

# NEUROTRANSMISORES DEL SISTEMA LÍMBICO. HIPOCAMPO. GABA Y MEMORIA. SEGUNDA PARTE

Eduardo Castro-Sierra\*, Fernando Chico Ponce de León\*\*, Luis Felipe Gordillo Domínguez\*\*\*, Alison Portugal Rivera\*\*\*\*

## SUMMARY

**Action of GABA agonists and antagonists on memory. The  $\theta$  rhythm.** Muscimol may directly alter memory. Recently, a modified matching to position (MTP) paradigm was employed aimed at influencing the type of associations a rat may use to solve the task. The main behavioral manipulation was the application of a differential outcomes procedure (DOP). DOP implies correlating each event to be remembered with a different reward condition. This procedure will result in the development of specific reward expectations which will in turn increase and guide choice behavior. Such different reward expectations will not be present when the reward assignment used is either common or random (non-differential outcomes procedure, NOP).

Intraventricular infusion of muscimol or CSF in rats carrying out a delayed MTP using either a MOP or an NOP protocol will affect both groups of rats, but the nature of the deficit will differ depending on the reinforcement contingencies. Rats trained in DOP will show general non-mnemonic damage independent of delay, i.e., performance will be affected at all delay intervals employed. On the contrary, rats trained in NOP will show delay-dependent damage. This appears to demonstrate that muscimol may also have untoward memory effects, which further indicates that activation of GABA receptors will affect a set of memory associations and functions.

Difficulties experienced in the past regarding LTP induction at the level of the CA3-CA1 synapse using time-based spike presentation protocols have been disconcerting given the preeminence of these synapses as a model system for the study of synaptic plasticity. Results previously discussed in experiments using picrotoxin as a GABA inhibitor have suggested that such difficulties arise from the requirement that, for LTP to be induced, CA1 dendrites must be persistently and totally activated. Doublets used in this case represent a minimal burst, or level of post-synaptic stimulation for LTP induction that subsumes greater depolarizations. In vitro, synaptically induced bursts would correspond to regenerative electrical events in apical dendrites of pyramidal neurons. The same requirements for dendritic activation would be satisfied in vivo during the  $\theta$  rhythm, which is present during active exploration. Therefore, GABA might serve as an engram modulator through the activation of the hippocampal  $\theta$  rhythm.

## Effect of $\mu$ -opioid receptors on hippocampal memory activity.

Hippocampal  $\mu$ -opioid receptors (MOR) have been involved in the formation of memory associated with the abuse of opioid drugs. When chronically activated, and during programmed drug abstinence, MORs acutely modulate hippocampal synaptic plasticity. At the level of neuronal networks, MORs increase excitability of area CA1 by means of a disinhibition of pyramidal cells. The specific inhibitory interneuronal subtypes which become affected by activation of MORs are not known. Nevertheless, not all subtypes are inhibited and some subtypes preferentially express these receptors. In one study, the effect of activation of MORs on inhibitory patterns and propagation of excitatory activity in CA1 of rat hippocampus was investigated through cortical images created using voltage-sensitive dyes.

MOR activation increased excitatory activity originated by the increased stimulating input to *stratum oriens* (i.e., Schäffer collateral and commissural [SCC] fibers, as well as the retrograde pathway), to *stratum radiatum* (i.e., SCC fibers) and to *stratum lacunosum-moleculare* (i.e., the perforant pathway and the thalamus). Increased excitatory activity was additionally facilitated by propagation through the neural network of area CA1. This was observed as a proportionally greater increment of amplitudes of excitatory activity in sites distant from the originally evoked activity. Such facilitation was noted in excitatory activity propagating from three sites of stimulation. The increment and facilitation were prevented with GABA<sub>A</sub> receptor antagonists (bicuculline, 30  $\mu$ M), but not with GABA<sub>B</sub> receptor antagonists (CGP, 10  $\mu$ M). Besides, MOR activation inhibited inhibitory post-synaptic potentials (IPSPs) in every layer of area CA1. These findings suggest that MOR-originated suppression of GABA release to GABA<sub>A</sub> receptors increases every type of input to pyramidal CA1 neurons and facilitates propagation of excitatory activity through the neural network of area CA1.

**Cannabis indica and memory.** Cannabinoids (derived from *Cannabis indica*, or marihuana) disturb memory processes in mammals. In spite of the fact that the neuronal cannabinoid CB1 receptor was identified several years ago, the neuronal network mechanisms mediating these effects are still controversial. Tritium-labeled GABA-releasing experiments have been used to test for the localization of this receptor at a cellular and subcellular level in the human hippocampus. CB1 expression detected with this

\*Laboratorio de Psicoacústica y Fisiología Auditiva, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

\*\*Laboratorio de Neuromorfología, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; Departamento de Neurocirugía, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

\*\*\*Departamento de Neurocirugía, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

\*\*\*\*Subdirección de Enseñanza, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

technique is limited to hippocampal interneurons, most of which, it could be determined, are cholecystokinin-containing basket neurons. The CB1-positive neuronal somata show immune staining of their cytoplasm, but not of their somatodendritic plasma membrane. CB1-immunoreactive axonic terminals densely cover the entire hippocampus and form symmetrical synapses, characteristic of GABAergic neuronal boutons. It could thus be observed that WIN 55,212-2, a CB1-receptor agonist, considerably reduces the release of tritium-labeled GABA, and that this effect is preventable using the receptor antagonist, SR 141716A. This single pattern of expression and pre-synaptic modulation of GABA release suggests the existence of a preserved role of CB1 receptors in the control of inhibitory hippocampal networks responsible for the generation and maintenance of fast and slow oscillation patterns. Therefore, a probable mechanism whereby cannabinoids could affect associational processes in memory might be a disturbance of synchrony of rhythmic events in distinct neuronal populations.

