kennedy P. Miller Fisher syndrome is associated with serum antibodies to GQ1b ganglioside. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56: 204-206.
- Willison HJ, O'Hanlon Gm, Paterson G, Veitch J, Wilson G, Roberts M. A somatically mutated human antiganglioside IgM antibody that induces experimental neuropathy in mice is encoded by the variable region heavy chain gene, VI-18. *J Clin Invest* 1996; 97: 1155-1164.
- Willison H, and Yuki N. Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. *Brain* 2002; 125: 2591-2625
- Yuan Ch, and Johnston L. Atomic force microscopy studies of ganglioside GM1 domains in Phosphatidylcholine and phosphatidylcholine/cholesterol bilayers. *Biophys J*, 2001; 81: 1059-1069.
- Yuki N, Yoshino H, Sato S, Miyatake T. Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM1 antibodies following *Campylobacter* enteritis. *Neurology* 1990; 40: 1900-1902.
- Yuki N, Taki T, Inagaki F, Kasama T, Takahashi M, Saito K, Handa S, Miyatake T. A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like structure. *J. Exp. Med.* 1993; 178:1771-1775.
- Yuki N, Taki T, Takahashi M, Saito K, Yoshino H, Tai T, Handa S, Miyatake T. Molecular mimicry between GQ1b ganglioside and liposaccharides of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Fisher's syndrome. *Ann. Neurol.* 1994; 36:791-793.
- Yuki N, Taki T, and Handa S. Antibody to GaINAc-GDIa and GaINAc-GMIb in Guillain-Barré syndrome subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. *J Neuroimmunol* 1996; 71:155-61.
- Yuki N, Tagawa Y, Irie F, Hirabayashi Y, Handa S. Close association of Guillain-Barré syndrome with antibodies to minor monosialogangliosides GM1b and GM1alpha. *J Neuroimmunology* 1997; 74:30-4.
- Yuki N, Kuwabara S, Koga M, Hirata K. Acute motor axonal neuropathy and acute motor-sensory axonal neuropathy share a common immunological profile. *J Neurol Sci* 1999; 168:121-6.
- Yuki N, Ang C, Koga M, Jacobs B, van Doorn P, Hirata K. Clinical features and response to treatment in Guillain-Barré syndrome associated with antibodies to GM1b ganglioside. *Ann Neurol* 2000; 47:314-21.
- Yuki N, Odaka M and Hirata K. Acute ophthalmoparesis (without ataxia) associate with anti-GQ1b IgG antibody: clinical features. *Ophthalmology* 2001; 108: 196-200.
- Yu R and Saito M. Neurobiology of glycoconjugates. In R. U. Margolis R. (Eds), Plenum, New York, 1989

EFECTOS DE LA ISQUEMIA FOCAL SOBRE LA INTERACCION GLIA - NEURONA: UN ANALISIS BASADO EN LA EXPRESION DE TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO, LAS CELULAS GLIALES Y LAS INTERNEURONAS CORTICALES

Adriana Medina MD*, Martha I Escobar**

Resumen.

Las células gliales constituyen el mayor contingente celular del sistema nervioso central. En particular, la red astrocítica, conocida como el sincitio glial es un pilar fundamental en la conservación de la homeostasis del tejido neural. Las funciones del sincitio incluyen la recaptura de neurotransmisores en la hendidura sináptica, la preservación de los gradientes iónicos y la tarea de proveer las moléculas utilizadas como fuente energética para la función neuronal.

El presente artículo se enfoca en la relación entre la actividad neuronal y la regulación homeostática dada por las células gliales, especialmente el papel que ejercen estas células en la neurotransmisión glutamatérgica mediante la expresión de transportadores específicos y la influencia de la neurotransmisión gabaérgica en la función glial.

Abstract

Glial cells are the most numerous cellular population in the Central Nervous System. The astrocytic network, known as the glial syncytium is a major feature in the preservation of neural tissue homeostasis. The network function includes neurotransmitter uptake at the synaptic cleft, the maintenance of ionic gradients and the distribution of molecules for energy supply. This article focus on the relationship between neuronal activity and the neural homeostasis conservation by glial cells, specially the role of these cells in excitatory neurotransmission and the influence of gabaergic neurotransmission on glial function.

INTRODUCCIÓN

Durante la década de los 90, el concepto de excitotoxicidad, una forma de lesión neurológica común a varias patologías, se amplió y llegó a una aproximación mas clara de su fisiopatología tras la clonación molecular de las proteínas transportadoras para glutamato, conocidas como transportadores de Aminoácidos Excitatorios (EAATs) ^{1,2}. Hasta entonces era conocido que los neurotransmisores aminoacídicos glutamato y aspartato, considerados como los principales neurotransmisores excitatorios del sistema nervioso central deben mantener un delicado equilibrio en su actividad, pues el exceso de la misma puede generar lesiones irreversibles que llevan a la muerte neuronal. En ese momento se reconocía ya el papel de las células

gliales como las encargadas de remover el glutamato de la hendidura sináptica, limitando su actividad en el tiempo y manteniendo los niveles sinápticos del neurotransmisor dentro de límites normales.

La clonación de los transportadores de glutamato y la descripción de sus características funcionales ha permitido entender en forma clara y precisa los mecanismos de remoción del glutamato sináptico, y se vislumbran así las posibles implicaciones patológicas que podría tener la alteración de los sistemas de transportadores como mecanismo generador de excitotoxicidad^{3,4}.

Para comprender la importancia del transporte glial de glutamato como un pilar de la homeostasis neuronal es necesario entender la profunda y compleja relación que existe entre las neuronas y las células gliales, sin la cual sería imposible la supervivencia del tejido nervioso. Este artículo se centra en esta relación y en la observación del efecto de las alteraciones del transporte glial de glutamato en una patología frecuente, la isquemia cerebral.

*Candidato a doctorado en Ciencias Biomédicas,

** Investigador Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

La Importancia de la Interacción Glial en la actividad neuronal

Los contactos sinápticos están constituidos por tres elementos celulares: la neurona que libera el neurotransmisor, denominada neurona presináptica, la neurona que recibe el neurotransmisor y que posee receptores específicos para este, llamada neurona postsináptica, y un tercer elemento, la célula glial, la cual por medio de sus prolongaciones, denominadas pies astrocíticos envuelve la sinápsis, constituyéndose así cada sinápsis en una especie de micro cámara semiaislada, cuyos límites son la membrana presináptica, la postsináptica y la envoltura glial que la rodea. Esta organización restringe la libre difusión del neurotransmisor en el espacio extracelular, circunscribiendo su actividad a la hendidura sináptica y de esta forma se minimiza la cantidad de ruido en la señal neuronal¹. La envoltura sináptica tiene la capacidad de modular el pH y las concentraciones de iones, manteniendo un gradiente electroquímico óptimo para el funcionamiento de las neuronas, en parte gracias a la capacidad de los astrocitos de funcionar de modo sincitial. Los astrocitos establecen entre ellos una red celular constituida por uniones de tipo GAP, es decir, está dada por la presencia de proteínas con actividad de poros, los cuales permiten la difusión de moléculas pequeñas como iones, glutamato e IP₃². Así, la actividad generada en un astrocito constitutivo de una sinapsis se propaga a la red astrocítica circundante, permitiendo la difusión lejana de la señal. Los estudios de nuestro laboratorio utilizando marcadores gliales en un modelo de isquemia cerebral focal han demostrado que las alteraciones de la expresión inmunohistoquímica de

dichos marcadores en la corteza cerebral sigue un gradiente acorde con la disfunción neuronal, donde las láminas corticales más afectadas presentan mayor alteración glial, mientras que la inmunoreactividad se recupera progresivamente al aproximarse a las láminas menos afectadas (figura 1)

Por otra parte, es conocido que la principal fuente energética del sistema nervioso es el metabolismo de la glucosa, y en este sentido se reconocen dos posibilidades: una, en la cual ciertos grupos neuronales poseen la capacidad de metabolizar completamente la glucosa, y otra, la más frecuente, en la cual la glucosa sanguínea es captada por los pies chupadores de los astrocitos, de manera que estos realizan el paso metabólico de la glucosa a ácido láctico y luego lo transfieren a las neuronas para su utilización como fuente energética³. Existen indicios experimentales de una coordinación entre el ciclo de la neurotransmisión glutamatérgica y la captación glial de glucosa, donde se sugiere que se sigue una estequiometría 1:1⁴. La recaptura del glutamato por la glía es un proceso que depende del cotransporte de sodio y del contratransporte de potasio, y esto debe ser de nuevo contrabalanceado por la bomba Na/K ATPasa, la cual requiere para su funcionamiento de 2 ATP, lo que obliga a la captación y glicólisis inicial de una molécula de glucosa, dejando como residuo una molécula de lactato que pasa entonces a la neurona para ser utilizada como fuente de energía. Este principio puede ser la base de técnicas imagenológicas como la resonancia magnética funcional, en la cual se ve macroscópicamente como la actividad neuronal genera un aumento del metabolismo local del tejido.

El transporte Glial de glutamato como regulador de la homeostasis neuronal

El glutamato es un neurotransmisor excitatorio, y su actividad a través de receptores ionotróficos del tipo NMDA, algunos subtipos de AMPA y de los receptores metabotróficos del tipo mGluR 1 y 5 genera el incremento paroxístico de los niveles de calcio intracelular¹, lo cual en condiciones normales genera la activación de una gran cantidad de señales intracelulares importantes, como la síntesis de óxido nítrico² y la producción de derivados del ácido araquidónico³, y promueve además los procesos de plasticidad neuronal sináptica y estructural mediante la generación de mensajeros retrógrados que median la generación de fenómenos de potenciación a largo plazo (LTP)⁴ y la creación y modificación de espinas dendríticas, generando así el espacio para la aparición y consolidación de nuevas sinapsis (para revisión ver Medina, Escobar 2002⁵).

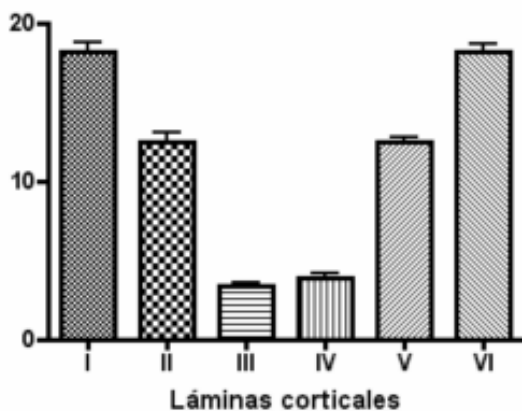


Figura 1. Distribución de la inmunoreactividad para GFAP en la corteza cerebral contralateral a un foco isquémico 72 horas después de la isquemia. Obsérvese el gradiente de distribución en el cual el número de células marcadas es menor en las láminas intermedias, las cuales se consideran las más afectadas, y se normaliza al alejarse hacia las láminas externas.

Para mantener la actividad neuronal dentro de los parámetros normales, los niveles de glutamato sináptico deben permanecer bajo ciertos límites que van desde 0,6 uM en reposo hasta 1uM en el momento de la actividad. El mecanismo de control más importante es la recaptura del glutamato por la glía, la cual se encarga de remover la mayor parte del neurotransmisor, seguido de la recaptura por la neurona y una mínima parte que se difunde por fuera del espacio sináptico¹³.

La recaptura del glutamato es llevada a cabo por una familia de proteínas de membrana denominadas Transportadores De Aminoácidos Excitatorios (Excitatory Aminoacid Transporters, EAAT). Este conjunto de transportadores son estructuralmente distintos a los transportadores para otros neurotransmisores, y los cinco miembros de la familia poseen algunas diferencias entre sí^{6,7}. El siguiente listado resume las características principales de estas proteínas.

- EAAT 1 o GLAST (Glutamate/Aspartate Transporter), es un transportador de localización glial, principalmente en el cerebelo.
- EAAT 2 o GLT 1 (Glutamate Transporter 1), también glial, es el más abundante en el telencéfalo, incluyendo la corteza cerebral, el estriado y el hipocampo, donde lleva a cabo la recaptura de cerca del 95% del glutamato sináptico. Se expresa también en la microglia, y se ha planteado la posibilidad de que la pérdida de la capacidad de estas células para mantener la homeostasis del glutamato como un factor agravante en entidades como la enfermedad de Alzheimer⁸.
- EAAT 3 o EAAC 1 (Excitatory Aminoacid Carrier 1), es de localización neuronal postsináptica, principalmente en la corteza cerebral.
- EAAT 4, transportador neuronal presente en el cerebelo.
- EAAT 5, descrito tanto en neuronas como en células gliales de la retina.

Se ha demostrado que la función de los transportadores está bajo la influencia de los diversos sistemas de neurotransmisores y de otros neuromoduladores, por ejemplo se ha descrito que la recaptura de glutamato aumenta en la presencia de agonistas alfa adrenérgicos, mientras que la activación de beta adrenoreceptores la disminuye ligeramente. Así mismo la estimulación de los

receptores para endotelinas, disminuye en gran proporción la recaptura de glutamato en cultivos de astrocitos⁹. Dado que los diferentes eventos cerebrovasculares, en especial las hemorragias subaracnoideas desencadenan el aumento en la liberación de endotelinas¹⁰, este puede ser un factor que induzca o mantenga la excitotoxicidad característica de estos sucesos.

Los transportadores para glutamato trabajan de acuerdo con gradientes electroquímicos, de manera que el glutamato ingresa a la célula acompañado de 2 o 3 iones Na⁺, y en cambio sale un ion K⁺; además es necesaria la interacción de protones (H⁺), lo cual indica la importancia del pH del medio y de los gradientes iónicos en la conservación de la actividad de los transportadores, por lo que esta puede verse afectada en sucesos que alteren alguno de estos parámetros, como ocurre en la isquemia cerebral.

El comportamiento Glial después de una lesión

Cuando el sistema nervioso central es sometido a diversas formas de injuria, en el foco de la lesión ocurre una modificación patológica en la composición celular del tejido, caracterizada entre otras cosas por un aumento en el número de astrocitos¹.

El fenómeno de proliferación glial, también conocido como gliosis, es una respuesta común a muchas lesiones del sistema nervioso central, incluyendo la isquemia, la epilepsia, el trauma craneoencefálico y raquimedular, la esclerosis lateral amiotrófica² y las enfermedades priónicas³ entre otras, por lo que este hecho ha sido ampliamente documentado. Los astrocitos reactivos presentan un aspecto hipertrófico, con un rápido incremento en la tasa de mitosis que genera una gran proliferación, la cual puede ser observada plenamente 72 horas después de una lesión aguda. Sin embargo, los estudios utilizando técnicas de inmunohistoquímica permiten ampliar la visión acerca de la gliosis reactiva más allá de las descripciones obtenidas con técnicas de histología convencional. El uso de anticuerpos contra la proteína glial fibrilar (GFAP), un componente del citoesqueleto de los astrocitos en el modelo de isquemia focal muestra como 72 horas después de la lesión ocurre notorio incremento del número de astrocitos marcados. Este aumento en el número de células, así como las diferencias morfológicas que presentan los astrocitos reactivos a las 72 horas post lesión puede ser indicativo de una alteración en la expresión de la proteína glial fibrilar, como puede observarse en la figura 2.

El citoesqueleto es un elemento fundamental para la función de cualquier tipo de célula, por lo tanto los cambios en la expresión de GFAP que ocurren después de la lesión pueden ser un indicio de la existencia de diferencias funcionales entre los astrocitos reactivos y los astrocitos normales. Los cambios en la conformación de la red glial, así como la modificación en la disposición de los pies de los astrocitos puede indicar incompatibilidad en su función de conformar la envoltura glial, favoreciendo la pérdida de la homeostasis tisular y perjudicando el proceso de neurotransmisión.

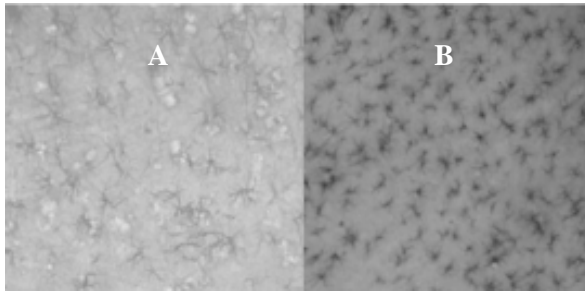


Figura 2. A. Astrocitos normales de la lámina III de la corteza cerebral de rata marcados para GFAP. Se observa un número adecuado de cuerpos celulares con procesos largos y bien definidos. B. Astrocitos de la lámina III de la corteza cerebral 72 horas después de un procedimiento de inducción quirúrgica isquemia cerebral focal. Se advierte un gran incremento en el número de cuerpos celulares marcados para GFAP, además de una notoria diferencia en el aspecto de los procesos astrocíticos, los cuales se ven cortos y pocos definidos. (10X).

Transporte Glial de glutamato en el área lesionada

En los últimos años, las alteraciones en la expresión y función de los transportadores de glutamato ha sido planteada como un pilar fundamental en el desarrollo de muchas entidades agudas y crónicas del sistema nervioso central^{1,2,3}. En el modelo de isquemia cerebral focal la aplicación de anticuerpos contra el transportador glial GLT1 reveló una disminución significativa de la expresión de este en el foco isquémico 24 horas después de la injuria, y permanece por debajo de los niveles normales a las 72 horas⁴, como se muestra en la figura 3, tabla 1. La disminución de la inmunoreactividad para GLT1 resulta aún más impresionante si se tiene en cuenta que en ese mismo periodo de tiempo se genera el proceso de gliosis reactiva, por lo cual la relación entre el número de células marcadas para GFAP y el total de células inmunoreactivas para GLT1 pasa de una proporción normal aproximada de 4:1 a una proporción de 8:1 después de 72 horas de la lesión.

Considerando que el transportador GLT1 se encarga de cerca del 95% de la recaptura de glutamato en la corteza cerebral normal, esta drástica disminución en su inmunoreactividad puede actuar como un factor contribuyente a la perpetuación de la lesión neurológica que conduce a la muerte neuronal necrótica y apoptótica en el foco isquémico.