**GABA effects against aging.** Certain components which stimulate GABAergic neurotransmission might prevent the hippocampal and striatal degeneration which typically appears with old age and causes memory deterioration. On using a 4-vessel occlusion model in animals to study the effect of ischemia on expression of GABA<sub>A</sub> receptor subunits, which are vulnerable in region CA1 and resistant in region CA3 of Ammon's horn, an increment in expression of GABA<sub>A2</sub>, GABA<sub>B2</sub>, GABA<sub>C2</sub> units and a decrement in expression of GABA<sub>A1</sub> and GABA<sub>A3</sub> subunits in region CA3 were obtained. On the contrary, there was no change in region CA1 or the dentate gyrus under the same conditions. These data speak in favor of the stimulation of type 2 receptor GABAergic subunits which might protect certain hippocampal areas against a harmful neurodegenerative effect, for example, of memory activities during old age.

**Key words:**  $\gamma$ -aminobutyric acid, agonists and antagonists,  $\theta$  rhythm, cannabinoids, aging, interneurons.

## RESUMEN

**Acción de distintos agonistas y antagonistas del GABA sobre la memoria. El ritmo  $\theta$ .** El muscimol puede alterar directamente la memoria. Recientemente, se empleó un paradigma modificado dirigido a equiparar una respuesta con una posición dada ("matching to position", MTP) con el fin de influenciar el tipo de asociaciones que una rata podría usar para resolver dicha tarea. La principal manipulación conductual fue la aplicación de un procedimiento de resultados diferenciales (DOP). El DOP implica correlacionar cada evento que deba ser recordado con una condición distinta de recompensa. Este procedimiento dará como resultado el desarrollo de esperanzas específicas de recompensa que incrementarán y guiarán a la conducta selectiva. Tales esperanzas distintas de recompensa no se presentarán cuando sea empleada una asignación ya sea común o al azar de la recompensa (procedimiento de resultados no diferenciales, NOP).

La infusión intraventricular de muscimol o de líquido cefalorraquídeo (LCR) en ratas que ejecuten un MTP con retraso dentro de un protocolo de DOP o de NOP, dañará a ambos grupos de ratas pero la naturaleza del déficit diferirá según las contingencias de refuerzo. Las ratas entrenadas con DOP mostrarán un daño general, no mnemónico, independiente del retraso, esto es, el desempeño se afectará en todos los intervalos de retraso que se empleen. Por el contrario, las ratas entrenadas

con NOP mostrarán un daño que sí dependerá del retraso. Esto parece demostrar que el muscimol también puede tener efectos adversos contra la memoria, lo que indica, además, que la activación de los receptores del GABA afectará a un conjunto de asociaciones y funciones mnemónicas.

Las dificultades que se han tenido en el pasado para inducir LTP a nivel de la conexión CA3-CA1, a través de las colaterales de Schäffer, con protocolos basados en el orden temporal de presentación de los potenciales de acción, han sido desconcertantes dada la preeminencia de estas sinapsis como sistema modelo para el estudio de la plasticidad sináptica. Los resultados descritos anteriormente de experimentos que emplean picrotoxina como inhibidor del GABA sugieren que estas dificultades provienen del requerimiento de que, para que la LTP sea inducida, las dendritas de CA1 deberán estar persistente y totalmente activadas. Los "dobletes" usados en ese caso representarían a un séquito ("burst") mínimo, o un nivel de estimulación post-sináptica para la inducción de LTP que resumiera a mayores despolarizaciones. *In vitro*, los séquitos de potenciales inducidos sinápticamente corresponderían a eventos eléctricos regenerativos en las dendritas apicales de las neuronas piramidales. Tales requerimientos para la activación dendrítica serían satisfechos *in vivo* durante el ritmo  $\theta$ , que se presenta durante la exploración activa. Por lo tanto, el GABA podría servir como modulador del engrama a través de la activación del ritmo  $\theta$  hipocámpico.

**Cannabis indica y memoria.** Los cannabinoides (derivados de la *Cannabis indica*, o marihuana) trastornan los procesos de memoria en los mamíferos. A pesar de que el receptor canabinoide neuronal CB1 se identificó hace ya varios años, los mecanismos en las redes neuronales que median estos efectos son todavía motivo de controversia. Se han usado experimentos de liberación de GABA marcado con tritio para comprobar la localización de este receptor a nivel celular y subcelular en el hipocampo humano. La expresión que se pudo detectar de CB1 con esta técnica estaba limitada a las interneuronas del hipocampo. Se determinó que la mayor parte de ellas eran neuronas en canasta que contenían colestocinina. Los somas neuronales positivos a CB1 mostraban tinción inmune en su citoplasma perinuclear, pero no en su membrana plasmática somatodendrítica. Las terminales axónicas inmunorreactivas a CB1 cubrían densamente al hipocampo entero, y formaban sinapsis simétricas características de los botones neuronales GABAérgicos. Se pudo así observar que WIN 55,212-2, agonista del receptor CB1, reducía considerablemente la liberación del GABA marcado con <sup>3</sup>H, y que este efecto era prevenible con el antagonista SR 141716A del receptor. Este patrón único de expresión, y la modulación pre-sináptica de la liberación del GABA, sugieren la existencia de un papel conservado de los receptores CB1 en el control de las redes inhibitorias del hipocampo que son responsables de la generación y el mantenimiento de patrones de oscilación rápidos y lentos. Por lo tanto, un mecanismo probable a través del cual los cannabinoides llegarían a afectar a los procesos de asociación en la memoria podría ser una alteración de la sincronía de eventos rítmicos en distintas poblaciones neuronales.

**Palabras clave:** Acido  $\gamma$ -aminobutírico, memoria, agonistas y antagonistas, ritmo  $\theta$ , receptores  $\mu$  opiáceos, cannabinoides, envejecimiento, interneuronas.

El muscimol puede, a su vez, alterar directamente la memoria. Recientemente, se empleó un paradigma

modificado dirigido a equiparar una respuesta con una posición dada (“*matching to position*”, MTP) con el fin de influenciar el tipo de asociaciones que una rata podría usar para resolver dicha tarea. La principal manipulación conductual fue la aplicación de un procedimiento de resultados diferenciales (DOP). El DOP implica correlacionar cada evento que deba ser recordado con una condición distinta de recompensa. Este procedimiento dará como resultado el desarrollo de esperanzas específicas de recompensa que incrementarán y guiarán a la conducta selectiva. Tales esperanzas distintas de recompensa no se presentarán cuando una asignación ya sea común o al azar de la recompensa sea empleada (procedimiento de resultados no diferenciales, NOP) (11).

La infusión intraventricular de muscimol o de líquido cefalorraquídeo (LCR) en ratas que ejecuten un MTP con retraso dentro de un protocolo de DOP o de NOP, dañará a ambos grupos de ratas pero la naturaleza del déficit diferirá según las contingencias de refuerzo. Las ratas entrenadas con DOP mostrarán un daño general, no mnemónico, independiente del retraso, esto es, el desempeño se afectará en todos los intervalos de retraso que se empleen. Por el contrario, las ratas entrenadas con NOP mostrarán un daño que sí dependerá del retraso. Esto parece demostrar que el muscimol también puede tener efectos adversos contra la memoria, lo que indica, además, que la activación de los receptores del GABA afectará a un conjunto de asociaciones y funciones mnemónicas.

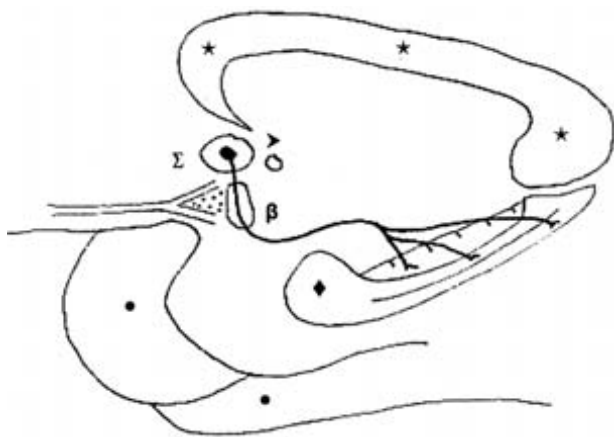


Fig. 1. Conexiones del septum medial/banda diagonal (MSDB) al hipocampo. El área MSDB, de la que se origina la vía septo-hipocámpica, es un punto crítico de los efectos mnemónicos de las drogas muscarínicas.

- ★ Cuerpo calloso
- ◆ Hipocampo retrocomisural o hipocampo propiamente dicho
- Σ Áreas septales
- β Bandaleta diagonal de Broca
- Comisura blanca anterior
- Corteza temporal