	Control	24 horas	72 horas
GFAP	46.24±/11.78	1.22±/2.42*	80.20±/24.4*
GLT1	12.7±/1.82	5.9±/1.37*	10.17±/1.62*

Tabla 1. Expresión de GFAP y GLT1 en corteza cerebral de sujetos normales, y en la región del foco isquémico 24 y 72 horas después de la injuria. Datos expresados como promedio ±/ SD.

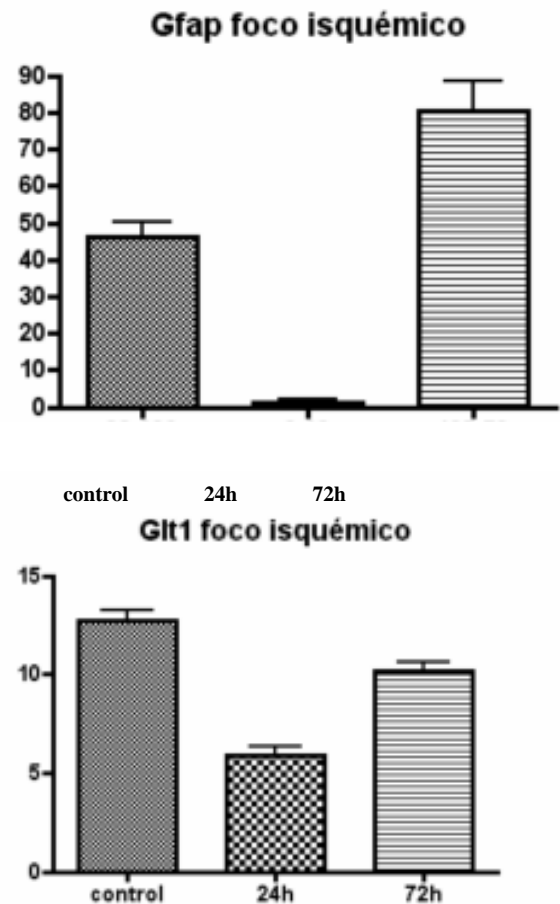


Figura 3. comparación entre la distribución de (A) GFAP y (B) GLT1 en la corteza cerebral normal y en el foco isquémico 24 y 72 horas después de la lesión. Se observa la disminución en la expresión de ambos marcadores a las 24 horas, con un incremento significativo de GFAP a las 72 horas. En ese mismo período GLT1 presenta una recuperación moderada, pero su expresión no alcanza niveles normales y permanece muy por debajo de la expresión de GFAP.

Comportamiento Glial y Transporte de Glutamato En Regiones Exofocales

Como se comentó previamente, la proliferación glial reactiva en el foco de una lesión neurológica es un hecho bien conocido. Sin embargo, el comportamiento de las células gliales en las regiones alejadas del foco pero conectadas sinápticamente con este es materia de interés reciente^{5,6}. Por esta razón, nuestro grupo ha estudiado extensamente el comportamiento de los diferentes tipos neuronales y de las células gliales en la corteza cerebral del hemisferio contralateral a un foco isquémico generado mediante oclusión de la arteria cerebral media^{7,8}. Seleccionamos la lámina III de la corteza cerebral contralateral al foco de la isquemia como ejemplo de alteración neuronal, ya que si bien todas las láminas de la corteza contralateral a la lesión se ven afectadas y presentan diferencias con el control normal, los cambios más radicales se encuentran en las láminas intermedias, y en especial en la lámina III.

Influencia de la conectividad cortical en la distribución de los cambios celulares en isquemia cerebral.

La distribución de los cambios neuronales y gliales de la corteza cerebral después de una injuria sigue un patrón relacionado con las conexiones sinápticas de las diferentes láminas de la corteza.

Las neuronas de la corteza cerebral pueden clasificarse en dos tipos principales: neuronas piramidales y neuronas no piramidales.

Las neuronas piramidales constituyen la mayor parte de los cuerpos neuronales localizados en la neocorteza (alrededor del 70%), y utilizan el glutamato como neurotransmisor. Se caracterizan por poseer un soma triangular, sus dendritas se originan en la base del triángulo (dendritas basales) o en el ápex del mismo (dendrita apical). El axón se proyecta desde la base del triángulo en dirección inferior en relación al cuerpo de la neurona. Estos procesos axonales son largos, y son los únicos axones que abandonan la sustancia gris de la corteza para dirigirse a las estructuras subcorticales, (fibras de proyección) a otras regiones de la corteza en el mismo hemisferio (fibras asociativas) o en el hemisferio contralateral (fibras comisurales)¹. (Figura 4)

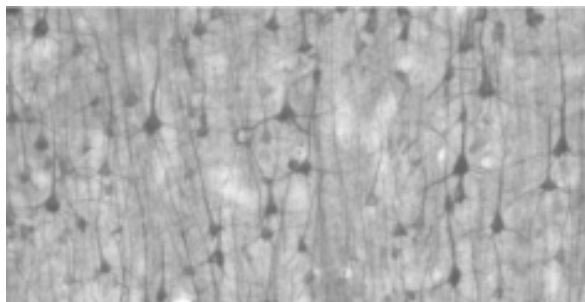


Figura 4. Neuronas piramidales de la corteza cerebral humana marcadas con el anticuerpo anti MAP 2. Obsérvese la forma del soma y la distribución característica de las dendritas. (10X).

Las neuronas no piramidales de la corteza cerebral son de diversa morfología, generalmente bipolares o multipolares, y casi todas utilizan el GABA como neurotransmisor, excepto las células granulares espinosas de la lámina IV que son glutamatérgicas. Las neuronas gabaérgicas de la corteza cerebral poseen una característica funcional que facilita su estudio inmunohistoquímico, y es la capacidad de expresar proteínas atraparoras de calcio citoplasmáticas, a saber parvalbúmina, calbindina y calretinina². En la corteza cerebral, a diferencia de otras estructuras subcorticales, estas proteínas se expresan en forma segregada en diferentes subpoblaciones neuronales, de manera que permiten identificar la localización y el estado funcional de estas poblaciones. La parvalbúmina se expresa primordialmente en las células en cesta y células en candelabro de la corteza cerebral, las cuales se localizan cerca de los cuerpos y conos axonales de las neuronas piramidales respectivamente con los cuales establecen sus contactos sinápticos, y se encuentran en las láminas II a V de la corteza cerebral³. Estas neuronas gabaérgicas positivas para parvalbúmina constituyen el principal circuito inhibitorio intracortical debido a su localización estratégica en relación a las neuronas piramidales excitatorias; además, estas neuronas son el blanco principal de las aferencias comisurales procedentes de la corteza contralateral por la vía del cuerpo calloso, por lo que la excitación glutamatérgica proveniente del hemisferio opuesto es vital para la activación de este sistema inhibitorio⁴.

Las neuronas positivas para calbindina son neuronas no piramidales en su mayoría bipolares y bipenachadas, las cuales generan circuitos inhibitorios intracorticales verticales que afectan las dendritas piramidales y que realizan contactos sinápticos también con otras interneuronas gabaérgicas⁵.

Relación entre el comportamiento neuronal y la función Glial

en la corteza contralateral al foco isquémico.

En el modelo de isquemia cerebral focal por obstrucción de la arteria cerebral media es clara la existencia de cambios en la expresión de las proteínas atrapadoras de calcio parvalbúmina y calbindina en la lámina III de la corteza cerebral a las 24 y 72 horas después de la injuria (figura 5). Para el caso de la parvalbúmina, ocurre un notorio incremento de la inmunoreactividad desde las primeras horas de la injuria. Este cambio puede indicar una respuesta reactiva a un incremento en los niveles de glutamato y al consecuente aumento de los niveles de calcio citoplasmático en estas células. Por otra parte, la inmunoreactividad para calbindina también se ve alterada; inicialmente se presenta una disminución del número de células marcadas, seguido de una modesta recuperación tras la cual los niveles permanecen por debajo de los límites normales. La diferencia entre las respuestas de los dos tipos celulares es probablemente debida a las diferencias en su conectividad. Si bien ambos grupos celulares corresponden a neuronas gabaérgicas, las células parvalbúmina positivas se relacionan primordialmente con los sistemas de proyección glutamatérgicos comisurales, mientras que las células calbindina positivas forman parte de los circuitos inhibitorios intracorticales ipsilaterales, y sus relaciones se establecen principalmente con otras células inhibitorias y con los procesos dendríticos de las neuronas piramidales.

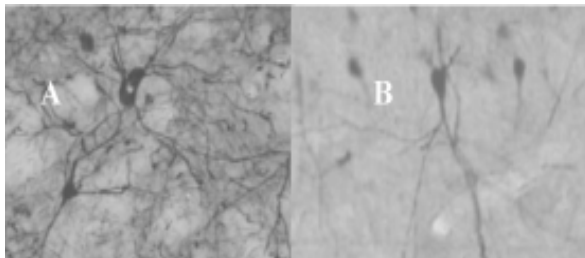


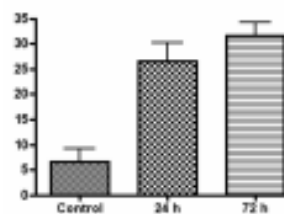
Figura 5.

A. Neuronas positivas para parvalbúmina.
B. Neuronas positivas para calbindina. (40X).

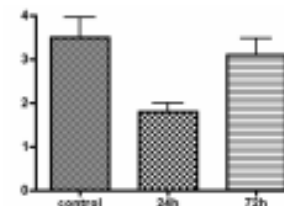
Otros autores han descrito la existencia de una relación directa entre el ambiente gabaérgico y la expresión de proteínas gliales en el telencéfalo¹. Si bien la distribución y densidad de los astrocitos en el sistema nervioso central no varía mucho de una región a otra, (por ejemplo, si se compara la densidad numérica de astrocitos entre dos regiones como el hipocampo e hipotálamo y la

neocorteza y el estriado, la relación es inferior a 2). sin embargo, si se compara el contenido de GFAP, la relación es superior a 10. Estas diferencias parecen estar relacionadas con la señalización gabaérgica en estas zonas, específicamente, con el número de terminales gabaérgicas presentes. Así mismo, en el modelo de isquemia focal, la inmunoreactividad a GFAP (y por lo tanto la función glial) parece estar más afectada en las láminas que sufren la mayor alteración de la función gabaérgica, como por ejemplo la lámina III, la cual pierde en un alto grado la estimulación comisural transcallosa sobre las neuronas en cesta, generando una disminución considerable de la inhibición gabaérgica horizontal de esta lámina y de los sectores adyacentes a ella. En condiciones patológicas, este modelo de interrelación entre las neuronas gabaérgicas y las células gliales se vería severamente afectado, pues se crea un círculo vicioso en el cual la pérdida de la función gabaérgica genera la alteración de la expresión de proteínas gliales tales como GFAP y el transportador GLT1, lo que a su vez disminuye la recaptura de glutamato y afecta la homeostasis de la neurotransmisión excitatoria en el sector comprometido, incrementando la posibilidad de injuria neuronal aún en las áreas que no fueron afectadas directamente por la noxa (Figura 6, tabla 2).

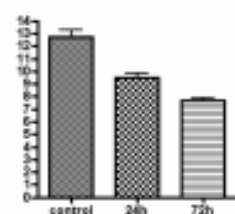
A. Parvalbúmina, lámina III contralateral



B. Calbindina, lámina III contralateral



C. GLT1, lámina III contralateral



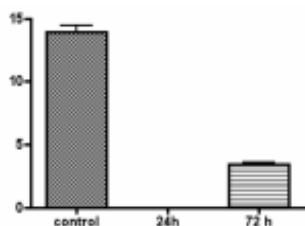
D.GFAP, lámina III contralateral

Figura 6. Distribución de la inmunoreactividad a (A)parvoalbúmina, (B)calbindina, (C)Glt1 y (D)GFAP en la lámina III de la corteza cerebral de rata normal y contralateral a un foco isquémico 24 y 72 horas después de inducir la isquemia. Obsérvese la variación en el número de células marcadas para los cuatro anticuerpos.

Lámina III	control	24h	72h
Parvoalbúmina	4.588+/-2.399	12.76+/-2.437*	15.76+/-1.562*
Calbindina	3.5+/-1.434	1.8+/-0.6325*	3.1+/-1.197
GLT1	12.7+/-1.829	9.5+/-1.179*	7.7+/-0.6749*
GFAP	13.9+/-1.66	0.0+/-0.0*	3.4+/-0.516*

Tabla 2. comparación del número de células marcadas para parvoalbúmina, calbindina, GLT1 y GFAP en la lámina III de la corteza cerebral contralateral a un foco isquémico. Datos expresados como promedio +/- SD.

CONCLUSIONES

Es un hecho claro que existe una estrecha relación entre la actividad de las células gliales y la homeostasis neuronal, lo cual es necesario para preservar adecuadamente el proceso de la neurotransmisión y la función neurológica en general. Cuando ocurre una injuria en el sistema nervioso central, el daño celular se extiende mas allá del foco de la lesión debido a la comunicación sináptica directa entre la zona afectada y otras áreas distantes. En este artículo hemos discutido como la propagación transináptica de la noxa, especialmente la pérdida de la homeostasis gabaérgica induce la alteración de la función glial, y especialmente de la recaptura de glutamato, generando un círculo vicioso de hiperexcitabilidad que contribuye a la perpetuación temporal y a la propagación espacial de la disfunción neuronal.

AGRADECIMIENTOS.

Las autoras agradecen al Dr Hernán Pimienta J, Director del Centro de Estudios Cerebrales por la revisión crítica del presente manuscrito. Los resultados

presentados en este proyectos son parte del proyecto CAMBIOS EN LA EXPRESION DE TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO EN ISQUEMIA POR OBSTRUCCION DE LA ARTERIA CEREBRAL MEDIA. Código 1106-04-11990 Colciencias- Universidad del Valle.

REFERENCIAS

- 1 Pines, G. Danbolt NC. Bjet al. Cloning and Expression of a Rat Brain L-Glutamate Transporter. *Nature* 1992. 360. pp 464-467.
- 2 Kanai, Y. Hediger, M. Primary Structure and Functional Characterization of High Affinity Glutamate Transporter. *Nature* 1992. 360. pp 467-471
- 3 Danbolt, N.C. Glutamate Uptake. *Progress in Neurobiology* 65 (2001) 1-105
- 4 Takanshi, M. Billups, B. Rossi, D. Sarantis, M. Hamman, M. Attwell, D. The role of glutamate transporters in glutamate homeostasis in the brain. *Journal of Experimental Biology* 1997 Jan 200 (pt2) 401-9.
- 5 Zonta M, Carmignoto G. Glutamate –Mediate Astrocyte - Neuron Communication in Brain Physiology and Pathology. In *The Neuronal Enviroment : Brain Homeostasis in Health and Disease*. W Waltz, Editor. Humana Press Inc, Totowa, NJ.
- 6 Carmignoto, G. Reciprocal Communication Systems Between Astrocytes and Neurons. *Progress in Neurobiology* 2000. 62: 561-581.
- 7 Ottersen, O.P. Storm-Matisen, J. Glutamate. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, Vol 18. Elsevier, 2000.
- 8 Sibson, N. Dhankar, A. Mason, G. Rothman, D. Behar, K. Shulman, R. Stoichiometric Coupling of Brain Glucose Metabolism and Glutamatergic Neuronal Activity. *PNAS* Vol 95, pp 316-321, Jan 1998.
- 9 Ayala, J. Sanchez, J. Palacios, M. Quevedo, J. Escobar, M. Cruz, S. Neuronas Glutamatérgicas y Excitotoxicidad. En *Sistema Nervioso*. Segunda Edición. Editorial Universidad del Valle, 1998.
- 10 Sasaki, M. Dawson, V. Dawson, T. The NO Signaling Pathway in the Brain. In *Cerebral Signal Transduction: From First to Fourth Messengers*. Reith, M.E.A . Humana Press Inc, Totowa, NJ. Pp 151-173.
- 11 Reith, M.E. From First to Fourth Messengers in the Brain. In *Cerebral Signal Transduction: From First to Fourth Messengers*. Reith, M.E.A . Humana Press Inc, Totowa, NJ. Pp 3-23.
- 12 Buonomano, D. Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annual Review Neuroscience*, 1998, 21: 149-186
- 13 Medina, A. Escobar, M.I. Sistema Glutamatérgico Primera Parte: Sinaptología, Homeostasis y Muerte Celular. *Revista Colombiana de Psiquiatría* 2002; 31 (3): 193-218.

- 14 Seal, RP. Amara, SG. Excitatory amino acid transporters: a family in flux. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1999. 39: 431-456.
- 15 Gegelavishi, G. Shousboe, A. High affinity glutamate transporters: regulation of expression and activity. *Molecular Pharmacology* 52: 6-15. 1997.
- 16 Barger, S. Basile, A. Activation of Microglia by Secreted Amyloid Precursor Protein Evokes Release of Glutamate by Cystine Exchange and Attenuates Synaptic Function. *J Neurochem* 2001 Feb;76(3):846-54
- 17 Gegelashvili, G. Dehenes, Y. Danbolt, N.C. Shousboe, A. The high affinity glutamate transporters GLT1, GLAST and EAAT4 are regulated via different signalling mechanisms. *Neurochemistry International*. 37(2000) 163-170.
- 18 Pluta, R.M. Book, R.J. Afshar, J.K. Clouse, K. Bacic, M. Ehrenreich, H. Oldfield, E.H. 1997. Source and cause of endothelin 1 release into cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.* 87;287-293.
- 19 Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 2000 Oct;25(9-10):1439-51
- 20 Winter CG, Saotome Y, Levison SW, Hirsh D. A Role for Ciliary Neurotrophic Factor as an Inducer of Reactive Gliosis, the Glial Response to Central Nervous System Injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Jun 20; 92(13): 5865-5869.
- 21 Prusiner, S. Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998. 95 (23): 13363-13383
- 22 Vermuganti, L. Et al. Glial Glutamate Transporter GLT1 Down-regulation Precedes Delayed Neuronal Death in Gerbil Hippocampus Following Transient Global Cerebral Ischemia. *Neurochemistry International* 2000. 36:531-537.
- 23 Li, S. Mealing, G. Morley, P. Stys, P. Novel Injury Mechanism in Anoxia and Trauma of Spinal Cord White Matter: Glutamate Release Via Reverse Na⁺ Dependent Glutamate Transport. *Journal of Neuroscience*. 19 RC16:1-9. 1999.
- 24 Mathern, G. Mendoza, D. Lozada, A. Pretorius, J. Dehenes, Y. Danbolt, N. Et al. Hippocampal GABA and Glutamate Transporter Immunoreactivity in Patients with Temporal Lobe Epilepsy. *Neurology* 52: 453. 1999.
- 25 M.I. Escobar, A.M. Medina, H.J. Pimienta. Changes In The Expression Of The Glutamate Transporter Glt1 In The Cerebral Cortex After Focal Ischemia. Program No. 736.15. 2003 *Abstract Viewer/Itinerary Planner*. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2003.
- 26 Witte, O. Stoll, G. Delayed and Remote Effects of Focal Cortical Infarctions: Secondary Damage and Reactive Plasticity. *Advances in Neurology* 1997. 73. 207-227.
- 27 Witte, O. Bidmon, HJ, Schiene, K. Redecker, C. Haggeman, G. Functional Differentiation of Multiple Perilesional Zones After Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2000. 20(8): 1149-65.
- 28 Medina, A. Arango, C. Escobar, M. Pimienta H. Cambios en la Expresión de Proteínas Atrapadoras de Calcio en Isquemia Cerebral: Implicaciones Clínicas. *Revista Salud UIS* 2002. 34(3) 179-187
- 29 Pimienta, H. Arango, C. Escobar, M. Pedroza, A. Respuesta Neurobiológica a la Lesión Cerebral Isquémica: Zona de Infarto, Zona de Penumbra y Regiones Exofocales. *Neurociencias en Colombia* 2000. 8,1:13-25.
- 30 Feldman, M. Morphology of the Neocortical Pyramidal Neuron. In *Cerebral Cortex Vol 1. Cellular Components of The Cerebral Cortex*. Edward Jones and Alan Peters, Editors. Plenum Press, New York, 1984
- 31 Hof, P. Glezer, I. Condé, F. Flagg, R. Rubin, M. Minchinsky, E. Vogt Weisenhorn, D. Cellular Distribution of the Calcium Binding Proteins Parvalbumin, Calbindin and Calretinin in the Neocortex of Mammals: Phylogenetic and Developmental Patterns. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 1999. 16, 77-116
- 32 Peters, A. Jones, E. Classification of Cortical Neurons. In *Cerebral Cortex Vol 1. Cellular Components of The Cerebral Cortex*. Edward Jones and Alan Peters, Editors. Plenum Press, New York, 1984
- 33 Somogyi, P et al. Synaptic Connections of Morphologically Identified and Physiologically Characterized Large Basket cells in the Striate Neocortex of Cat. *Neuroscience* 1983. 10: 261-294.
- 34 Fiaren, A. De Felipe J. Regidor, J. Non-Pyramidal Neurons: General Account. In *Cerebral Cortex Vol 1. Cellular Components of The Cerebral Cortex*. Edward Jones and Alan Peters, Editors. Plenum Press, New York, 1984.
- 35 Runquist, M. Alonso, G. Gabaergic Signalling Mediates the Morphological Organization of Astrocytes in the Adult Forebrain. *GLIA* 2003. 41:137-151

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y PSICOGENÉTICA EN EL TRASTORNO DE ESTRÉS POST-TRAUMÁTICO.

Carlos G. Herrera Ordóñez ¹, Clara Isabel González ², Clara Inés Vargas ³, Carlos Arturo Conde ⁴,
Marta Dallos Arenales ⁵

RESUMEN

El propósito de esta revisión es puntualizar acerca algunas características del Trastorno de Estrés Post-Traumático (TEPT) que sobresalen desde los puntos de vista epidemiológico, psicológico y fisiológico. Algunos de estos aspectos se correlacionan con familias de genes hoy asociados fuertemente con los casos positivos de dicho trastorno. Se destacan dentro de ellos, algunos relacionados con la expresión de subtipos de receptores GABA_A. Probablemente, estas y otras características genéticas contribuyan a la explicación de las variaciones en la susceptibilidad individual lo cual aparece claramente en los estudios clínicos donde no todos los sujetos expuestos a un mismo evento traumático desarrollen el trastorno.

Abstract

The purpose of this review is to remark some characteristics of the Post-traumatic Stress Disorder (PTSD) that stand out from the epidemic, psychological and physiologic points of view. Some of these aspects are correlated with families of genes with a strong associations within the positive cases of this disorder. Stand out inside them, some related with the expression of subtypes of GABA_A receptors. Probably, these and other genetic characteristics contribute to the explain the variations in the individual susceptibility that appears clearly in the clinical studies where not all the exposed to the same traumatic event develops the dysfunction.

PALABRAS CLAVES: Trastorno de Estrés Post-Traumático, Psicogenética, Respuestas Fisiológicas

INTRODUCCIÓN

El fenómeno socio-político que nuestro país enfrenta en este momento histórico, pone en juego una cantidad creciente de diversos tipos de violencia que ha generado un impacto en el individuo, las familias, las comunidades y en la sociedad en general. Fenómenos como el desplazamiento forzado han desquebrajado el tejido social de regiones enteras y han favorecido la desintegración de numerosos núcleos familiares trayendo consigo un profundo impacto en la estructura social. Además, a nivel individual las diversas manifestaciones

de violencia han contribuido a la presentación de diversos tipos de problemas y trastornos mentales en los individuos expuestos a situaciones de violencia. Uno de los principales trastornos por su gravedad, cronicidad y repercusión en el funcionamiento de los individuos es el Trastorno de Estrés Post-Traumático (TEPT).

El Trastorno de Estrés Post-Traumático (TEPT), se constituye en uno de los problemas que mayor impacto tiene sobre poblaciones expuestas a situaciones de violencia de diversa índole como es el caso de la población colombiana. De acuerdo al II estudio de salud mental promovido por el ministerio de salud colombiano (1997), algunos de los factores de riesgo en nuestra población con su prevalencia respectiva fueron: Accidentes (15.2%), Víctima de asalto o ataque físico (11.4%), testigo de asesinato ((10.9%), Desastre natural (8.7%), combate (7.7%), amenaza con arma o secuestro (7.2%), agresión sexual (5.6%) y tortura (0.9%). El Trastorno de Estrés Post-Traumático según los criterios diagnósticos del DSM-IV presentó una prevalencia de 1% para la población general, siendo más frecuente en el sexo femenino (1.5%) y en el grupo de edad de 26 a 56 años (2.3%). La prevalencia de los factores de riesgo: accidentes, víctima de asalto, testigo de asesinato y

Correspondencia: Dra. Marta Dallos, Laboratorio de Neurociencias y Comportamiento, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander. A.A. 678. Bucaramanga, Colombia.

1. FT Esp Docente Facultad de Enfermería UCC Miembro Grupo de Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB.
2. Bact PhD Directora Grupo Biología Molecular UIS. Docente Escuela de Bacteriología UIS
3. MD Msc Directora Grupo de Genética UIS. Docente Dpto. Ciencias Básicas UIS.
4. MD PhD Director Grupo Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB. Docente Dpto Ciencias Básicas.
5. MD PQ Docente Dpto. Salud Mental UIS Miembro Grupo de Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB.

desastre natural, concuerdan con la prevalencia de los factores relacionados con las primeras causas del perfil de morbi-mortalidad del país, en el cual las lesiones y la muerte por homicidios y accidentes de tránsito ocupan los primeros lugares ^{2,22}.

Se ha sugerido que entre el 2 y el 9 por ciento de la población, tiene cierto grado del trastorno. No obstante, la probabilidad de sufrirlo es mayor cuando la persona se ve expuesta a múltiples traumas o a eventos traumáticos durante su niñez y adolescencia, especialmente si el trauma dura mucho tiempo o se repite. En este sentido, se han evidenciado más casos de este trastorno entre la población joven de las ciudades y entre personas que han inmigrado recientemente de países en donde han sufrido problemas de violencia, y al parecer las mujeres sufren más del Trastorno de Estrés Post-Traumático que los hombres ^{6,7}. Uno de los mayores problemas conexos con este trastorno se relaciona con la falta de comprensión de los mecanismos neurobiológicos, genéticos, la ineficacia de los tratamientos farmacológicos (incluida la resistencia a benzodiazepinas y a antidepresivos convencionales) y/ o psicológicos hoy disponibles ^{1, 2, 3, 10, 22}.

CARACTERÍSTICAS DEL TRASTORNO.

El Trastorno de Estrés Post-Traumático (TEPT), es un trastorno de ansiedad que puede surgir después de que una persona ha estado expuesta a un evento traumático (aunque no todas las personas logran desarrollar el trastorno) y se desencadena a raíz de traumas personales (por ejemplo violación, guerra, desastres naturales, abuso, accidentes serios o secuestro) o por haber presenciado un acto violento o trágico. Datos recientes sugieren que la exposición a factores estresantes por largo tiempo o a algún tipo de situación traumática, puede causar alteraciones en el funcionamiento de estructuras neuroanatómicas y patrones neurales, entre otros ^{4, 5}.

En este Trastorno (TEPT), aunque es común pasar por un breve estado de ansiedad o depresión después de dichos eventos, quienes lo sufren siguen «volviendo a vivir» el trauma; evitando a las personas, los pensamientos o situaciones relacionadas con el evento traumático y con frecuencia tienen síntomas de emociones excesivas ⁶.

Las personas con este padecimiento sufren los síntomas durante más de un mes y no pueden llevar a cabo sus funciones como lo hacían antes del suceso traumático. Los síntomas del Trastorno de Estrés Post-Traumático por lo general aparecen en un período de tres meses después de la situación traumática; sin embargo, a

menudo permanecen durante meses o hasta años después, con una pobre respuesta al tratamiento ⁶.

Quizá el grupo de personas que mayor asociación con el TEPT se ha evidenciado son los ex-combatientes de las guerras; antes a este Trastorno se le conocía como «neurosis o fatiga de guerra». La Asociación Americana de Trastornos de la Ansiedad observa que del 15 al 30 por ciento de los tres millones y medio de hombres y mujeres que combatieron en Vietnam han sufrido del Trastorno de Estrés Post-Traumático ^{6, 7}, y aunque los síntomas que sufren pueden ser muy diferentes, por lo general se incluyen en las tres categorías siguientes ^{8, 9}:

- **Repetición de la vivencia** - La persona frecuentemente tienen recuerdos o pesadillas repetidas del evento traumático. Algunos pueden tener «*flashbacks*», alucinaciones u otras emociones vívidas que dan la sensación a la persona de estar viviendo el evento nuevamente. Otros sufren de gran tensión psicológica o fisiológica cuando ciertos objetos o situaciones les recuerdan la situación traumática. Todo esto se correlaciona con un estado mayor de ansiedad.

- **Evasión o evitación al daño** - Muchas personas con Estrés Post-Traumático evitan las cosas que les recuerdan el evento traumático. Esto puede llegar a causar evasión o evitación al daño de todo tipo: pensamientos, sentimientos o conversaciones sobre el incidente y también actividades, lugares o personas que les recuerdan la situación. Otras parecen no responder a las cosas o situaciones relacionadas con el evento y no recuerdan mucho sobre el trauma. Estas personas también podrían mostrar una falta de interés por las actividades que les eran importantes antes del trauma, y por lo general se aíslan de los demás, de igual manera, hacen uso de una gama limitada de emociones y no tienen esperanzas para el futuro.

- **Aumento de excitación emocional** – El aumento en la excitación emocional pueden incluir el insomnio, la irritabilidad, la dificultad para concentrarse, el asumir un ánimo cauteloso sin una razón clara, y la hiperexcitabilidad. Con frecuencia abusan de sustancias, consumen alcohol u otras drogas como forma de automedicarse para sentirse mejor. Las personas que tienen este padecimiento también pueden correr un riesgo más elevado de suicidarse.

Las observaciones clínicas han indicado que entre diferentes sujetos expuestos al mismo evento traumático, unos desarrollan el Trastorno de Estrés Post-Traumático (TEPT) y otros por el contrario, no manifiestan ningún

tipo de sintomatología relacionada con la entidad. Esto condujo a los investigadores a explorar los motivos por los cuales la susceptibilidad individual de las personas permite el desencadenamiento o no del trastorno, y a evaluar las asociaciones con parámetros de tipo fisiológico y genotípico relacionados con polimorfismos de genes funcionales de varios sistemas neurales tales como el sistema GABAérgico, Dopaminérgico y Serotoninérgico, entre los más relevantes ^{10, 11, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22}.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL STRESS POST-TRAUMÁTICO.

En general, las situaciones que generan estrés son vistas como respuestas normales del organismo frente a cualquier situación de novedad o exigencia metabólica. Niveles bajos de estrés suelen tener utilidad adaptativa, sin embargo, altos niveles asociados a la susceptibilidad individual y a la experiencia previa del individuo, pueden resultar en procesos fisiológicos de mal adaptación que incluyen daños funcionales e inclusive físicos. Las situaciones de estrés se acompañan de componentes cognitivos, emocionales y respuestas fisiológicas relacionadas con procesos de preparación del individuo para enfrentar una emergencia. Las manifestaciones fisiológicas pueden ser principalmente de tipo hormonal y de tipo neural autónomo. Las primeras, suelen relacionarse con aumento de los niveles de adrenalina suprarrenal, aumento de la hormona corticotrófica (ACTH) y los glucocorticoides como el cortisol plasmático, y las segundas, con el aumento en las respuestas vegetativas ^{1, 12}.

Las manifestaciones autonómicas se caracterizan por altos niveles de activación simpática que se traducen en aumento de la sudoración (mayor conductancia eléctrica de la piel) y aumento en las amplitudes y frecuencias respiratorias y de pulso cardíaco además de otros cambios cardiovasculares. Estas variaciones funcionales, también pueden ser inducidas en los procesos de evocación mnemónica de eventos con alta emocionalidad como en el caso del recuerdo de hechos traumáticos ^{1, 3}.

Algunos de los mecanismos neurales asociados con situaciones de estrés y trastornos de ansiedad (dentro de los que se incluyen el TEPT), incluyen los sistemas de inhibición GABAérgicos y los sistemas monoaminérgicos. En el primer caso, la literatura indica que defectos o bloqueos del sistema GABAérgico, inducen estados ansiogénicos tanto en modelos experimentales como en situaciones clínicas. Por otro

lado, la utilización de fármacos agonistas de este sistema induce estados ansiolíticos ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 20}.

En relación a las aminas biógenas, la literatura asocia a estos sistemas con trastornos del afecto, pero sus mecanismos no parecen estar bien dilucidados. De esa manera, se han planteado teorías como la del papel dual de la serotonina, la cual dice que dependiendo del lugar del sistema nervioso central donde se libere la serotonina, y del tipo de receptores existentes, se pueden inducir diferentes estados bien sea de ansiedad o de ansiólisis ¹⁻³.

El sistema GABAérgico incluye diferentes subtipos de receptores para el GABA y cada uno de ellos está conformado por diferentes sub-unidades que al combinarse en diversas proporciones, cambian la funcionalidad asociada a la capacidad de ligar GABA, y cambian la probabilidad de apertura de los canales responsables de las corrientes de cloro (hiperpolarizantes e inhibitorias). Desde este punto de vista, cambios en el genotipo que codifica para los receptores GABA, podría determinar diferentes susceptibilidades individuales y diferencias en la capacidad de inhibición de los circuitos neuronales involucrados en la respuesta emocional ^{1, 2}.

ASPECTOS GENÉTICOS DEL TRASTORNO DE ESTRÉS POST-TRAUMÁTICO.

Se ha encontrado una estrecha relación entre el desencadenamiento del TEPT, ligado a la expresión de ciertos genes específicos de grupos de neurotransmisores, en especial, de genes funcionales relacionados con neurotransmisores y sus receptores tales como GABA, dopamina, serotonina y norepinefrina, de los cuales se considera pueden ser potenciadores del TEPT ^{10, 11, 14, 15, 16, 17, 20, 21}. De igual manera, se ha visto implicado en este desorden polimorfismos para los receptores N363S y BclII de glucocorticoides, los cuales han mostrado tener relación estrecha con el incremento de la sensibilidad a glucocorticoides ¹⁹; además de la influencia que representan los factores biológicos y ambientales ^{20, 21, 22}.

En estudios realizados con veteranos de Vietnam y la guerra del golfo, se ha evidenciado la presencia de la expresión de alelos del gen de la sub-unidad beta 3 del receptor GABA_A, en la patogénesis y co-morbilidad en el TEPT; es más, se ha visto implicado en la fisiopatología de la ansiedad y la depresión. Ciertamente, el receptor GABA_A juega un papel importante en la modulación, y

probablemente en la etiología de desordenes mayores y menores de ansiedad y depresión^{10, 11, 18, 20, 21}.

Uno de los genes documentados asociados con el Trastorno de Estrés Post-Traumático es el polimorfismo microsatélite G1 del gen GABRB3^{10, 11}. En la actualidad se adelantan estudios para determinar su asociación con el síndrome de Angelman, el Autismo y el TEPT¹⁰. Es de acotar por demás, que algunos estudios han asociado la presencia del gen GABRA 5, que hace parte del grupo de genes que codifican para sub-unidades del receptor GABA_A, con el Trastorno de Estrés Post-Traumático y conductas de evitación al daño, sin embargo, no se ha relacionado fuertemente con el trastorno por la falta de estudios complementarios que fortalezcan los datos preliminares^{18, 23}.

DISCUSIÓN

Aunque es cierto que se han postulado una serie de hipótesis fruto de los estudios descriptivos y experimentales realizados por expertos en el tema, con el ánimo de interpretar la causalidad y curso de los trastornos psiquiátricos, no dejan de existir vacíos en referencia a la etiología de la enfermedad y a los factores desencadenantes de dichos trastornos, en especial de aquellos que guardan relación estrecha con los desordenes de ansiedad y depresión, entre otros. Puesto que investigaciones previas han proporcionado un entendimiento del trastorno mental en cuestión, la metodología empleada en la mayoría de estudios experimentales ha incluido a individuos caucásicos no hispanos de género masculino. Es claro, que esto limita la extrapolación de los datos a la comunidad hispana y latinoamericana, a las mujeres y niños quienes de igual manera padecen el trastorno psiquiátrico, y que además, no pueden quedar fuera de los alcances que la ciencia y la tecnología les pueda brindar, a partir de los hallazgos en el estudio del TEPT.