El área *septum* medial/banda diagonal (MSDB), de la que se origina la vía septo-hipocámpica (figura 1), es un punto crítico de los efectos mnemónicos de las drogas muscarínicas. La infusión de agentes muscarínicos colinérgicos en la MSDB aumentará las capacidades de aprendizaje y memoria, y producirá en el hipocampo un ritmo  $\theta$  continuo (con una frecuencia entre 4 y 8 hertzios, propia para la consolidación de la memoria). Los agonistas muscarínicos intraseptales también aliviarán la amnesia producida por la administración sistémica de antagonistas de los receptores muscarínicos. Se había considerado hasta el momento de la investigación sobre este particular, que los mecanismos celulares subyacentes a los efectos de los agonistas muscarínicos involucraban la excitación de las neuronas colinérgicas septo-hipocámpicas, con la consecuente elevación de acetilcolina en el hipocampo. Por medio de una técnica fluorescente se visualizaron selectivamente neuronas colinérgicas vivas, y se halló que los agonistas muscarínicos no las excitaban; por el contrario, inhibían a un subgrupo de éstas. En su lugar, las neuronas GABAérgicas septo-hipocámpicas se veían profundamente excitadas por la muscarina. Así, el efecto de incremento de la cognición mnemónica producido por las drogas muscarínicas en MSDB podría estar causado por mecanismos de desinhibición sobre vías inhibitorias, originados de un flujo aumentado en la vía GABAérgica septo-hipocámpica (16).

La activación colinérgica que llega a sus propias metas celulares en el hipocampo puede iniciar y mantener oscilaciones en redes neurales y neuronales, tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, el impacto de la modulación colinérgica sobre las propiedades oscilatorias de las interneuronas inhibitorias había permanecido hasta hace poco aún inexplorado. Por medio de registros con corriente atrapada (“*current clamp*”) en células íntegras de cortes hipocámpicos agudos, se investigó la influencia de la activación de los receptores acetilcolinérgicos muscarínicos (mAChR) sobre las propiedades oscilatorias de las interneuronas del *stratum oriens* del área CA1 *in vitro*. En respuesta al ingreso oscilatorio de información por arriba del umbral, la activación a través de los mAChR’s causó un aumento de la confiabilidad y la precisión de los potenciales producidos, y extendió el ancho de banda al cual se sincronizaban las descargas de las interneuronas. Estos efectos por arriba del umbral eran máximos a un ritmo de frecuencia  $\theta$  lo que indica que la activación de los mAChR’s sintoniza a las conductancias activas para que aumente la confiabilidad y la precisión de las descargas en respuesta al ingreso de información a ritmo de frecuencia  $\theta$ . Así, la sintonización muscarínica de las propiedades oscilatorias intrínsecas de las interneuronas sería un mecanismo novedoso crucial en la génesis del ritmo  $\theta$  (6).

Las dificultades que se han tenido en el pasado para inducir LTP a nivel de la conexión CA3-CA1 a través de las colaterales de Schäffer, con protocolos basados en el orden temporal de presentación de los potenciales de acción, han sido desconcertantes dada la preeminencia de estas sinapsis como sistema de modelo para el estudio de la plasticidad sináptica. Los resultados descritos anteriormente de experimentos que emplean picrotoxina como inhibidor del GABA sugieren que estas dificultades provienen del requerimiento de que, para que la LTP sea inducida, las dendritas de CA1 deberán estar persistente y totalmente activadas. Los “dobletes” usados en ese caso representarían a un séquito (“burst”) mínimo, o un nivel de estimulación post-sináptica para la inducción de LTP que resumiera a mayores despolarizaciones. *In vitro*, los séquitos de potenciales inducidos sinápticamente corresponderían a eventos eléctricos regenerativos en las dendritas apicales de las neuronas piramidales (14). Tales requerimientos para la activación dendrítica serían satisfechos *in vivo* durante el ritmo  $\theta$  que se presenta durante la exploración activa (2). Por lo tanto, el GABA podría servir como modulador del engrama a través de la activación del ritmo  $\theta$ , hipocámpico.

### **Efecto de los receptores $\mu$ opiáceos sobre la actividad mnemónica del hipocampo**

Los receptores  $\mu$  opiáceos del hipocampo (“*hippocampal  $\mu$ -opioid receptors*”, MOR) han estado implicados en la formación de la memoria asociada con el abuso de drogas opiáceas. Al ser activados en forma crónica, y en el curso de la abstención programada de ingestión de las drogas, los MOR’s modulan la plasticidad sináptica hipocámpica en forma aguda. Al nivel de las redes neuronales, los MOR’s incrementan la excitabilidad en el área CA1 por medio de la desinhibición de las células piramidales. Se desconocen los subtipos interneuronales inhibitorios específicos que se vean afectados por la activación de los MOR’s. No obstante, no todos los subtipos se inhiben y algunos subtipos interneuronales específicos expresan de modo preferencial a estos receptores. En un estudio se investigaron, por medio de imágenes de cortes cerebrales creadas con tintaciones sensibles al voltaje, el efecto de la activación de los MOR’s sobre los patrones de inhibición y la propagación de la actividad excitatoria en el CA1 del hipocampo de la rata (7).