Se debe tener en cuenta que en la actualidad los estudios realizados en torno a los desordenes mentales han estado orientados a la síntesis de una serie de medicamentos para tratarlos, más no para aportar conocimientos claros en cuanto a la comprensión de su etiopatogenia, genética, dinámica molecular, respuestas fisiológicas, etc; tal como sucede con el Trastorno de Estrés Post-Traumático y/o otros trastornos mentales asociados a esta entidad.

Sin embargo, partiendo de la evidencia científica arrojada por estudios fisiológicos (excluyendo otro tipo de elementos importantes para el tratamiento los cuales están relacionados con factores medio-ambientales,

genéticos, violencia, socio-demográficos, y en general de respuesta particular del individuo) se ha podido dilucidar algunos elementos importantes en el desarrollo de esta enfermedad los cuales se asocian con la presencia de respuestas neurofisiológicas del nivel autonómico en la evocación mnemónica, patrones neurales específicos implicados como el rol de los receptores GABA_A, asociación de grupos de genes funcionales candidatos en la presentación del trastorno y que se relacionan con vías neurales como la del GABA, Dopamina y Serotonina.

Aunque queda mucho camino por recorrer, lo importante es hacer del estudio del TEPT una actividad científica integral donde se puedan considerar los resultados como un aproximado más fehaciente a la realidad de la enfermedad, con criterios de validez claros que permitan profundizar en la forma de tratar a las cientos de personas que padecen este trastorno en nuestro país.

CONCLUSIONES.

- Uno de los mayores problemas conexos con este trastorno se relaciona con la falta de comprensión de los mecanismos neurobiológicos, genéticos, la ineficacia de los tratamientos farmacológicos (incluida la resistencia a benzodiazepinas y a antidepresivos convencionales) y/o psicológicos hoy disponibles. Por tal motivo resulta pertinente realizar estudios que den aportes para la construcción del conocimiento en estos aspectos.
- Cambios en el genotipo que codifica para los receptores GABA, podría determinar diferencias en las susceptibilidades individuales y en la capacidad de inhibición de los circuitos neuronales involucrados en la respuesta emocional.
- Aumento en los niveles séricos de alelos del gen de la sub-unidad beta 3 del receptor GABA_A o polimorfismos de este gen, en especial el microsatélite G1 del gen GABRB3 podría estar asociado con la presencia del Trastorno de Estrés Post Traumático.

PERSPECTIVA.

Adelantar un proceso investigativo orientado a evaluar las respuestas fisiológicas y a determinar la asociación de genes candidatos en el TEPT en individuos con esta entidad patológica, en asocio con grupos de investigación de la Facultad de Salud – UIS o de otras universidades que permitan dar un soporte más amplio al estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Bases Neurobiológicas y Farmacológicas del Trastorno de Estrés Post-Traumático. *Rev Chil. Neuropsiquiatría* 2002; 40, (Supl 2): 40-68.
2. Neurobiological basis and pharmacotherapy of post-traumatic stress disorder.
3. Kaplan and Sadock. *Sinopsis de Psiquiatría*. 8ª edición. Editorial medica panamericana. 1999.
4. O'donnell T, Hegadoren KM, Coupland NC. Noradrenergic mechanisms in the pathophysiology of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychobiology*. 2004; 50(4):273-83.
5. Murray B. Stein, M.D., Kerry L. Jang, Ph.D., Steven Taylor, Ph.D., Philip A. Vernon. Genetic and Environmental Influences on Trauma Exposure and Posttraumatic Stress Disorder Symptoms: A Twin Study. *Am J Psychiatry* 159: 1675-1681, October 2002.
6. Fontana, A. The nations voice on mental illness. PTSD - VA-Northeast Program Evaluation Center. <http://www.nami.gov/>
7. Anxiety Disorders Association of America. <http://www.adaa.org/>
8. National Center for Post-Traumatic Stress Disorder. <http://www.ncptsd.org/>
9. Department of Veterans Affairs Washington. <http://www.va.gov/>
10. Feusner J, Ritchie T, Lawford B, Young RM, Kann B, Noble EP. GABA(A) receptor beta 3 subunit gene and psychiatric morbidity in a post-traumatic stress disorder (PTSD) population. *Psychiatry Res*. 2001 Nov 1; 104(2):109-117.
11. Zorumski, Eisenberg. Insights into the structure and function of GABA – benzodiazepine receptors: ion channels and psychiatry. *American Journal of Psychiatry*: 148 (1991), pp 162-173.
12. Devanand B, Shapira F, Petty G, Kramer L, Fitzsimons B, Lerer, Sackeim H. Effects of electroconvulsive therapy on plasma GABA (A). *Convulsive Therapy* 11(1995), pp3-13.
13. Lloyd et al. The potencial use of GABA agonist in psychiatric disorders: Evidence from studies wirth progabide in animal models and clinical trials. *Pharmacology, biochemistry and bahavior* 18 (1983), pp: 957-966.
14. King JA, Abend S, Edwards E. Genetic predisposition and the development of posttraumatic stress disorder in an animal model. *Biol Psychiatry*. 2001 Aug 15;50(4):231-237.
15. Segman RH, Cooper-Kazaz R, Macciardi F, Goltser T, Halfon Y, Dobroborski T, Shalev AY. Association between the dopamine transporter gene and posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry*. 2002; 7(8):903-907.
16. Segman RH, Shalev AY. Genetics of post-traumatic stress disorder. *CNS Spectr*. 2003 Sep; 8 (9):693-698.
17. King JA, Abend S, Edwards E. Genetic predisposition and the development of posttraumatic stress disorder in an animal model. *Biol Psychiatry*. 2001; 15; 50(4):231-237.
18. Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Wu S, Muhleman D, Blake H, Mann MB, Dietz G, Saucier G, MacMurray JP. A multivariate analysis of 59 candidate genes in personality traits: the temperament and character inventory. *Clin Genet* 2000; 58: 375–352.
19. Bachmann AW, Sedgley TL, Jackson RV, Gibson JN, Young RM, Torpy DJ. Glucocorticoid receptor polymorphisms and post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2004; Apr; 30(3): 297-306.
20. Vaiva G, Thomas P, Ducrocq F, Fontaine M, Boss V, Devos P, Rasclé C, Cottencin O, Brunet A, Laffargue P, Goudemand M. Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2004 Feb 1; 55(3) :250-254.
21. Spivak B, Maayan R, Kotler M, Mester R, Gil-Ad I, Shtaf B, Weizman A. Elevated circulatory level of GABA(A)—antagonistic neurosteroids in patients with combat-related post-traumatic stress disorder. *Psychol Med*. 2000 Sep;30(5):1227-31.
22. Yehuda R. Biological factors associated with susceptibility to posttraumatic stress disorder. *Can J Psychiatry*. 1999 Feb; 44(1): 34-39.
23. Glatt K, Glatt H, Lalande M. Structure, organization and funtion of GABRB3 and GABRA5. *Genomics*. 1997 Apr 1; 41(1): 63-69.
24. Mutirangura et al. Dinucleotid repeat polimorphisms at the GABAA receptor (GABRB3) locus in the Angelman /Prader Willi region (AS/PWS) of cromosome 15. *Human molecular genetics*. 1(1992), pp 67.

EFECTOS COMPORTAMENTALES Y HORMONALES DERIVADOS DE EXPOSICIONES DE RATAS AL LABERINTO EN CRUZ ELEVADO (LCE) Y DERIVADOS DE DIFERENTES PERIODOS DE PERMANENCIA EN EL BIOTERIO EXPERIMENTAL.

COMUNICACIÓN CORTA-

Fernando Rodríguez S., Lucila Leico K. Elias, José Antunes, Silvio Morato, Silvia Botelho de Oliveira, Carlos Conde.

El laberinto en cruz elevado (LCE) es un modelo ampliamente utilizado como bioensayo en evaluación de fármacos ansiolíticos, y como modelo para el estudio de ansiedad generalizada^{1,2,3}, sin embargo, uno de los fenómenos observados en ratas expuestas a dicho laberinto es que una breve exposición por 5 minutos produce efectos mnemónicos duraderos y resistentes a nuevas dosis de ansiolíticos como las benzodiazepinas². Este efecto mnemónico ha hecho pensar a nuestro grupo, en la posibilidad de validarlo como modelo del trastorno de estrés post-traumático. Algunos de los aspectos a estudiar se relacionan con: a) la caracterización de los factores ambientales que inducen el proceso mnemónico mencionado (para este caso, la permanencia en el bioterio) y b) la relación entre exposiciones repetidas al (los) agente(s) estresor (es) (en este caso, exposiciones repetidas por 5 minutos al LCE) y sus efecto comportamentales y fisiológicos.

Para poder evaluar los modelos de estrés post-traumático se hace necesario entre otras cosas, unir los criterios comportamentales a la evidencia fisiológica; es decir, que el comportamiento observado por la rata en el LCE debe

correlacionarse con lo esperado en cuanto a la actividad del eje Hipotálamo - Hipófisis – adrenales⁴.

Las hormonas que se utilizan como criterio fisiológico para medir la actividad de dicho eje fisiológico en ratas suelen ser: la hormona corticotrópica (ACTH) y la Corticosterona⁴.

Para este experimento se utilizaron dos grupos de ratas: uno llamado Gplsm (Grupo de ratas sometido al laberinto una vez sin manipulación) que pretendía evaluar las variaciones hormonales y comportamentales ante diferentes periodos de permanencia en el bioterio experimental (6, 12, 18 días) con una única exposición al laberinto (5 min); y el otro grupo llamado Gplm (grupo de ratas sometidas al LCE repetidas veces (1, 6 y 12 veces, 1/d/5min) que pretendía evaluar los efectos hormonales de las exposiciones repetidas al LCE. Los grupos que se describen estaban formados por 5 ratas tipo wistar de un peso promedio de 250 gr. y las cuales fueron mantenidas bajo libre acceso a agua y comida y bajo los mismos niveles y ciclos de luz-oscuridad.

Después de completar cada exposición al laberinto se procedió a sacrificar cada animal y se recogieron entre 10 y 15 ml de sangre de los cuales se extrajeron entre 3 y 5 ml de suero para determinar en él los niveles de ACTH y Corticosterona por métodos estandarizados de radioinmunoensayo^{5,6}.

Resultados Obtenidos:

Los resultados obtenidos muestran que con los días de permanencia en el bioterio (6, 12 y 18 días) la ACTH tiende a disminuir sin que la Corticosterona muestre el mismo comportamiento monotónico y además sin haber diferencias comportamentales en el LCE.

Correspondencia: Carlos A. Conde, Laboratorio de Neurociencias y Comportamiento, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, UIS. A.A. 678 Bucaramanga, Colombia.

Instituciones participantes: Proyecto 1102-05-10218 Colciencias.

Laboratorio de Neurofisiología USP Ribeirao Preto**

Laboratorio de Comportamiento Exploratorio USP Ribeirao Preto***.

Grupo de Neurociencias UIS-UPB*.

Figura 1. EFECTOS DE LA PERMANENCIA EN EL LABORATORIO SOBRE ACTH Y CORTICOSTERONA DE RATAS EXPUESTAS AL LCE 1 VEZ

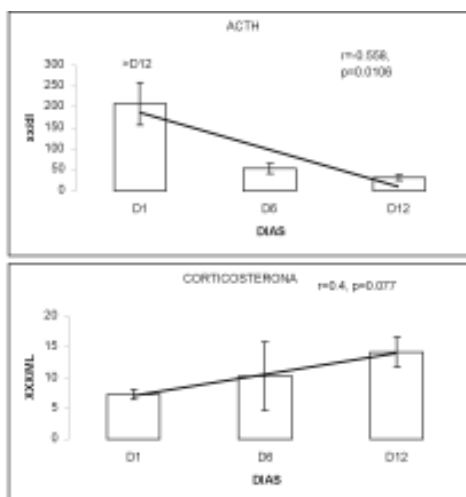


Figura 1. Promedio \pm EE de la concentración hormonal en ratas que permanecieron 6, 12 y 18 días en el bioterio experimental antes de una exposición al laberinto en cruz elevado.

Cuando el otro grupo de ratas fue sometido repetidas veces al LCE se presentó una disminución de la ACTH asociado con el número de veces de exposición del animal (1,6 y 12 veces) mientras que la corticosterona mostró una tendencia clara a aumentar.

El comportamiento de los animales en el LCE no evidenció habituación al brazo abierto.

Figura 2. EFECTOS DE LA DE EXPOSICIONES REPETIDAS AL LCE SOBRE LOS NIVELES DE ACTH Y CORTICOSTERONA

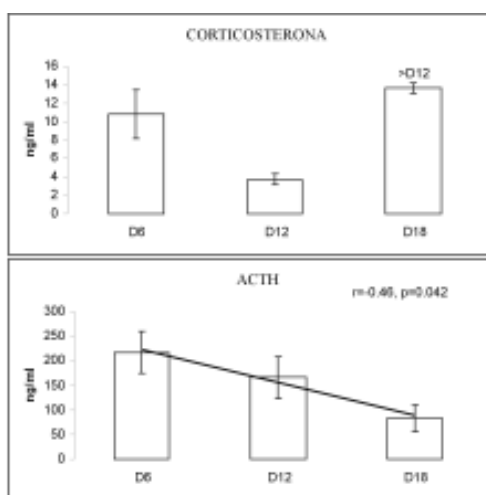


Figura 2. Promedio \pm EE de la concentración hormonal en ratas que fueron expuestas 1, 6 y 12 veces al laberinto en cruz elevado (1 vez/día/5 min)

Con base en los anteriores resultados se puede inferir que el tiempo de permanencia en el bioterio de experimentación produjo efectos sobre la secreción de ACTH que podrían interpretarse como un proceso de habituación al nuevo ambiente (traslado del bioterio de reproducción al de experimentación), estos cambios no se reflejaron en efectos comportamentales de la rata en el LCE. Por otro lado, las exposiciones repetidas al LCE sorprendentemente llevaron a una disminución de los niveles de ACTH en función de las experiencias repetidas lo cuál inicialmente sugeriría un proceso de habituación, sin embargo, el incremento de la corticosterona asociado a la disminución de la ACTH sugiere un proceso de sensibilización de las adrenales frente a concentraciones decrecientes de la hormona corticotrópica. Este resultado es coherente con la falta de habituación comportamental a los brazos abiertos del LCE frente a las exposiciones repetidas.

En conjunto, los datos sugieren que el proceso de memoria emocional asociado a los brazos abiertos del LCE, incluye cambios a largo plazo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y en esa dirección, los resultados fortalecen la propuesta de considerar este protocolo como un potencial modelo de estrés post-traumático.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pellow S, File S. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1986; 24: 525-529.
2. Conde C, Ayala JO, Botelho S, Herrera AB, Velásquez MC. La vía visual puede ser el disparador de ansiogenidad en el modelo del laberinto en cruz elevado. *Salud UIS* 2001; 33(3): 191-202.
3. File S, Zangrossi JH, Sanders FI, Mabutt PS. Raised corticosterone in the rat after exposure to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology* 1994; 113: 543-546
4. Yehuda, R. and Antelman, S.M. Criteria for rationally evaluating animal models of post-traumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*. 1,33 (7) 1993 pp479-486
5. Moreira AC, Barizon EA, Sirva J.R. Montagem e Padronizacao do Radio - Imunoensaio do ACTH Plasmático. *Arq. Bras. Endocrinol.Metab.* 1987; 31: 19-22.
6. Simpson E.R., Waterman, M.R.: Esteroid Hormone Biosynthesis in the adrenal Cortex and its regulation by adrenocorticotropin. In *Endocrinology* 3rd ed. M Besser, H.G.Burger, and J.L. Jameson el al., Eds Philadelphia, W.B. Saunders Co 1995.pp 1630-1641.

Resúmenes

TRANSPORTADORES GLIALES DE GLUTAMATO Y SU IMPLICACIÓN EN LESIÓN NEURONAL

Adriana Medina

Estudiante de Doctorado Centro de Estudios
Cerebrales Facultad de Salud Universidad del Valle

La excitotoxicidad es una forma de daño neuronal producida por diferentes patologías como son la isquemia cerebral, el trauma craneoencefálico y raquimedular, la epilepsia, e incluso se encuentra en trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica.

El daño excitotóxico se origina por la liberación exagerada del neurotransmisor glutamato en la hendidura sináptica, lo que lleva a la activación excesiva de sus receptores específicos. Algunos de estos receptores, tales como los canales NMDA, algunos subtipos de canales AMPA (aquellos que carecen de la subunidad GluR2 en su estructura) y los receptores metabotróficos del tipo mGluR 1 y 5 generan incrementos del calcio citoplasmático. Este incremento agudo puede conducir rápidamente a una pérdida de la homeostasis iónica, llevando a la muerte celular necrótica. Cuando el calcio citoplasmático alcanza niveles elevados por debajo del umbral de la necrosis, se genera la activación anormal de numerosas vías enzimáticas, incluyendo las óxido nítrico sintasas, fosfolipasas, y fosfatasa como la calcineurina, generando la producción de radicales libres, de ácido araquidónico y sus derivados y la activación de proteínas proapoptóticas mitocondriales, induciendo así procesos de muerte celular a mediano y largo plazo. En condiciones normales, la homeostasis del glutamato es mantenida en un 95% por la recaptura sináptica ejecutada por los transportadores gliales como el GLT1. Sin embargo, se han sugerido las alteraciones de la expresión y función de los transportadores como uno de los pilares del proceso excitotóxico. Los estudios realizados por nuestro grupo utilizando marcadores inmunohistoquímicos para el transportador glial GLT1 y la proteínas atrapadoras de calcio neuronales en un modelo animal de isquemia cerebral focal demuestran una correlación entre la disminución de la expresión inmunohistoquímica de GLT1 y la alteración de la expresión de estas proteínas, especialmente en zonas alejadas del foco isquémico que reciben aferencias directas procedentes del área lesionada. Estos hallazgos sugieren un mecanismo de propagación de la alteración funcional neuronal que

extiende el proceso excitotóxico mas allá de los límites del foco y la penumbra lesional.

FÁRMACOS OPIOIDES Y SISTEMAS DE RECOMPENSA

Andrés Quintero

Estudiante de Maestría Centro de Estudios Cerebrales
Facultad de Salud Universidad del Valle

Los agonistas totales opioides como la morfina o sus derivados ilegales como la heroína (acetil-morfina) se caracterizan por ser xenobióticos que causan adicción. Este fenómeno, es producido por la interacción específica de los fármacos con los receptores opioides m, que activando una proteína G_i/G_o producen una hiperpolarización con la consecuente inhibición de la función neuronal de diversas estructuras del sistema nervioso central, incluyendo las aferencias hacia los núcleos dopaminérgicos mesencefálicos. Parte de estas proyecciones se origina en los ganglios basales, y dado el carácter gabérgico de dichas proyecciones, el resultado final es una alteración de los mecanismos fisiológicos que regulan la liberación de dopamina, la cual juega un papel central en la activación de los sistemas de recompensa, especialmente los sistemas dopaminérgicos mesolímbico y mesoaccumbens, ambas vías ampliamente involucradas en la motivación y gratificación inducida por los fármacos opioides. La comprensión de los mecanismos moleculares de interacción entre los receptores para los diversos neurotransmisores involucrados en este fenómeno es fundamental para visualizar oportunidades farmacológicas para el manejo de la adicción.

EFFECTOS DE LA PRIVACIÓN ALIMENTICIA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL DE LA CODORNIZ JAPONESA

MACHO, COTURNIX JAPONICA

Ivan Annicchiarico, Leonardo Ortega
& Germán Gutiérrez

Universidad Nacional de Colombia

En este estudio se evaluaron los efectos de la privación alimenticia sobre algunas variables fisiológicas y sobre

los componentes apetitivos y consumatorios de la conducta sexual de codornices japonesas (*Coturnix japonica*) macho. Se diseñó un primer experimento donde se establecieron tres grupos, un grupo de privación alimenticia aguda por un periodo de 72 horas, un grupo de privación crónica por dieciocho días y un grupo control. Los resultados sugieren que la privación de alimento aguda, por el tiempo evaluado, tuvo efectos diferenciales en las variables fisiológicas pero no afectó significativamente las conductas sexuales; la privación crónica no afectó diferencialmente los aspectos apetitivos y consumatorios de la conducta sexual, pero sí aquellas características de la evaluación altamente dependientes de un aprendizaje previo. En un segundo experimento, se privó de alimento a un grupo de codornices por 32 días, con el fin de observar los efectos sobre dos tipos de evaluación de la conducta apetitiva sexual (una evaluación no dependiente del aprendizaje vs. una evaluación dependiente del aprendizaje) y variables fisiológicas y conductuales asociadas. Los resultados sugieren que una privación crónica prolongada afecta tanto aspectos fisiológicos como conductuales, siendo los aspectos conductuales dependientes del aprendizaje los principalmente afectados.

Palabras Clave: Motivación, conducta sexual, aprendizaje, deprivación de comida.

Agradecimientos: Juliana Pineda, Juan Carlos Riveros, Jonathan y Angelica por su invaluable ayuda en la recolección de datos.

INCORPORACIÓN DE CANALES DE SODIO DE CEREBRO DE RATA EN MEMBRANAS ARTIFICIALES CON GANGLIÓSIDOS

Blanca C. Salazar, Santiago Castaño, Julio Cesar Sanchez, Myrian Romero y Esperanza Recio-Pinto
Centro de Estudios Cerebrales - Universidad del Valle,
Universidad de New York

En el presente trabajo se estudió la activación del canal de sodio de cerebro de rata dependiente de voltaje, el cual se modificó con BTX y se incorporó en ambiente lipídico compuesto de fosfolípidos neutros (fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) en un caso y de estos fosfolípidos con el gangliósido GD1a como lípido cargado en el otro. La técnica utilizada fue la de bicapas artificiales. La actividad se midió mediante el parámetro $V_{(0,5)}$ que representa el voltaje al cual ocurre la mitad de la activación del canal, éste se determinó a través de las curvas probabilísticas de apertura en función del potencial de membrana bajo condiciones isométricas de

NaCl. La concentración de gangliósido empleada para el estudio fue la concentración normal reportada para cerebro humano con un porcentaje del 6%, disuelto en una mezcla de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina en una relación 1:4. Entre los resultados obtenidos con las membranas se pudo observar que las que contenían gangliósidos fueron más estables que aquellas que solo contenían fosfolípidos, sin embargo la conductancia no se alteró por la presencia de gangliósidos puesto que la dependencia de voltaje fue similar a la reportada en membranas con fosfolípidos neutros. Los canales incorporados en la membrana con gangliósidos presentaron una curva de activación desplazada a la izquierda con respecto a la de los fosfolípidos neutros lo cual significa que la sensibilidad del canal aumenta en presencia de gangliósidos.

CORRELACIÓN DE LOS HALLAZGOS CITOGENÉTICOS E INMUNOHISTOQUÍMICOS DE PACIENTES CON TUMORES SÓLIDOS DE SNC

Isaza Carolina M.D., MSc,* Escobar Martha Isabel MSc,* Montoya Antonio M.D.,** Sánchez Jairo M.D.***

OBJETIVOS: Los tumores sólidos del SNC, al igual que cualquier tumor constituyen una enfermedad del ciclo celular, donde las células se dividen de una manera desordenada y descontrolada, debido a una acumulación de daños genéticos que comprometen genes supresores y oncogenes. La determinación de alteraciones cromosómicas ha sido una de las herramientas sencillas para la búsqueda de genes comprometidos en cada tumor. Con esta premisa se propusieron los siguientes objetivos:

1. Determinar por inmunohistoquímica el tipo de células tumorales.
2. Cultivar las células tumorales, observar su comportamiento *in vitro* y realizar cariotipo para determinar sus alteraciones cromosómicas y la asociación con diferentes tipos de tumores

MATERIALES Y MÉTODOS: Con las células tumorales recibidas se realizan pruebas inmunohistoquímicas con

* Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud Universidad del Valle, Cali

** Hospital universitario del Valle, departamento de Neurocirugía, Cali

*** Clínica Rafael Uribe, Instituto de los Seguros Sociales, Cali
Este trabajo es financiado por Colciencias y la Universidad del Valle.

E mail: Carolinaaisa@uniweb.net.co

anticuerpos monoclonales anti-GABA, anti-MAP2 y anti-GFAP, para clasificarlas. Además se realiza prueba de viabilidad celular y 2 cultivos celulares, para almacenar células para líneas tumorales y para cariotipo.

Se correlacionan las alteraciones cromosómicas con el tipo de tumor y lo reportado en la literatura mundial.

CONCLUSIONES: El estudio citogenético de los tumores sólidos de SNC, es una herramienta sencilla y al alcance de todos en nuestro medio, que sirve de ayuda a la patología para definir pronóstico y riesgo de recidiva tumoral.

RECUPERACIÓN ESPONTÁNEA DE RESPUESTAS SEXUALES CONDICIONADAS EN LA CODORNIZ JAPONESA MACHO (*COTURNIX JAPONICA*)

Carolina Támara¹ & Germán Gutiérrez²
Universidad Nacional de Colombia

Cuando un estímulo inicialmente neutro (EC) señala un evento biológicamente significativo (EI), la aproximación al EC aumenta después de pareamientos EC-EI (Adquisición) y disminuye cuando se realizan presentaciones del EC sin el EI posterior a la adquisición (extinción). Sin embargo, la implementación de la extinción no elimina el aprendizaje inicial, y las respuestas hacia el EC reaparecen con el paso del tiempo (recuperación espontánea). El condicionamiento clásico puede modificar aspectos de la conducta sexual y ha sido demostrado que estas respuestas persisten después de varios ensayos de extinción, pero no se han determinado las características de la recuperación espontánea de estas respuestas y si la recuperación espontánea puede ser afectada por la distribución temporal de los ensayos. Este experimento con codornices japonesas macho (*Coturnix japonica*) como sujetos examinó la relación entre la extinción masiva (10 ensayos diarios) y espaciada (3 ensayos diarios) y la recuperación espontánea de respuestas sexuales condicionadas. La recuperación espontánea fue mayor en cada sesión diaria de extinción posterior a la implementación de extinción masiva, pero no cuando los sujetos recibieron cinco presentaciones del EC posterior a un intervalo de aplazamiento de seis y catorce días. Se discuten las implicaciones para las teorías de la extinción y la recuperación espontánea.

¹ ctamarag@unal.edu.co

² ggutierrez@rlpsi.org

TÍTULO: CULTIVO DE CÉLULAS CAPSULARES

Claudia Moreno y Clara Spinel

Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física y Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.

Las células de Schwann (CS) que recubre las neuritas en los nervios y las células capsulares que rodean los pericariones en los ganglios de la raíz dorsal (GRD), son la glia del sistema nervioso periférico. Las CS dan protección y soporte metabólico axonal y son las responsables de la transmisión saltatoria del impulso nervioso. Además, secretan factores que promueven el crecimiento axonal. Por esta razón, han sido ampliamente utilizadas dentro de las prótesis de regeneración de lesiones nerviosas. En monocapa las células capsulares presentan una morfología muy similar a las CS y también son S-100 positivas, razón por lo cual se han considerado como CS. Generalmente, las CS se obtienen a partir de nervios periféricos, sin embargo, la gran cantidad de tejido conectivo que compone el nervio dificultan su purificación en el cultivo. Empleamos ratones adultos e hicimos una microdissección minuciosa de los GRD, una digestión con colagenasa, seguida de una disociación mecánica nos ha permitido obtener una población casi pura de células capsulares en los cultivos. Tenemos la esperanza de emplear estas células en una futura prótesis biológica para la regeneración nerviosa.

ESTUDIO DE FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICOS PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN COLOMBIA: ANÁLISIS DE 11 MARCADORES MOLECULARES.

Forero D, Belalcazar H, Benitez B, Alvarez C, Camelo D, Yunis J, Lozano J, Duarte N, Parra G, Arango G, Arboleda G, Pardo R, Fernandez W, Lopez L, Arboleda H (1).

Grupo de Neurociencias, Universidad Nacional de Colombia.
Bogotá, Colombia.

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las principales enfermedades neurodegenerativas en el mundo. Los aspectos genéticos de la EA se han descrito como cruciales en la fisiopatología de la EA. En nuestro análisis, estudiamos 110 pacientes con EA diagnosticados en Bogotá según los criterios internacionales por nuestro equipo interdisciplinario, y

se realizaron las comparaciones con los respectivos controles pareados por género y edad.

Se estudiaron 11 marcadores moleculares: 5 polimorfismos en el gen APOE (cinco SNPs), 1 en el gen ACE I (un I/D), 1 en el gen NACP (un microsatélite), 1 en el gen A2M (un I/D), 1 en el gen LRP1 (un SNP), 1 en el gen TAU (un microsatélite) y 1 en el gen HTT (un VNTR), mediante metodologías de genética molecular basadas en PCR (PCR-PAGE; PCR-RFLP ó PCR-ASO dependiendo del polimorfismo). Adicionalmente, se analizaron niveles de lípidos y apoE en suero mediante técnicas enzimáticas y ELISA. Se realizaron comparaciones de frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas entre pacientes y controles en la muestra total y en submuestras estratificadas utilizando la prueba X² y el test de Fisher. En este trabajo, que es uno de los primeros en Latinoamérica que analiza varios marcadores de susceptibilidad en conjunto, se encuentran diferencias con los factores genéticos de riesgo descritos en población europea y asiática; se describen nuevas asociaciones y correlaciones y no se confirman otras publicadas previamente. Se propone un aumento de la muestra y del número de marcadores estudiados, así como el análisis del efecto funcional de estos cambios genéticos descritos como factores de riesgo, para profundizar en la fisiopatología molecular de la EA en nuestra población.

**DISTRIBUCIÓN DE NEURONAS INMUNORREACTIVAS
PARA PARVOALBÚMINA EN LA CORTEZA FRONTOPOLAR
HUMANA**

Efraín Buriticá estudiante de maestría en
neurociencias. Centro de Estudios Cerebrales,
Facultad de Salud, Universidad del Valle

Múltiples líneas de evidencia resaltan la importancia del papel de las conexiones locales llevadas a cabo por las células GABAérgicas en la corteza prefrontal para la ejecución de las funciones mentales superiores. Continuar con la comprensión de la funcionalidad de la corteza prefrontal, y en particular de la corteza frontopolar, así como de su conectividad intrínseca requiere estudiar sus particularidades quimioarquitectónicas.

En primates, se han realizado estudios cuantitativos de la distribución de neuronas GABAérgicas en la corteza frontopolar en las caras orbital y dorsal. Y en humanos, se han llevado a cabo descripciones cualitativas del marcaje de las proteínas atrapadoras de calcio en esta misma región cortical.

El objetivo general de esta presentación es dar a conocer algunos hallazgos preliminares en el tema de determinar la distribución (densidad) laminar de un subgrupo de células GABAérgicas (las que contienen Parvoalbúmina) en el área 10 de la corteza prefrontal dorsolateral de seis sujetos humanos, los cuales permitirán establecer datos cuantitativos más precisos acerca de la organización quimioarquitectónica de esta área; y a su vez, proporcionar bases para la realización de estudios comparativos entre distintos sectores de la corteza cerebral, entre primates, así como para identificar cambios en condiciones patológicas.

**COMPARTIMENTACION INTERCELULAR DEL ACETATO
EN NEURONAS Y ASTROCITOS DURANTE LA
PRELACTANCIA**

Saavedra FL, Tovar, JA y Guzmán, E.

Laboratorio de Neurobioquímica, Pontificia Universidad
Javeriana.

Correspondencia: Jairo Alfonso Tovar Franco, M.Sc., Ph.D.

La síntesis y liberación de sustratos por las neuronas y los astrocitos provoca un descenso en los niveles de intermediarios del TCA lo que les obliga a establecer una compartimentación temprana entre los dos tipos de células así como un incremento en la fijación de CO₂ para mantener los niveles de estos sustratos. El ciclo más importante que involucra la compartimentación de sustratos entre neuronas y astrocitos es el ciclo glutamina/glutamato. Adicionalmente, los astrocitos liberan otros sustratos como la alanina, citrato, glutamato, aspartato, a-KG, succinato, serina, etc., los cuales son captados por las neuronas. Los astrocitos pueden captar de las neuronas sustratos como alanina, aspartato y NAA. Durante la prelactancia los niveles de glucosa son bajos, lo que induce a el cerebro a optimizar la utilización de sustratos para mantener su desarrollo, entre estos sustratos se encuentra el acetato, el cual es utilizado como precursor oxidativo y lipogénico. El metabolismo de este sustrato puede verse mejorado a través de las reacciones fijadoras de CO₂ presentes en estas células, como lo indican los resultados obtenidos en este trabajo donde las neuronas manifestaron una menor capacidad para fijar carbonos en estructuras celulares y una mejor capacidad para la producción de energía y sustratos que son liberados como neurotransmisores y posiblemente en mayor proporción NAA y NAAG. Los astrocitos utilizaron mejor el acetato a través de estas reacciones para la producción de lípidos como para la síntesis de sustratos que son liberados tales como glutamina y ácido oleico.

Palabras clave: Acetato, astrocitos, intercelular, neuronas, prelactancia.

Apoyo financiero. Colciencias – PUJ . Proyecto 1203-05-10121

ESTUDIO DE FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICOS PARA LA ENFERMEDAD DE PARKINSON EN COLOMBIA: ANÁLISIS DE 10 MARCADORES MOLECULARES.

Belalcazar H, Benitez B, Forero D, Alvarez C, Camelo D, Yunis J, Lozano J, Duarte N, Parra G, Arango G, Arboleda G, Pardo R, Fernandez W, Lopez L, Arboleda H (1).

Grupo de Neurociencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

La Enfermedad de Parkinson (EP) es una de las principales enfermedades neurodegenerativas en el mundo, con un gran impacto sobre los pacientes y sus familias. Aunque los aspectos genéticos de la EP han sido analizados ampliamente en otros países y se han encontrado como cruciales en la etiopatogenia de la EP, no hay estudios en Latinoamérica al respecto reportados. En este trabajo, estudiamos 52 pacientes con EP que viven en Bogotá, diagnosticados según los criterios internacionales por nuestro equipo interdisciplinario, y los respectivos controles pareados por sexo y edad.

Se estudiaron 10 marcadores moleculares: 5 polimorfismos en el gen APOE (cinco SNPs), 2 en el gen ACE I (un I/D y 1 SNP), 1 en el gen NACP (un microsatélite), 1 en el gen TAU (un microsatélite) y 1 en el gen UCHL1 (un SNP), mediante metodologías de genética molecular basadas en PCR (PCR-PAGE; PCR-RFLP ó PCR-ASO, dependiendo del polimorfismo). Se realizaron comparaciones de frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas entre pacientes y controles en la muestra total y en submuestras estratificadas utilizando la prueba X² y el test de fisher. En este trabajo, que es uno de los primeros en el área en Latinoamérica, se encuentran diferencias con los factores genéticos de riesgo descritos en población europea y asiática; se describen nuevas asociaciones y no se confirman otras publicadas previamente. Se propone un aumento de la muestra y del número de marcadores estudiados, así como el análisis del efecto funcional de estos cambios genéticos descritos como factores de riesgo, para

profundizar en la fisiopatología molecular de la EP en nuestra población.

COMPARTIMENTACION INTRACELULAR DEL ACETATO EN NEURONAS Y ASTROCITOS DURANTE LA PRELACTANCIA

Tovar, JA, Barrios BL, Salazar A, Saavedra FL, Albarracín, SL y Guzmán, E.

Laboratorio de Neurobioquímica, Pontificia Universidad Javeriana

Se estudió la capacidad del acetato comparándolo con el lactato como sustrato energético y lipogénico durante el desarrollo de las neuronas y los astrocitos. Se reafirma al lactato como el sustrato oxidativo y lipogénico que metabolizan preferentemente las neuronas y los astrocitos en la prelactancia. No obstante, el acetato demostró que puede contribuir un 50% al mantenimiento de la respiración y un 76% para ayudar a sostener la lipogénesis de las neuronas. Por otro lado, en los astrocitos el acetato puede llegar a contribuir un 14% para ayudar a mantener la respiración y entre un 10% a la lipogénesis.