La activación de los MOR’s aumentó la actividad excitatoria provocada por los ingresos de información estimulante al *stratum oriens* [esto es, las vías colaterales y comisurales de Schäffer (SCC), así como la vía antidrómica], al *stratum radiatum* (esto es, las SCC) y al *stratum lacunosum-moleculare* (SLM; esto es, la vía perforante y el tálamo). La actividad excitatoria aumentada se fa-

cilitó adicionalmente al propagarse por la red neuronal del área CA1. Esto se observó en forma de un aumento proporcionalmente mayor de las amplitudes de la actividad excitatoria en sitios que distaban de aquellos donde había sido originalmente provocada la actividad. Tal facilitación se notó en la actividad excitatoria que se propagaba de los 3 sitios de estimulación. El aumento y la facilitación se prevenían con los antagonistas de los receptores de GABA<sub>A</sub> [bicuculina, 30 micromolar ( $\mu$ M)], pero no con los antagonistas de los receptores de GABA<sub>B</sub> (CGP 55845, 10  $\mu$ M). Además, la activación de los MOR’s inhibía a los potenciales post-sinápticos inhibitorios (IPSP’s) en todas las capas del área CA1. Estos hallazgos sugieren que la supresión por medio de los MOR’s de la liberación de GABA a los receptores GABA<sub>A</sub> incrementa todos los ingresos de información a las neuronas piramidales de CA1 y facilita la propagación de la actividad excitatoria a través de la red neuronal del área CA1.

### **Daño al hipocampo**

Existe alguna evidencia que apoya la idea de que, a pesar de que esta memoria dura por toda la vida, el hipocampo deja de tener un papel fundamental en la retención de la memoria declarativa después de un periodo de consolidación. El daño al hipocampo generalmente resulta en una profunda dificultad de formar nueva memoria (amnesia anterógrada), y normalmente también afecta el acceso a memoria previa al daño (amnesia retrógrada).

A pesar de que el efecto retrógrado afecta a la memoria creada años atrás, puede a veces retenerse la vieja memoria. La capacidad de conservar la vieja memoria parece indicar que la consolidación de la memoria a través del tiempo involucra a la transferencia de ésta desde el hipocampo a otras áreas cerebrales. Sin embargo, este efecto se refiere a memoria muy antigua, por lo que su papel en la memoria vieja permanece en discusión.

El daño al hipocampo no afecta a algunos aspectos de la memoria, como la habilidad de tocar un instrumento musical (memoria de procedimientos, consolidada en el estriado). También hay evidencia de que el famoso paciente H. M., de Helen Milner, cuyos lóbulos temporales fueron resecaados bilateralmente para el tratamiento de la epilepsia, retenía la memoria semántica o conceptual (9).

La liberación de glucocorticoides y ácido glutámico está involucrada en la atrofia hipocámpica evidente en pacientes con Síndrome de Estrés Post-traumático (PTSD). Ciertos mecanismos glutamatérgicos activan a la sintasa del óxido nítrico (NOS), mientras que el GABA puede inhibir tanto a la transmisión glutamatérgica como a la nitrérgica. En ratas, el estrés provoca un aumento en la actividad de NOS así como una re-



ducción en la densidad de los receptores de NMDA y de los niveles totales de GABA (3). De este modo, el papel del ácido nítrico en la toxicidad neuronal, y su regulación por ácido glutámico y GABA tiene implicaciones importantes en la degeneración hipocámpica relacionada con el estrés.

En el ser humano, el PTSD es usualmente un trastorno crónico que seguidamente permanece refractario al tratamiento farmacológico. La memoria de eventos traumáticos, al estimular repetidamente al hipocampo y la amígdala (“*kindling*”), parece alterar a muchos sistemas biológicos los que incluyen a las vías GABAérgicas. La tiagabina, un inhibidor selectivo de la recaptura del GABA, ha sido evaluada en el tratamiento del PTSD. En un breve lapso, este fármaco mejoró marcadamente los síntomas del PTSD en 6 de 7 pacientes femeninas, y estas 6 pacientes fueron clasificadas ya sea como “muy mejoradas” o como “notablemente mejoradas” (15). Por lo tanto, la inhibición selectiva de la recaptura del GABA parece ser una posibilidad importante de tratamiento de ciertos trastornos traumáticos a nivel hipocámpico en los que se haya involucrada una alteración de la memoria.

### Efectos de la *Cannabis indica*

Los cannabinoides (derivados de la *Cannabis indica*, o marihuana) trastornan los procesos de memoria en los mamíferos (figura 2). Desde la primera mitad del siglo XIX, J Moreau de Tours describió que la *Cannabis* afectaba a la memoria reciente. Más recientemente, se

han enfatizado clínicamente los efectos cognoscitivos del uso crónico de esta droga. Kolansky y Moore (5), por ejemplo, en un estudio crítico de 1971, consignaron casos de adolescentes, adultos jóvenes y adultos que habían usado marihuana en grandes dosis por lo menos dos veces por semana por más de un año. Había en ellos síntomas cognoscitivos de respuestas mentales y físicas apáticas y lentas, confusión mental, dificultades con la memoria reciente e incapacidad de completar los pensamientos durante la comunicación verbal. Estos síntomas comenzaban después del inicio del uso de *Cannabis* y desaparecían después de 3 a 24 meses de abstinencia.