El trabajo con acetato (5 mM), [U-¹⁴C], [1-¹⁴C] y [2-¹⁴C]-acetato ha revelado que las neuronas y los astrocitos en cultivo primario son capaces de utilizar este sustrato como precursor oxidativo y lipogénico, demostrándose la actividad de las acetil-CoA sintetasas, la isoforma citosólica AceSC1 (EC 6.2.1.13) relacionada con la lipogénesis y la isoforma mitocondrial AceSC2 (EC 6.2.1.1) relacionada con la respiración. La actividad de las isoformas neuronales fue mas alta que las astrocíticas, mostrando una mejor capacidad para utilizar el acetato durante la prelactancia. Al comparar las velocidades de utilización de carbonos del acetato entre neuronas y astrocitos quiescentes, se encontraron diferencias significativas (p<0.05) en la utilización del [U-¹⁴C]-acetato por las neuronas, que lo utilizan en un 34% como sustrato oxidativo y un 64% como sustrato lipogénico mas que los astrocitos. Los resultados señalan una posible diferencia en la expresión y afinidad por el acetato en los transportadores de monocarboxilatos.

Palabras clave: Acetato, astrocitos, intracelular, neuronas, prelactancia.

Apoyo financiero: Colciencias – PUJ . Proyecto 1203-05-10121

HETEROGENEIDAD FUNCIONAL Y ESTRUCTURAL DE CORTEZA ORBITOFONTAL

John Umbarila

Estudiante de Maestría Centro de Estudios Cerebrales
Facultad de Salud Universidad del Valle

En las especializaciones a nivel molecular, celular y laminar subyacen las diferencias filogenéticas entre regiones de la corteza cerebral humana y en comparación con otros mamíferos, en especial con los primates. Los primeros estudios estructurales de la corteza cerebral en mamíferos permitieron realizar comparaciones evolutivas globales entre especies. Desde hace tres décadas se viene planteando que el carácter eulaminado de la neocorteza tiene origen en dos progresiones corticales confluyentes desde el paleocortex y el archicortex. En los últimos años se están obteniendo importantes datos experimentales en primates a partir de técnicas inmunohistoquímicas modernas que corroboran los gradientes de granularidad en dirección rostral y tendencias en la densidad de poblaciones específicas de células inmunoreactivas a proteínas atraparoras de calcio detallando algunas características neuroquímicas de esta región. Otros estudios comparativos entre áreas corticales con técnicas convencionales como la tinción de Golgi proponen variabilidad entre áreas en correspondencia con sus atributos funcionales en cuanto a las marcadas diferencias de complejización del neuropilo, es decir, mayor arborización dendrítica y densidad en las espinas dendríticas de las neuronas piramidales según sea sensorial primaria o asociativa de alta integración heteromodal como el caso de la zona frontopolar. Evidencia de esto se han surgido de estudios neopaleontológicos específicos para el área frontopolar, los cuales establecieron una amplia divergencia cuantitativa a nivel celular del humano frente a otros primates.

Otra especialización evolutiva interesante se relaciona con la lateralización funcional entre los hemisferios cerebrales, las más conocidas y estudiadas e incluso a nivel estructural son las áreas asociativas del lenguaje. En la escala evolutiva los humanos parecen llevar la delantera en asimetría funcional, no obstante son muy pocos los estudios morfométricos en este aspecto que sustentan las diferencias interhemisféricas en el orden microestructural, por lo que probablemente los correlatos clínicos de las áreas asociativas de alto orden aun no adquieren la claridad necesaria.

MODIFICACIONES INDUCIDAS POR EL APRENDIZAJE EN EL SISTEMA MOTOR DE LAS VIBRISAS

Rosa Margarita Gómez Ph.D. (c)¹, José María
Delgado-García¹ y Alejandro Múnera²

En este trabajo se exploró la plasticidad del sistema sensitivo-motor de las vibrisas induciendo en ratones la adquisición de dos tareas motoras distintas, mediante el condicionamiento clásico, usando tres paradigmas de traza distintos. Se logró la adquisición de respuestas palpebrales condicionadas utilizando un leve choque eléctrico en el parche de vibrisas como estímulo condicionado y un choque eléctrico intenso en la región periorbitaria como estímulo incondicionado. También se logró la adquisición de respuestas condicionadas de protracción de las vibrisas utilizando, como estímulo condicionado, ya sea un leve choque eléctrico en el parche de vibrisas o un tono de corta duración, en asociación temporal con un choque eléctrico intenso en el parche de vibrisas como estímulo incondicionado. Adicionalmente, durante el condicionamiento con un tono y un choque eléctrico intenso en las vibrisas, se hicieron registros de la actividad electrocorticográfica en la corteza motora primaria relacionada con el control de las vibrisas. Se identificaron los componentes estables del potencial provocado en la corteza motora por la presentación del tono y se estudiaron las modificaciones de los mismos a lo largo del proceso de condicionamiento, encontrando evidencias de la participación de la corteza motora primaria en la generación de respuestas condicionadas de protracción de las vibrisas.

NUEVOS MODELOS DE CULTIVO DE CÉLULAS DE ORIGEN NERVIOSO

Leslie Leal, Sandra Perdomo y Clara Spinel
Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física y
Departamento de Biología, Universidad Nacional de
Colombia.

Con el fin de desarrollar una prótesis de origen biológico, similar en tamaño y estructura al nervio periférico lesionado, se han estudiado los diferentes componentes celulares del mismo. Uno de ellos muy importante para la regeneración son los fibroblastos de origen nervioso, específicamente los fibroblastos endoneurales, ya que promueven la producción y remodelación de elementos de la matriz extracelular, que a la vez de proporcionar soporte a los diferentes elementos del nervio en regeneración. Los diferentes elementos de la matriz

¹Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España.

²Universidad Nacional de Colombia

extracelular son controlados principalmente por los fibroblastos, y durante el desarrollo embrionario son la guía para el crecimiento de las células gliales y las prolongaciones del nervio hasta lograr su correcta ubicación en el organismo. Por lo tanto se hace necesario el estudio de FE como se conoce para las células de Schwann y empezar a tener conocimientos de estas células para poderlos incluir con células de Schwann en futuras prótesis de nervios periféricos. El objetivo de este trabajo es aislar y lograr el cultivo de FE purificados de nervios ciáticos de ratón adulto. Se desarrollaron diferentes métodos de disección y digestión para obtener los cultivos primarios de FE puros y estudiarlos como se ha hecho con las células de Schwann. Se logró aislar selectivamente los FE, alcanzado la confluencia entre el cuarto y el quinto día de cultivo primario en monocapa. Estos fibroblastos endoneurales fueron cultivados dentro de geles de colágeno hasta 30 días y se estudió la distribución y mantenimiento del cultivo tridimensional. En este estudio, se logró la purificación de fibroblastos endoneurales en cultivos en monocapa y en cultivo tridimensionales.

LESION NEURONAL: TRAUMA VS. ISQUEMIA DOS ETIOLOGIAS, UNA MISMA FISIOPATOLOGIA?

Liliana Villamil

Estudiante de Maestría Centro de Estudios Cerebrales
Facultad de Salud Universidad Del Valle

La isquemia cerebral es el resultado de gran variedad de causas que disminuyen el flujo sanguíneo cerebral (FSC), con una privación de oxígeno y glucosa, que al persistir llevan a muerte neuronal, se reconoce un foco isquémico con dos zonas: una central de infarto y una en el límite de penumbra. Estas zonas dependen de su circulación colateral. Al caer la presión de perfusión por debajo del nivel crítico (12-18 ml/100 g/min) se inicia la cascada de mecanismos bioquímicos: alteración en el balance del calcio celular, acidosis regional y producción de radicales libres. La actividad eléctrica cesa con flujos por debajo de 16 a 18 ml/100 g/min. Las células de la zona de penumbra pueden sufrir lesiones irreversibles con muerte celular, o lesiones reversibles que pueden o no llevar a apoptosis (muerte celular programada), la apoptosis se considera como una muerte natural fisiológica responsable de más del 50% de muerte celular en isquemia

El metabolismo energético cerebral es adecuadamente mantenido por varios minutos incluso en grados pronunciados de hipoxemia., debido a: diferentes mecanismos compensatorios que se han tratado de usar como estrategias de neuroprotección.

En el Trauma Cerebral TBI (siglas en inglés) la lesión o daño cerebral primario se presenta en el momento mismo del impacto, y es dependiente del grado de fuerza aplicada al cerebro, siendo además el principal factor que decide si la lesión es viable o no. Esta incluye la lesión axonal difusa (LAD), la contusión o laceración cerebral (CC) y la hemorragia subdural (HSD) o epidural (HED); esta primera lesión deja el tejido cerebral muy vulnerable a todo tipo de agresiones externas, que se presentan, desencadenan un daño neurológico mayor (lesión Secundaria), esta lesión es mediada por excitotoxicidad, formación de radicales libres, inflamación y apoptosis los cuales llevan a un deterioro posterior importante, disminuyendo así la posibilidad de una completa recuperación en los pacientes. La mayor susceptibilidad del tejido cerebral a estas injurias externas, se presenta durante las primeras horas (6 horas) después del trauma, aunque puede permanecer hasta 2 ó 3 semanas después.

La prevención y el tratamiento de la isquemia cerebral es el objetivo principal en el manejo del paciente posterior a trauma cerebral agudo, reconociendo así que dos etiologías diferentes comparten mecanismos fisiopatológicos similares responsables del daño neuronal.

Palabras claves: TBI, Isquemia, Excitotoxicidad, radicales libres, Apoptosis.

IMPACTO DE LA ESTIMULACION TEMPRANA SOBRE LA EXPOSICION PRENATAL A COCAINA EN LA EMOCIONALIDAD Y EL CONSUMO VOLUNTARIO DE COCAINA EN EL RATON

Maria del Pilar Santacruz

Centro de Estudios e Investigaciones en Adicciones y
Violencia
Universidad Católica de Colombia. Bogotá

Se evaluaron los efectos de la estimulación temprana sobre los efectos teratogénicos de exposición prenatal crónica de cocaína (30 mg/kg) en la Emocionalidad y en el consumo voluntario de cocaína (30 mg/kg).

Se utilizaron tres grupos para el presente estudio experimental, uno control y dos experimentales expuestos in utero a la cocaína 30mg/kg (día 8-21 gestación); a los hijos de un grupo experimental se estimuló tempranamente hasta el destete. En la 5ª semana de edad se evaluó la Emocionalidad, el consumo voluntario de cocaína durante 7 días y nuevamente la emocionalidad en todos los sujetos del estudio. Los datos se analizaron por medio del Análisis Multivariado para la

emocionalidad y para la bebida. Análisis factorial de medidas repetidas. La estimulación posnatal temprana revirtió las alteraciones en la emocionalidad, causadas por la exposición materna a cocaína en periodo de gestación.

PARTICIPACION DE ESTRUCTURAS LÍMBICAS EN LA MODULACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EXPLORATORIO DE LA RATA

Marisol Lamprea Rodríguez, Ms.C., Ph.D.
Universidad Nacional de Colombia.

El núcleo septal medial y el complejo amigdalóide son estructuras

límbicas tradicionalmente asociadas con la modulación de la ansiedad, la

exploración y el aprendizaje emocional. En la literatura, existen resultados conflictivos sobre el papel diferencial de estas estructuras en el repertorio exploratorio de ratas en situaciones nuevas potencialmente peligrosas, como el laberinto en cruz elevado, un modelo animal de ansiedad ampliamente utilizado en investigaciones farmacológicas.

El estudio que se presenta tuvo como objetivo evaluar el efecto de la

inactivación temporal del núcleo septal medial y del complejo amigdalóide mediante la microinyección local de lidocaína antes de una primera exploración del laberinto en cruz elevado o antes de una nueva visita a este mismo ambiente. Los resultados mostraron que la inactivación temporal del núcleo septal medial aumentó la exploración de las regiones de mayor riesgo del laberinto sin alterar la exploración de otras regiones del mismo en las dos condiciones propuestas. Por su parte, la inactivación del complejo amigdalóide antes de la primera exploración aumentó el tiempo de permanencia en el área más insegura del laberinto, mientras que la inactivación antes de la segunda visita no produjo efectos significativos.

Finalmente, la inactivación de la amígdala antes de la segunda visita al laberinto en animales que recibieron inyección de lidocaína antes de la primera visita produjo un aumento en las visitas al área insegura del laberinto, como observado en los animales inyectados antes de la primera visita.

Los resultados confirman reportes anteriores acerca del efecto ansiolítico producido por la lesión del núcleo

septal medial, pero contrastan con la ausencia de resultados observados tras la lesión de la amígdala descrita en trabajos anteriores. Igualmente, permiten sugerir que la inactivación del septum, además de disminuir la aversión a los espacios abiertos, es capaz de inhibir el almacenamiento de la información espacial, lo que permite a las ratas evitar las visitas a éstos en una presentación posterior.

ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS AXONALES AGUDOS POST-SECCION EN MEDULA ESPINAL DE RATA NEONATAL CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE SCANNING.

Alberto Pinzón^{1,2}, Nicolás García¹

El objetivo de este estudio fue analizar los cambios agudos que se presentan en la estructura axonal después de una sección medular. Para ello se emplearon medulas espinales de ratas neonatales seccionadas a diferentes intervalos de tiempo. Alteraciones de la morfología axonal fueron observadas con el microscopio electrónico de scanning. Los resultados muestran que la estructura axonal varía sustancialmente a medida que transcurre el tiempo después de la sección. Los axones a las 2 horas de la lesión pierden el orden de sus fibras y el volumen en el área distal, asociado a una retracción de la membrana. En contraste, en el SNP 2 horas después de la sección, se encuentra una organización de las fibras similar a la normal y una menor retracción de la membrana axonal.

Palabras claves: Microscopio electrónico de scanning, trauma raquímedular, axón, rata neonatal.

1 Laboratorio de Neurociencias, Área Biología Molecular, Universidad de la Sabana.

2 The Miami Project to Cure Paralysis and the Department of Neurological Surgery, University of Miami.

CITOPATOLOGIA NEURONAL NO CONVENCIONAL EN LA CORTEZA CEREBRAL AFECTADA POR RABIA

Orlando Torres-Fernández, MSc, PhD (1), Gloria E. Yepes (1), Javier E. Gómez, MSc (1), Hernán J. Pimienta, MSc (2).

Hay muchos interrogantes por resolver en relación con los efectos de la infección rábica sobre la estructura y función de las células nerviosas, su blanco principal. A

(1) Laboratorio de Microscopía, Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá.

(2) Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali.

pesar de la severidad de los síntomas clínicos en la rabia, apenas sí se presentan leves alteraciones histopatológicas cerebrales observadas con los métodos convencionales. Por esta razón, algunos autores consideran que el carácter letal de la rabia se sustenta más en cambios bioquímicos que en el daño neuronal estructural. Como alternativa para investigar sobre la patología de la rabia se utilizaron métodos de estudio celular desarrollados por la neurociencia básica, para profundizar en el conocimiento de los efectos de esta infección viral sobre la estructura y función neuronal, tal como se ha llevado a cabo con otras neuropatologías. Así, el propósito de este trabajo fue examinar detalles estructurales y citoquímicos de las neuronas corticales del cerebro de ratón afectado por rabia. Se estudió la expresión de tres proteínas ligadoras de calcio: parvalbúmina, calbindina y calretinina con resultados diferentes para cada una de ellas. Se encontró que el virus no es selectivo sino que está en capacidad de penetrar en cualquiera de los tipos neuronales y se demostró que la patología cerebral de la rabia sí tiene un componente morfológico importante, manifestado en alteraciones dendríticas de las neuronas piramidales; por lo tanto, la patología de la rabia no se explica únicamente por disfunción bioquímica. Finalmente, se ratificó la diferencia patogénica entre los dos tipos de virus, 'calle' y 'fijo', característicos de la rabia.

La amígdala, la sustancia gris periacueductal, el núcleo dorsomediano del tálamo, los núcleos de la base, los núcleos del puente, la sustancia negra reticular y la formación reticular son las principales conexiones subcorticales; el hipocampo, las áreas prefrontales, las áreas sensoriales secundarias son las corticales. Sin embargo la conectividad de la corteza prefrontal defiere para los tres sectores (lateral, medial y orbital) delimitando así tres unidades funcionales distintas. La corteza lateral prefrontal se relaciona con las funciones ejecutivas y ha sido una de las regiones más exploradas, la corteza medial prefrontal se relaciona con las funciones de motivación y la corteza orbital prefrontal (OFC) con la conducta social. Esta última ha sido "menos explorada que otros sectores prefrontales como la corteza prefrontal lateral". Cavada y col 2000.

Recientes trabajos en primates humanos y no humanos han dado luces de la importancia funcional de la OFC que la relacionan con la personalidad, la emoción y la conducta social (Eslinger y Damasio 1985 Stuss y Benson 1986 Fuster 1981 Mallov et al 1993).

La depresión mayor (raskowsya et al 1999, Drevets et al 1992 Öngür et al 1988) con la conducta de placer y aversión según relación con la alimentación (Öngür y Price 2000).

LA CORTEZA PREFRONTAL: CONECTIVIDAD Y ASPECTOS FUNCIONALES

Oscar Perlaza Lozano

Psicólogo y maestría en neurociencias de la universidad del valle. Miembro del centro de estudios cerebrales

El lóbulo Frontal del cerebro es una región anatómica y funcionalmente heterogénea, La corteza prefrontal (CPF) constituye un área cortical cerebral en el lóbulo frontal rostral a la corteza motora (GP) y premotora (AMS) Groenewegen y Uylings 2000.

En los primates humanos y no humanos se identifican en estas regiones prefrontales las áreas 9, 10, 11, 12, 13, 14, 46, 24, 25 y 32 en las caras lateral, basal y medial (Walter, Öngür y Price, Price)

La corteza prefrontal además se encuentra conectada recíprocamente con diversas estructuras corticales y subcorticales. Una característica importante que sirve de criterio en la definición de la corteza prefrontal es su conectividad con el núcleo dorsomediano del tálamo.

MANEJO DEL NERVIIO CIÁTICO DE RATÓN ADULTO PARA OBTENER CÉLULAS PERINEURALES.

Oscar Vivas y Clara Spinel

Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física y Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.

El tejido perineural constituye la envoltura periférica de los fascículos nerviosos. Las células que lo constituyen son aplanadas, poligonales interconectadas por uniones cerradas, desmosomas y presentan lamina basal de lado y lado entre ellas, formando capas concéntricas alrededor de las fibras mielínicas y amielínicas, presentan vesículas pinocíticas y zonas densas subplasmalemales. La función normal del perineuro es proteger mecánica y dinámicamente a las fibras nerviosas (axón-célula de Schwann), evitar la entrada de patógenos y actuar como barrera de difusión creando un ambiente intrafascicular óptimo para la transmisión del impulso nervioso. Estas características lo hacen un posible elemento importante dentro de una prótesis nerviosa para asemejar un nervio *in vivo* y hace pensar que sea favorable para crear un ambiente de regeneración. El cultivo y manejo de las

células perineurales se realizó hasta los 80's, desde entonces no hay citas sobre este tema. Manejando una microdissección controlada del nervio ciático de ratón adulto y cultivando en diferentes condiciones el perineuro, hemos logrado establecer las condiciones apropiadas para obtener un cultivo de células perineurales. Creemos que las posibles razones por las cuales se discontinuó el trabajo con estas células, son la complejidad del establecimiento y del mantenimiento de su cultivo. Se logró la formación de capas perineurales similar el perineuro y tenemos la esperanza de hacer uso de sus propiedades en la elaboración de una prótesis nerviosa, como se emplea el epimisio en la regeneración de nervio periférico.

**ESTUDIOS VOLTAMÉTRICOS EN CULTIVOS DE
CÉLULAS CROMAFFIN PARA DEFINIR
LA LIBERACIÓN DE CATECOLAMINAS AL ESTIMULO
ELÉCTRICO**

Alberto Pinzón, Paula Agudelo

Neuromuscular Physiology Laboratory Miami Project To
Cure Paralysis, School of Medicine. University of Miami.
Laboratorio de Neurociencias Universidad de La Sabana.

Presentación oral: Rosa Margarita Gomez. PhD (c).

Las células cromafin (CC) son una importante fuente de catecolaminas y de factores de crecimiento. Debido a su importancia, diferentes patologías neurológicas han sido estudiadas con el trasplante de CC. Las desventajas en estos estudios están relacionadas con la baja supervivencia del injerto y de los bajos niveles de producción de catecolaminas. Estudios previos *in vitro* han demostrado que la producción basal de los niveles de catecolaminas en cultivos de CC. Sin embargo, no hay una producción basal de catecolaminas en cultivos permanentes de CC que hayan sido estudiados a largo plazo. El objetivo del presente estudio fue registrar los niveles basales y evocados de estos tipos celulares que fueron obtenidos de las glándulas adrenales de bovinos adultos y sembradas en discos de microcultivos (50k n=3; 100k n=9) con soporte de una base de platino (50Hz, 100-250*715s). La producción basal y eléctrica de los cultivos de CC fueron registradas utilizando un voltámetro cíclico con electrodos de carbono a diferentes intervalos de tiempo (20d, 40d, 60d, 90). El conteo celular de cada tiempo fue evaluado usando un microscopio invertido. Después de 120 días las células cromafin fueron marcadas para TH, DBH, PNMT y To-pro marcador nuclear. La producción de niveles basales de compuestos electroactivos de los cultivos a largo término presentaban un decrecimiento en la detección desde el

inicio hasta los 2 meses. La estimulación eléctrica de estas células mostraron la producción de catecolaminas en un rango nanomolar, el cuál reportó el mejor entre una estimulación de 200 – 250mA a un mes. La microscopía confocal revela que muchos de estos cultivos de estas CC fueron adrenérgicas y noradrenérgicas. Este estudio muestra que una población permanente de cultivos celulares de CC pueden ser mantenidos a largo plazo y que pueden ser fisiológicamente activos en condiciones de estimulación eléctrica.

**EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL: EVALUACIÓN
PRE Y POST QUIRÚRGICA.**

Jaime Fandino-Franky M.D.

Presidente de la Liga Colombiana Contra la Epilepsia
Director de los programas de Cirugía de las Epilepsias
Hospital Neurológico en la Liga Colombiana contra la
Epilepsia.

Cartagena de Indias.

La complejidad morfofuncional del sistema nervioso central lleva consigo una gran complejidad de los síntomas y signos de la llamada epilepsia del lóbulo temporal. Igualmente permite prever la complejidad de los efectos post-operatorios al hacer desconexión de circuitos y abolición brusca de neurotransmisores. En la nueva clasificación de las epilepsias de la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) hay epilepsias que nacen del hipocampo, de la amígdala o del neocórtex. Algunas formas tienen su marcapaso y zona epileptógena en otro lóbulo y llegan al temporal (LT) por fibras de asociación como las originadas en la zona orbitofrontal (fascículo arcuato), siendo el LT solamente una zona sintomatológica. Igualmente, la detección del marcapaso (pace-maker) implicará la postura de electrodos subdurales y en muy pocos casos electrodos de profundidad. Pero siempre electrodos esfenoideales y el estudio con video-EEG prolongado.

Evaluación prequirúrgica para cirugía del lóbulo temporal (CLT). Para que un paciente entre a protocolo de cirugía de epilepsia, se requiere que haya sido declarado intratable médicamente (epilepsia refractaria). Para esto, existen protocolos que cada escuela adopta pero que se basan en principios universales. El tratamiento de la epilepsia continúa siendo muy difícil, a pesar de la investigación y avances en los últimos tiempos. Aunque el objetivo de la terapia es el control de las crisis, solo en 50% queda controlado después de la primera medicación. El 30% necesitará adicionar otra medicación y un 25% aproximadamente tendrá una epilepsia refractaria a dos fármacos; es decir, tendrán que ser sometidos a

valoración para cirugía. En pruebas clínicas recientes con medicaciones de última generación, en 300 pacientes, menos del 2% de estos permaneció libre de crisis

(Brodie, 2004.).

Un departamento de Neuropsicología es indispensable para evaluar estos pacientes, lo mismo que una tecnología fundamental (RM, Escanografía, laboratorio clínico, electrofisiología EEG, video-EEG). Un departamento de neurología y neurocirugía con personal entrenado, ambos, en epileptología y dominio del tratamiento médico. Neurorradiólogos y neuroanestesiólogos. Un personal de rehabilitación y ayuda social para personas con epilepsia y pacientes operados de epilepsia y una solvencia económica que augure el éxito del programa. En lo posible, un hospital neurológico dedicado a estas disciplinas y programa sin ánimo de lucro.

Protocolo de evaluación para CLT. Se ha presentado un protocolo para América Latina que aún no ha sido publicado. Daremos el protocolo aprobado para la Liga Colombiana contra la Epilepsia-Hospital Neurológico.

Un paciente es intratable médicamente cuando:

- Haya sido sometido a tratamiento médico con mínimo dos drogas fundamentales, controladas por niveles séricos, y quizá una de última generación, por un tiempo prudencial, por especialistas y con dosis a máxima tolerancia.
- Diagnóstico claro de los 5 ejes (ILAE): semiología, tipo de crisis, etiología, síndrome e impedimento.
- Casos propios del mundo en desarrollo en que el estado biopsicosocial precario impida el tratamiento médico (desprotección absoluta y epilepsia de predicción quirúrgica).

Fases para la CLT. Todo paciente candidato deberá someterse a estas fases, previas a la cirugía:

Fase I (En consulta externa). Se declara el paciente intratable médicamente. Se solicita una resonancia magnética, estudios de neuropsicología, psiquiatría (en casos premórbidos), estudios del lenguaje y EEG con electrodos esfenoidales.

Fase II. video EEG.(hospitalización en la Unidad de Monitoreo de Epilepsia U.M.E.). Se deben observar las crisis que sean necesarias para el diagnóstico EEGráfico y de la semiología y tipo de crisis.

Fase III Junta de Decisiones del grupo y luego con la familia y, en lo posible, con el paciente. Se explica la decisión y se muestra el video al paciente. Se toma decisión de aplicar electrodos intra craneanos o no.

Fase IV. Colocación de electrodos subdurales o de profundidad y nueva video EEG. como en Fase II.

Fase V. Junta de decisiones. Como en la Fase III.

Fase VI. Cirugía.

Fase VII Control a los 3 meses de la cirugía para iniciar programa de rehabilitación neuro psicológica.

Evaluación neuropsicológica. Especial cuidado debe tenerse en la evaluación de la memoria verbal y no verbal, que nos muestra la lateralidad. Pero también pruebas de inteligencia y un estudio de la personalidad, dado que es frecuente encontrar pacientes premórbidos que en el post operatorio desarrollan un síndrome de “schizophrenia-like” o un estado depresivo.

Principio de la Convergencia. Lo ideal es que todos los estudios confluyan a un foco: La imagen (por ejemplo, una esclerosis mesial), los estudios de neuropsicología (memoria), el tipo de crisis (en lo posible altamente estereotipada) y los hallazgos electroencefalográficos en el video (con electrodos esfenoidales).

Evaluación Post quirúrgica. Una vez dado de alta el paciente del hospital, se cita en tres meses para una evaluación de su estado neuropsicológico y del lenguaje; detectar secuelas y proponer, en este caso, nuestro programa de rehabilitación neuropsicológica que básicamente consiste en una cuantificación del repertorio psicológico, del lenguaje y físico, confrontado con el que debiera tener normalmente a su edad y se calcula a cuánto podría llegarse en 10 ciclos Se dan programas para períodos de tres meses cada uno para un total de 10, que pueden extenderse a más si es necesario.

Ejemplo:

Un paciente a los tres meses del post-operatorio presenta un porcentaje de su repertorio de habilidades de un 25% de lo que debiera tener normalmente y se decide (por evaluaciones muy técnicas) que en 10 ciclos llegaría a un 45% del repertorio que debiera tener normalmente. Se explica a la familia y se instruye sobre el programa en casa. Cada tres meses regresará para evaluación de cumplimiento y nuevo pensum. Al llegar al 45% se decide si continuar o no. Para todo el desarrollo del programa estamos haciendo un trabajo de investigación, que ya está avanzado, basados en la teoría del engrama de Karl

Lashley, que hemos encontrado muy aplicable a nuestros pacientes operados de epilepsia.

Desde el punto de vista médico, el paciente deberá seguir la medicación en monoterapia, la que se evaluará cada vez que venga el paciente a control. Usamos la clasificación internacional de Engel para la evaluación del estado post operatorio, que consta de 4 estados con 4 subdivisiones cada uno.

Técnica Quirúrgica. Naturalmente la extirpación del neocórtex será de menor extensión en el lado dominante por el peligro de hacer daño a las conexiones fásicas. Hacemos la lobectomía temporal anterior en bloque (resección del neocórtex y amígdalo-hipocampectía). La extensión de la resección del hipocampo será de 3 cm. respetando el fornix; la amígdala se extrae por succión.

Experiencia en el Hospital Neurológico en la Liga Colombiana contra la Epilepsia. Hasta el mes de septiembre del 2004 hemos hecho 489 cirugías de epilepsia; así:

Cirugías paliativas (callosotomías)162

Cirugías terapéuticas:

1.	Lobectomías temporales en bloque.....	242
2.	Hemisferectomías.....	37
3.	Cirugías focales.....	16
4.	Lesionectomías.....	32
5.	Colocación de electrodos subdurales.....	142
	Total.....	489

Del lóbulo temporal tenemos el 79% de los pacientes libres de crisis (estado I de Engel). 15% en estado I y el resto, 6% en estado III o IV.

INFLUENCIA DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN LA PRODUCCIÓN DE SEROTONINA (5-HT) Y FACTOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DEL CEREBRO (BDNF) EN MICROCULTIVOS DE CÉLULAS EMBRIONARIAS DEL RAFÉ MEDIO (RN46A) DE RATAS

Rosa Margarita Gómez, Alberto Pinzón

Neuromuscular Physiology Laboratory Miami Project To Cure Paralysis, School of Medicine. University of Miami.

Laboratorio de Neurociencias Universidad de La Sabana.

El sistema serotorinérgico aparece como uno de los principales sistemas de neurotransmisores en el cerebro de mamíferos y su desarrollo ha sido estudiado *in vivo* en el cerebro de rata. Las primeras neuronas serotorinérgicas que han sido identificadas

corresponden al día 13 de gestación. Estas neuronas promueven durante la ontogenia la producción del 5-HT, soportando la maduración y la supervivencia de las neuronas postsinápticas. Además que modula la temperatura del cuerpo, presión de los vasos sanguíneos, el apetito, el comportamiento sexual y el dolor entre otros. Esto hace que actualmente se estén estudiando líneas neuronales transformadas.

En este trabajo se busca evidenciar el posible incremento de la producción de 5-HT en líneas celulares transformadas con el gen de BDNF mediante una estimulación eléctrica. Para ello se cultivaron las líneas celulares RN46A-V1, que carecen del gen y RN46A-B14 que poseen el gen para BDNF, en microcámaras y se estimularon a 200 mA (50Hz) durante 20 segundos en periodos fijos de intervalo de 500s. Se hizo una estimulación en la línea control RN46A-V1 y cuatro estimulaciones en la línea experimental RN46A-B14. Las comparaciones estadísticas se efectuaron con ANOVA ($p < 0.05$). Las líneas celulares se caracterizaron por inmunohistoquímica y microscopia confocal, los resultados en su conjunto muestran que las líneas celulares RN46A-V1 no expresan 5-HT, mientras la línea RN46A-B14 expresa BDNF y secreta 5-HT. Los resultados de la estimulación eléctrica demostraron que ésta no promovió el incremento en la expresión de serotonina en la línea experimental RN46A-B14.

ESTUDIO PRELIMINAR DEL IMPLANTE DE CULTIVOS DE CÉLULAS DE GLÍA ENVOLVENTE DE BULBO OLFATORIO EN LA REGENERACIÓN DE MÉDULA ESPINAL LESIONADA.

Sandra Perdomo, Rosa Margarita Gómez
Laboratorio de Neurociencias. Facultad de
Medicina Universidad de La Sabana.

En Colombia la prevalencia de lesiones de médula espinal por la situación de violencia que vive el país es uno de los problemas que mayor impacto personal y social produce al individuo y su familia modificando la forma de vida y alterando su actividad productiva. El déficit funcional de estas lesiones es severo y permanente y hasta el momento no existe un tratamiento efectivo. En los últimos años los investigadores han trabajado en la búsqueda de nuevas estrategias experimentales de reparación que permitan a los axones lesionados crecer dentro del SNC. En este sentido, el trasplante de células de glía envolvente de bulbo olfatorio constituye una

estrategia terapéutica prometedora para la regeneración de los axones lesionados y la recuperación de las funciones perdidas como consecuencia de la lesión. El objetivo de este estudio es obtener cultivos altamente enriquecidos de células de glía envolvente a partir de bulbos olfatorios de ratas Wistar adultas (250gr) y neonatales (20gr) para su utilización en un modelo animal de lesión medular (n=4). En este trabajo se busca evidenciar la regeneración de fibras lesionadas con la formación de puentes de tejido constituidos por el cultivo de células glía premarcadas con trazadores fluorescente. Lo anterior evaluará el grado de regeneración y el potencial de las células gliales para permitir el crecimiento de los axones.

Resultados Preliminares:

Los cultivos de la glía envolvente olfatoria son de difícil manejo y purificación, ya que provienen de un homogenizado que contiene diferentes tipos de células como astrocitos, oligodendrocitos, microglía y neuronas. Además, al realizar la caracterización inmunocitoquímica de las células, observamos que no solo las células envoltoras olfatorias expresan la proteína p75 sino que también los demás tipos celulares que conforman el bulbo. Por esta razón el grupo está desarrollando paralelamente un estudio de ultra estructura para describir las diferencias existentes entre los tipos celulares. En cuanto a regeneración, observaciones preliminares muestran fibras regeneradas en la médula espinal, y la migración de las células a lo largo de la lesión. Al realizar evaluación motora con la escala de Basso se observó un valor entre 7 y 14, evidenciando mejoría funcional y por ende regeneración axonal.

MICROTRANSPLANTE DE MEMBRANAS EN OVOCITOS DE *XENOPUS*

Zulma Janeth Dueñas

Instituto Nacional de Salud (INAS)

La expresión de proteínas: canales iónicos y receptores en ovocitos de ranas *Xenopus laevis* ha sido un modelo ampliamente utilizado para caracterizar electrofisiológica y farmacológicamente diversas proteínas. Dadas las múltiples ventajas, entre otras, el tamaño y la resistencia que ofrece el ovocito, la inyección de ARN mensajero o de ADN en su interior es relativamente sencilla y proporciona resultados rápidos. La búsqueda de expresión y caracterización de proteínas de membrana en un contexto más fisiológico, nos permitió describir una técnica de microtransplante de membranas celulares en estos ovocitos. Al inyectar membranas dentro del

ovocito, éste no necesita utilizar su propia maquinaria de expresión para traducir el ARN inyectado, por el contrario, los «parches de membrana» llevan consigo las proteínas ancladas en su propio medio ambiente lipídico y probablemente con moléculas propias asociadas. Esta nueva forma directa de estudiar proteínas de membrana ofrece importantes ventajas que nos permiten la caracterización electrofisiológica y farmacológica de receptores en su entorno fisiológico. Un ejemplo claro que ilustra la expresión de receptores utilizando esta metodología es la caracterización de receptores a GABA en el nervio óptico de la rata, donde probablemente, debido a la poca cantidad de tejido y por ende la baja concentración de ARN mensajero inyectado a los ovocitos, no se obtuvieron respuestas a GABA, pero sí se observaron cuando se inyectaron las membranas aisladas.

DISEÑO, CONSTRUCCIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA PARA LA MEDICIÓN DE VARIABLES FISIOLÓGICAS EN PRUEBAS AUTONÓMICAS.