A pesar de que el receptor canabinoide neuronal CB1 se identificó hace ya varios años, los mecanismos que median estos efectos en las redes neuronales son todavía motivo de controversia. La localización de los receptores se ha estudiado a nivel celular y subcelular en el hipocampo humano y de rata (figura 2), por medio del empleo de tejidos de testigo *post mortem* o procedentes de lobectomías en el tratamiento de la epilepsia. Estos últimos tejidos también se han usado en experimentos de liberación de GABA marcado con tritio ( $^3\text{H}$ ; isótopo radioactivo del hidrógeno con un protón y dos neutrones en el núcleo, que decae a helio-3), para comprobar las predicciones de los datos anatómicos.

La expresión que se pudo detectar de CB1 con esta técnica estaba limitada a las interneuronas del hipocampo. Se determinó que la mayor parte de ellas eran neuronas en canasta que contenían colequistocinina.

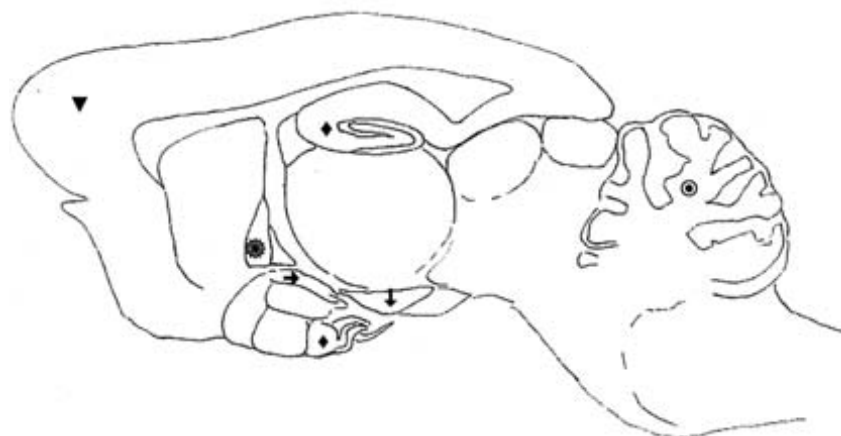


Fig. 2. Contenido de receptores canabinoides de CB1 en distintas áreas encefálicas. Imagen del cerebro de la rata marcado autorradiográficamente con CP-55940, ligando agonista de alta afinidad de estos receptores. Las áreas marcadas son: el cerebelo, el núcleo entopeduncular, el hipocampo, la corteza frontal, el globo pálido y la sustancia negra reticulada. (Véase el Cuadro de Índice de Símbolos.)

- ▼Corteza frontal
- ◆ Hipocampo retrocomisural, o hipocampo propiamente dicho
- \*Globo pálido
- Núcleo entopeduncular
- ↓Sustancia negra
- Cerebelo

Los somas (cuerpos) neuronales positivos a CB1 mostraban tinción inmune en su citoplasma perinuclear, pero no en su membrana plasmática somatodendrítica. Las terminales axónicas inmunorreactivas a CB1 cubrían densamente al hipocampo entero, y formaban sinapsis simétricas características de los botones neuronales GABAérgicos.

En los experimentos de liberación se emplearon muestras de lobectomía temporal en humanos ya que eran similares a los tejidos en los testigos en cuanto a la distribución celular y subcelular de los receptores CB1. Se pudo así observar que WIN 55,212-2, agonista del receptor CB1 (figura 3), reducía considerablemente la liberación del GABA marcado con  $^3\text{H}$ , y que este efecto era prevenible con el antagonista SR 141716A del receptor (4). Este patrón único de expresión, y la modulación pre-sináptica de la liberación del GABA, sugieren la existencia de un papel conservado de los receptores CB1 en el control de las redes inhibitorias del hipocampo que son responsables de la generación y el mantenimiento de patrones de oscilación rápidos y lentos. Por lo tanto, un mecanismo probable a través del cual los cannabinoides llegarían a afectar a los procesos de asociación en la memoria podría ser una alteración de la sincronía de eventos rítmicos en distintas poblaciones neuronales.

#### **Acción del GABA en el envejecimiento**

Ciertos componentes que estimulan la neurotransmisión GABAérgica podrían prevenir la neurodegeneración del hipocampo y el estriado que se presenta típicamente con el envejecimiento, y que causa un deterioro de la memoria. Al utilizarse un modelo de oclusión de cuatro vasos sanguíneos en animales para estudiar el efecto de la isquemia sobre la expresión de subunidades receptoras de GABA<sub>A</sub>, las cuales son vulnerables en la región CA1 y resistentes en la región CA3 del asta de Amón del hipocampo, se halló un aumento en la expresión de las subunidades GABA<sub>A2</sub>, GABA<sub>B2</sub> y GABA<sub>C2</sub>, así como una disminución en la de las subunidades GABA<sub>A1</sub> y GABA<sub>A3</sub>, en la región CA3 (12). Por el contrario, no había ningún cambio en la región CA1 o en el giro dentado del hipocampo en las mismas condiciones. Estos datos hablan a favor de que la estimulación de las subunidades receptoras GABAérgicas del tipo 2 pueda proteger a ciertas áreas del hipocampo contra un efecto neurodegenerativo que lesione la función de la memoria en el curso de la edad avanzada.