Sergio Andrés Conde Ocazonez, Andrea Santos García, Carlos Conde, Daniel Alfonso Sierra
Bueno

Institución: Universidad Industrial de Santander

Palabras Clave: Sistema nervioso autónomo, variables fisiológicas, electrocardiógrafo, respuesta dermogalvánica, temperatura conducto auditivo externo, adquisición de datos.

En el presente trabajo se describe el proceso de diseño de un equipo destinado para la medición de variables fisiológicas como la actividad eléctrica del corazón, respuesta dermogalvánica y temperatura de los conductos auditivos externos.

Inicialmente, se realiza una introducción teórica donde se abarcan conceptos básicos del sistema nervioso y su efecto en la regulación de dichas variables así como conceptos referentes a las pruebas autonómicas y sus aplicaciones prácticas.

La descripción del proceso de diseño comienza por la selección de los sensores utilizados para realizar las medidas fisiológicas. En seguida se presenta el proceso de acondicionamiento de cada una de las señales donde se incluye la descripción de las etapas de pre-amplificación, aislamiento, filtrado y amplificación final. Para cada una de ellas se exponen los criterios de selección de los dispositivos que las conforman, así como el análisis de ruido y estimación del error realizado

para cada uno de los mismos. En seguida se presenta el proceso de digitalización de las señales explicando el funcionamiento del conversor análogo-digital así como el control del proceso de digitalización realizado por el microcontrolador. A seguir se encuentra la descripción del software desarrollado en LabView® con el objetivo de visualizar cada una de las señales sensadas el cual incluye la implementación de una base de datos básica para el almacenamiento de los datos adquiridos. Finalmente se presentan las pruebas realizadas al equipo mostrando cada una de las señales sensadas.

Como resultado se obtuvo un equipo en capacidad de adquirir las señales electrocardiográfica, de registro dermotalvánico y de temperatura en los conductos auditivos externos con una resolución de 12 bits efectivos acoplado a un software de visualización de dichas señales.

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ALOJAMIENTO INDIVIDUAL SOBRE LA “EMOCIONALIDAD” DE RATAS

Deisy Johanna Ardila Rojas¹, Martha Cristina Zafra Garrido¹,
Silvia Botelho de Oliveira¹
Carlos Arturo Conde Cotes²

La presente investigación tuvo como objetivo contribuir a la evaluación de los efectos del alojamiento individual sobre la “Emocionalidad” de ratas. A nivel específico, se

evaluaron los efectos comportamentales en ratas expuestas al LCE después de 21 días de alojamiento individual en cajas independientes o en parejas separadas por una malla metálica y se exploró el efecto del tratamiento crónico con Fluoxetina sobre las manifestaciones comportamentales en el LCE de tipo ansiogénicas inducidas por 21 días de alojamiento en parejas separadas por una malla metálica. El procedimiento se llevó a cabo en dos fases donde cada una buscaba responder a un objetivo específico. Se utilizaron 84 ratas Wistar machos provenientes del biotério de la UIS con un peso de aproximadamente 180-230 gramos al inicio del experimento. Los resultados de la primera fase evidenciaron que los animales alojados individualmente en una caja con una separación de malla metálica, exhibieron un nivel de emocionalidad más severo manifestado en los menores niveles de exploración en los brazos abiertos del LCE. En la segunda fase, se reveló que los animales agrupados y aislados en una caja con una separación de malla metálica, y que a su vez recibieron fluoxetina de forma crónica, exhibieron además de una menor actividad locomotora, un menor número de entradas y un menor tiempo de permanencia en los brazos abiertos del LCE, comparados con los respectivos controles que recibieron vehículo en las mismas circunstancias. A partir de los resultados encontrados, se sugirió la posibilidad de dar continuidad al presente trabajo, con el propósito de aportar conocimiento relativo a los mecanismos neurobiológicos implicados en la condición de aislamiento social y a la evaluación de ésta en el modelo del laberinto en cruz elevado.

¹Universidad Pontificia Bolivariana

²Universidad Industrial de Santander

IV SEMINARIO INTERNACIONAL DE NEUROCIENCIAS Y III ENCUENTRO NACIONAL DE GRUPOS DEL ÁREA

Bucaramanga, Colombia

PROGRAMA

JUEVES 28

Programa de la mañana – Lugar: Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander

5:50 p.m.

8:00-12:00 a.m Inscripciones. Lugar: Auditorio Fundadores, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander.

6:20 p.m.

10:00 a.m. Reunión de Grupos e Investigadores de Neurociencias dirigido a la Conformación del “Colegio Colombiano de Neurociencias y Comportamiento”. Lugar: Auditorio Luís Carlos Galán, Facultad de Salud. Universidad Industrial de Santander.

Programa de la Tarde – Lugar: Auditorio Juan Pablo II, universidad Pontificia Bolivariana.

1:00-2:00

Inscripciones.

2:30 p.m

INAUGURACION

3:00 p.m.

Dr. Carlos Tomaz. Ph. D. Universidad de Brasilia. Brasil.

Temporal lobe processing on emotional memory.

3:30 p.m.

Dra. Antonella Gasbarri. Ph. D. Universidad de L' Aquila, Italia.

Effects of emotional content on declarative memory: a study conducted on healthy subjects and cephalgic patients.

4:00 p.m.

Dr. Rafael García Rey. MD, Especialista en Medicina Nuclear.

Neuroimágenes y activación cerebral

4:30 p.m.

RECESO

4:50 p.m.

Dr. Carlos Conde, Ph.D. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. Manifestaciones autonómicas en las diferentes fases de aplicación de una prueba auditivo-visual de memoria emocional

5:20 p.m.

Dra. Marta Isabel Dallos. MD, Psiquiatra.

Alteraciones de memoria en pacientes con trastorno de estrés post-traumático: Aspectos clínicos y manejo.

Dr. Juan Carlos Rodríguez. Universidad Católica. Bogotá.

La danza ondulatoria neuronal.

ACTO CULTURAL - COCTEL DE BIENVENIDA

VIERNES 29

Programa de la mañana - Lugar: Auditorio Fundadores, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander

8:00 a.m.

Dr. Jairo Alonso Tovar Franco. Ph. D. Pontificia. Universidad Javeriana. Bogotá.

Compartimentación intracelular del acetato en neuronas y astrocitos en condiciones perinatales.

8:30 a.m.

Dra. Francy Liliana Saavedra. Pontificia Universidad. Javeriana. Bogotá.

Compartimentación intercelular del acetato en neuronas y astrocitos en condiciones perinatales.

9:00 a.m.

Dr. Diego Forero. MD. Universidad Nacional. Bogotá.

Estudio de factores de susceptibilidad genéticos para enfermedad de Alzheimer en Colombia: estudio de 10 marcadores moleculares.

9:30 a.m.

Dra. Helen Belalcazar. B.Sc.. Universidad Nacional. Bogotá.

Estudio de factores de susceptibilidad genéticos para enfermedad de Parkinson en Colombia: estudio de 9 marcadores moleculares.

10:00 a.m.	RECESO	Manejo del nervio ciático del ratón adulto para obtener células perineurales.
10:20 a.m.	Alvaro Barrera, M.Sc. (c) Universidad de Antioquia. Medellín. GSK-3 α en Neuroprotección.	10:50 a.m. Leslie Leal. MSc. (c) Centro Internacional de Física. Universidad Nacional. Bogotá. Nuevos modelos de cultivo de células de origen nervioso.
10:50 a.m.	Dra. Blanca Salazar. Universidad del Valle. Cali. Incorporación de canales de sodio de cerebro de rata en membranas artificiales con gangliósidos	Programa de la Tarde – Lugar: Auditorio Fundadores Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander
11:20 a.m.	Dr. Orlando Torres Fernández. Ph. D. INAS. Bogotá. Citopatología neuronal no convencional en la corteza cerebral afectada por rabia.	2:00 p.m. Dra. Marcela Camacho Ph.D. Universidad Nacional. Bogotá. Ovocitos de anfibios como técnica para la caracterización de canales iónicos.
		2:30 p.m. Dra. Zulma Dueñas. Ph. D. Instituto Nacional de Salud. Bogotá. Microtransplante de membranas en ovocitos de Xenopus.

Sesión Simultánea VIERNES 29

Programa de la mañana - Lugar: Auditorio Luis Carlos Galán. Facultad de Salud Universidad Industrial de Santander

8:00 a.m.	Dra. Maria del Pilar Santacruz. Universidad Católica. Bogotá. Impacto de la estimulación temprana sobre la exposición prenatal a cocaína en la emocionalidad y el consumo voluntario de cocaína en el ratón.	3:00 p.m. Dra. Marisol Lamprea. Ph. D. Universidad Nacional. Bogotá. Participación de estructuras límbicas en la modulación del comportamiento exploratorio de la rata.
8:30 a.m.	Carolina Tamara. Universidad Nacional. Bogotá. Recuperación espontánea de las respuestas sexuales condicionadas en la Codorniz japonesa macho.	3:30 p.m. Dr. José Ortiz. Ph. D. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. NMDA y AMPA en sensitización a cocaína.
9:00 a.m.	Iván Annicchiarico. Universidad Nacional. Bogotá. Efectos de la privación de alimento sobre la conducta sexual de la codorniz japonesa y algunos correlatos fisiológicos.	4:00 p.m. Dr. William Villamil. Ph. D. Universidad Nacional. Bogotá. Proteínas de expresión temprana en el condicionamiento del reflejo palpebral en conejos.
9:30 a.m.	Claudia Moreno. Centro Internacional de Física. Universidad Nacional. Bogotá. Cultivo de células capsulares.	4:30 p.m. Dra. Silvia Botelho de Oliveira, Ph.D. Universidad Pontificia Bolivariana. Efectos de la manipulación e inyección crónica de Tween-80/salina y Tween-80/salina/fluoxetina sobre el comportamiento de ratas alojadas individualmente y expuestas al laberinto en cruz elevado
10:00 a.m.	RECESO	5:00 P.M. SESION DE POSTERS: Estos deberán ser instalados desde la jornada de la mañana y los responsables deberán estar presentes a partir de las 5:00 p.m.
10:20 a.m.	Oscar Vivas. Centro Internacional de Física. Universidad Nacional. Bogotá.	

Salud UIS

SABADO 30

Lugar: Auditorio Juan Pablo II, Universidad Pontificia Bolivariana

- 9:30 a.m. Dr. Oscar Perlaza. Universidad del Valle. Cali. La corteza prefrontal: Conectividad y aspectos funcionales.
- 10:00 a.m. Dra. Julieta Troncoso. Ph. D. (c) Univ. Pablo de Olavide. Sevilla, España.
Modificaciones inducidas por el aprendizaje en el sistema motor de las vibrisas.
- 10:30 a.m. RECESO
- 10:50 a.m. Dra. Rosa Margarita Gomez. Ph. D. Universidad de la Sabana. Bogotá.
Influencia de la Estimulación Eléctrica en la Producción de Serotonina (5-HT) y Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF) en Microcultivos de Células Embrionarias del Rafé Medio (RN46A) de Ratas.
- 11:20 a.m. Dra. Sandra Perdomo. Bióloga. Universidad de la Sabana. Bogotá.
Estudio preliminar del implante de cultivos de células de glía envolvente de bulbo olfatorio en la regeneración de médula espinal lesionada.
- 11:50 a.m. Dr. Jorge Eduardo Ortiz Triviño. Universidad Nacional. Bogotá.

Pronostico de series de tiempo mediante un modelo de función de transferencia basado en redes neuronales artificiales.

Programa de la tarde - Lugar: Auditorio Juan Pablo II, Universidad Pontificia Bolivariana

- 2:30 p.m. Dr. Jaime Fandiño. MD. Neurocirujano. Cartagena.
Epilepsia del lóbulo temporal: Evaluación pre y post quirúrgica.
- 3:00 p.m. Dr. Luis Alfredo Villa. MD, Neurólogo. Presidente Asociación Colombiana de Neurología. Diferencias funcionales cerebrales relacionadas con el Género.
- 3:30 p.m. RECESO
- 3:50 p.m. Dra. Liliana Villamil. MSc. (c). Universidad del Valle. Cali.
Lesion neuronal: trauma vs. Isquemia dos etiologías, una misma fisiopatología?
- 4:20 p.m. Dr. Federico Silva Siegel. MD, Neurólogo. Univ. Industrial de Santander.
Una aproximación fisiológica a las manifestaciones clínicas de la migraña
- 4:50 p.m. ACTO DE CLAUSURA

Indicaciones a los Autores

La Revista **Salud UIS**, órgano científico oficial de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, acepta para su publicación trabajos referentes al área de la salud y ciencias afines. Los trabajos deberán ser inéditos y suministrados exclusivamente a **Salud UIS**, que se reserva todos los derechos de programación, impresión o reproducción (Copyright) total o parcial del material que reciba, dando en todo caso el crédito correspondiente a los autores del mismo. Si el autor desea volver a publicar lo ya aparecido en **Salud UIS**, requiere autorización previa por escrito del Editor.

ASPECTOS GENERALES

- Los artículos deberán ser enviados al Editor, Revista **Salud UIS** de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, Apartado aéreo 678, Bucaramanga, Colombia. Se requiere de un original y dos copias en papel (tamaño carta, una sola cara, tinta negra, tipo de letra Times New Roman, 12 puntos, doble espacio) y una copia en diskette de 3.5" (MS Word, Wordperfect o Works). El autor debe asegurarse de guardar copia de todo el material enviado.
- Los manuscritos deberán ser acompañados de una carta del autor responsable de la correspondencia referente al trabajo (correcciones, revisión de pruebas de imprenta). En la carta deberá proporcionarse dirección, teléfono e información adicional que se juzgue necesaria tal como tipo de artículo enviado (trabajo original, descripción de caso clínico, revisión de tema) o solicitud de un número mayor de separatas proporcionadas gratuitamente por **Salud UIS** (tres por autor o grupo de autores).
- Ordenar el manuscrito en la siguiente secuencia: (1) Página inicial; (2) Resumen en español y palabras clave; (3) Texto; (4) Agradecimientos; (5) Resumen en inglés (Summary); (6) Bibliografía; (7) Cuadros (tablas) y Figuras (ilustraciones); (8) Leyendas, epígrafes o pies de figuras.

PÁGINA INICIAL

Incluirá lo siguiente:

- Título del trabajo (español e inglés).
- Nombre o nombres de los autores en el orden en que deberán figurar en la publicación.
- Sitio de trabajo de los autores.
- Nombre y dirección del autor a quien pueden enviarse las solicitudes de separatas, precedidos por la frase: correspondencia.

RESUMEN EN ESPAÑOL Y PALABRAS CLAVE

- Incluir resumen de menos de 150 palabras si es ordinario o 250 palabras si es estructurado.
- Al final del resumen, anotar tres a cinco palabras, propuestas en la lista del *Medical Subject Headings* del Index Medicus que serán utilizadas para elaborar el índice alfabético de temas de **Salud UIS**.

TEXTO

- El texto de los trabajos de investigación clínica o experimental, deberá ser dividido en las siguientes secciones: (1) Introducción; (2) Material y métodos; (3) Resultados; (4) Discusión.
- En la revisión de tema el esquema depende de cada autor. Si se trata de la descripción de uno o más casos clínicos, la secuencia es la siguiente: (1) Introducción; (2) Informe del caso o casos clínicos; (3) Discusión.
- Ordenar numéricamente en superíndice la bibliografía, cuadros

y figuras de acuerdo con la secuencia de la aparición en el texto utilizar en todos los casos números arábigos.

AGRADECIMIENTOS

- Enviar permiso escrito de las personas que serán acreditadas por su nombre en esta sección.

RESUMEN Y PALABRAS CLAVES EN INGLÉS

- Traducción al inglés del título del trabajo, resumen y las palabras claves

BIBLIOGRAFÍA

Artículos

- LÓPEZ N.A., NARANJO J.A., CRUZ J.A. "The presentation and use of height and weight". *N Engl J Med* 1996; 21: 235 - 46
- ALVAREZ C.A., PÉREZ S., GUERRA P.L., NIÑO A.J., SÁNCHEZ J., RUIZ A y col. "Fighting sickle cell disease". **Salud UIS** 1996; 24: 12 - 6
- MARTÍNEZ R. "Dolor abdominal crónico recurrente". *Bol Med Hosp Inf Mex*; (en prensa)

Libros

- JIMÉNEZ S.A. *Interpretación clínica del electrocardiograma*. 3ra edición. Bucaramanga: Publicaciones UIS, 1995: 87

Capítulos de libros

- NÚÑEZ C.J., BERNAL L.A. "Nutritional assessment". In: HENDRICKS K.M., WALKER W.A., eds. *Manual of pediatric nutrition*. Second edition. Santafé de Bogotá: Academic Press, 1993: 1-58

Citación para los artículos publicados en Internet

- KERIN J. "Falloscopic identification of a fimbrio-ovarian mucus connection as a possible mechanism". *Fertil steril* (serial online) 1997 Jan- Mar (cited 1997 Jul 14); 1 (1): 13. *Available from*: URL: <http://www.sigo.edu>
- Observaciones no publicadas - comunicaciones personales deben ser colocadas entre paréntesis en el texto y no en la bibliografía.

CUADROS

- Copiar cada cuadro en hojas por separado. No remitir cuadros fotográficos.

LEYENDAS, EPÍGRAFES O PIES DE FIGURAS

- Anotar en forma secuencial, indicando el número de la figura correspondiente (números arábigos).

FIGURAS

- No deben enviarse los originales de las figuras, sino todas ellas se presentarán en reproducciones fotográficas por triplicado.
- Adherir en la parte posterior de cada figura una etiqueta en la que se indique: número de la figura (números arábigos), nombre del autor principal y una flecha hacia arriba que señale la parte superior de la misma.
- Enviar las figuras en un sobre tamaño apropiado.
- La publicación de las ilustraciones en color se hará siempre y cuando el autor cancele el costo extra.

REFERENCIAS PARA MAYOR INFORMACIÓN

En las siguientes referencias puede encontrarse información más amplia sobre la presentación de los manuscritos: Requisitos uniformes para trabajos presentados a las revistas biomédicas. **Salud UIS** 1993; 21: 50 - 9
International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *N. Engl J. Med* 1997; 336 (4): Special report