#### **Los receptores del GABA y las interneuronas hipocámpicas**

La distribución de los receptores funcionales de los neurotransmisores es de importancia en el procesamiento de la información neuronal, y tendrá un efecto so-

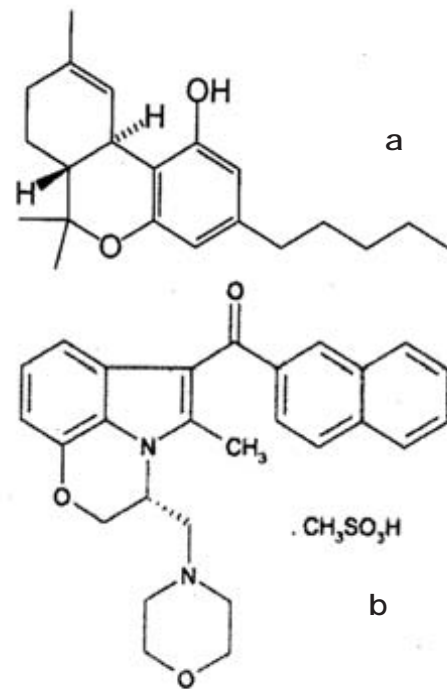


Fig. 3. Cannabinoides. Estructuras estereoquímicas de: a)  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol (cannabinoides natural en *Cannabis sativa*) b) Un agonista sintético de los receptores de CB1, WIN 55,2122.

bre la memoria. Con el fin de localizar a los receptores funcionales del ácido glutámico y el GABA en neuronas individuales del hipocampo, se han efectuado experimentos de fotólisis, o liberación por acción lumínica, de moléculas atrapadas ("caged") de ácido glutámico y GABA, en el curso de la medición de las corrientes eléctricas que resultan de la activación de los receptores liberados (10). En los neurotransmisores liberados, las respuestas no serán espacialmente uniformes y variarán de acuerdo con los receptores y las neuronas. Cada región de las células piramidales en CA1 responderá a cualquiera de los dos neurotransmisores, y esta respuesta se volverá más densa conforme se adentre más en las dendritas distales. Habrá gradientes similares de respuesta al ácido glutámico dentro de las interneuronas del *stratum radiatum*, mientras que las respuestas al GABA se detectarán sólo en la región perisomática de las interneuronas. Estas variaciones regionales indican que existen metas selectivas de los receptores en las neuronas centrales, lo que podría reflejar la existencia de un mecanismo de regulación local de la eficacia sináptica.

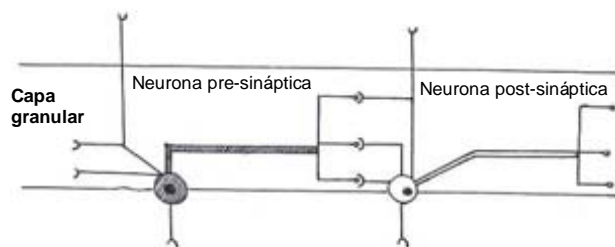
Las interacciones sinápticas mutuas entre las interneuronas inhibitorias GABAérgicas parecen ser de vital importancia en la generación de oscilaciones en diferentes redes neuronales y en la codificación temporal de información en el hipocampo. No obstante, hasta hace poco se desconocían las propiedades funcionales de la

transmisión sináptica entre las neuronas hipocámpicas. Se han efectuado registros de la actividad de las neuronas en canasta del giro dentado seguidos de análisis microscópicos de las mismas (figura 4). Las corrientes o conductancias post-sinápticas inhibitorias (IPSC) mediadas por receptores del GABA<sub>A</sub> se elevarán y decaerán rápidamente en las sinapsis entre neuronas en canasta. Por otro lado, la transmisión sináptica en estas sinapsis presentará una depresión de la actividad posterior a la aplicación de pulsos pareados (PPD; pre-sináptica), así como depresión a la aplicación de pulsos múltiples repetidos. Además, el curso temporal de las IPSC's en las sinapsis entre neuronas en canasta y neuronas granulosas tardará el doble de aquel que exista en las sinapsis entre neuronas en canasta, mientras que el grado de PPD será comparable (1). Así, cambios rápidos en la conductancia en las sinapsis entre neuronas en canasta podrían promover las oscilaciones de alta frecuencia que se observan en el giro dentado *in vivo*, y afectar la actividad mnemónica normal.

### Nuevas directrices

En un análisis de Squire, de 1992 (13), se consideraba que en ratas, monos y seres humanos se había podido llegar a un consenso en cuanto a que la función del hipocampo, junto con la de estructuras relacionadas, era fundamental para la memoria declarativa (explícita o relacional), la que él contrastaba con la no declarativa (implícita) que no requería del hipocampo, y que este órgano funcionaba para enlazar temporalmente a todos aquellos sitios en la neocorteza que juntos representaban a una memoria completa. No obstante, existe evidencia muy reciente, tanto de lesiones encefálicas como de estudios neuroimagenológicos, del papel del hipocampo en la retención y el recuerdo de

#### Capa molecular



#### Capa polimorfa

Fig. 4. Conexión entre dos interneuronas en canasta. La transmisión sináptica en estas sinapsis se verá deprimida tanto después de la aplicación de pulsos pareados de estimulación (PPD; pre-sináptica) como después de la aplicación de pulsos múltiples repetidos de estimulación (MRPD; post-sináptica). Asimismo, el tiempo de duración de la inhibición entre interneuronas será más rápido que aquel entre interneuronas y neuronas granulosas, lo que afectará la actividad mnemónica normal.

datos cercanos o remotos en la memoria (8). La retención y el recuerdo de datos autobiográficos detallados y vívidos parecen depender del sistema hipocámpico, no importa qué tanto tiempo antes se hayan adquirido. La memoria semántica, por otro lado, aparenta beneficiarse de una contribución hipocámpica por algún tiempo hasta el momento en el que pueda ser recordada independientemente de la actividad de esta estructura. Aun así, la memoria semántica podrá tener elementos episódicos asociados con ella que continúen dependiendo del hipocampo. En resumen, la evidencia existente actualmente sugiere de manera considerable que la función del hipocampo (y, posiblemente, de estructuras límbicas o neocorticales relacionadas) sea el de ayudar a codificar, retener y recordar experiencias, sin importar el tiempo que haya transcurrido desde que se presentaron los eventos referentes a experiencias determinadas. De este modo, parece ser que dicha evidencia favorece una teoría de trazos múltiples (MTT), o de improntas mnemónicas de valencia diversa a lo largo de un periodo específico, sobre otros modelos de consolidación tradicional que proponen que el hipocampo es una estructura de memoria limitada en el tiempo para todo tipo de recuerdo. Tal teoría subraya la importancia de la actividad hipocámpica en diversos mecanismos de memoria en los que el tiempo juega un papel condicionado por las circunstancias, y de la atención con la que debe estudiarse dicha actividad en patología amnésica anterógrada y retrógrada variada, con trastornos de memoria inmediata o tardía.

### REFERENCIAS

1. BARTOS M, VIDA I, FROTSCHER M, GEIGER JRP, JONAS P: Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *J Neurosci*, 21:2687-2698, 2001.
2. BUZSAKI G: Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33:325-340, 2002.
3. HARVEY BH, OOSTHUIZEN F, BRAND L, WEGENER G, STEIN DJ: Stress-restress evokes sustained iNOS activity and altered GABA levels and NMDA receptors in rat hippocampus. *Psychopharmacol*, 175:494-502, 2004.
4. KATONA I, SPERLÁGH B, MAGLÓCZKY Z, SÁNTA E y cols.: GABAergic interneurons are the targets of cannabinoid actions in the human hippocampus. *Neurosci*, 100:797-804, 2000.
5. KOLANSKY H, MOORE WT: Effects of marihuana on adolescents and young adults. *J Psychiatr Nurs Ment Health Serv*, 9:9-16, 1971.
6. LAWRENCE JJ, GRINSPAN ZM, STATLAND JM, McBAIN CJ: Muscarinic receptor activation tunes mouse stratum oriens interneurons to amplify spike reliability. *J Physiol*, 571:555-562, 2006.
7. McQUISTON AR, SAGGAU P: Mu-opioid receptors facilitate the propagation of excitatory activity of all anatomical layers. *J Neurophysiol*, 90:1936-1948, 2003.
8. MOSCOVITCH M, ROSENBAUM RS, GILBOA A, ADDIS DR y cols.: Functional neuroanatomy of remote episodic,

- semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anat*, 207:35-66, 2005.
9. O'KANE G, KENSINGER EA, CORKIN S: Evidence for semantic learning in profound amnesia: an investigation with patient H.M. *Hippocampus*, 14:417-425, 2004.
  10. PETTIT DL, AUGUSTINE GJ: Distribution of functional glutamate and GABA receptors on hippocampal pyramidal cells and interneurons. *J Neurophysiol*, 84:28-38, 2000.
  11. RAMIREZ DZ, BUZZETTI RA, SAVAGE LM: The role of the GABA(A) agonist muscimol on memory performance: reward contingencies determine the nature of the deficit. *Neurobiol Learn Mem*, 84:184-191, 2005.
  12. SCHWARTZ-BLOOM RD, SAH R: Gamma-aminobutyric acid(A) neurotransmission and cerebral ischemia. *J Neurochem*, 77:353-371, 2001.
  13. SQUIRE LR: Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychol Rev*, 99:195-231, 1992.
  14. STUART G, SCHILLER J, SAKMAN B: Action potential initiation and propagation in rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol (Lond)*, 505:617-632, 1997.
  15. TAYLOR FB: Tiagabine for post-traumatic stress disorder: a case series of 7 women. *J Clin Psychiat*, 64:1421-1425, 2003.
  16. WU M, SHANABROUGH M, LERANTH C, ALREJA M: Cholinergic excitation of septohippocampal GABA but not cholinergic neurons: implications for learning and memory. *J Neurosci*, 20:3900-3908, 2000.