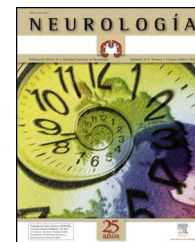


NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



ORIGINAL

La denervación 5-HTérgica córtico-frontal induce cambios en la expresión de las subunidades $\alpha 4$ y $\alpha 7$ de los receptores de acetilcolina tipo nicotínico en la corteza prefrontal de la rata adulta

C. Soria-Fregozo^{a,*}, M.E. Flores-Soto^b, M.I. Pérez-Vega^a y A. Feria-Velasco^c

^a Laboratorio de Psicobiología y Biología Molecular, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara. Lagos de Moreno, Jalisco, México

^b Laboratorio de Investigación y Desarrollo Farmacéutico, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México

^c Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México

Recibido el 20 de marzo de 2012; aceptado el 6 de abril de 2012

Accesible en línea el 15 de junio de 2012

PALABRAS CLAVE

Acetilcolina;
Corteza prefrontal;
Receptores de
acetilcolina;
Subunidad $\alpha 4$;
Subunidad $\alpha 7$;
5,7-DHT

Resumen

Introducción: Los receptores de la acetilcolina de tipo nicotínico (R-Ach-n) son expresados ampliamente en diferentes regiones del cerebro. Particularmente, la conformación de los subtipos $\alpha 4\beta 2$ y la $\alpha 7$ ha sido involucrada con la organización de diferentes tipos de memoria. Además, debido a su localización, estos pueden controlar la liberación de diferentes tipos de neurotransmisores, así como su participación en la plasticidad sináptica.

Métodos: Se conformaron 3 grupos de trabajo, un grupo experimental (E), un grupo control (C) y un grupo testigo (T). Al grupo E se le realizó la lesión farmacológica por vía estereotáxica en la región anteroventral del núcleo del rafe dorsal (NRD) con $1 \mu/\mu\text{l}$ de 5,7-dihidroxitriptamina. Al grupo C, se le sometió a cirugía y se le aplicó la solución vehículo y finalmente el grupo T no recibió ningún tratamiento; 20 días después de la cirugía, los animales de los 3 grupos fueron sacrificados por decapitación para el análisis de la expresión de las subunidades, $\alpha 4$ y $\alpha 7$ de los R-Ach-n mediante la técnica de biología molecular.

Resultados: La denervación 5-HTérgica a la CPF de la rata modifica la expresión de los receptores $\alpha 4$ y $\alpha 7$ de manera diferencial. La expresión de las subunidades $\alpha 4$ se incrementa, mientras que las subunidades $\alpha 7$ disminuyen.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: csoria@culagos.udg.mx (C. Soria-Fregozo).

KEYWORDS

Acetylcholine;
Prefrontal cortex;
Acetylcholine
receptor;
 $\alpha 4$ subtype;
 $\alpha 7$ subtype;
5, 7-DHT

Conclusión: Las diferencias de expresión que tuvieron las 2 subunidades podrían deberse a la localización que presentan. La subunidad $\alpha 4$ se localiza en sitios post sinápticos y podría estar relacionada con cambios post sinápticos adaptativos, en tanto que la de la $\alpha 7$ se localiza en sitios presinápticos, por lo que la lesión y eliminación de fibras 5-HTérgicas en la CPF provoca su disminución.

© 2012 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

5-HT denervation of the adult rat prefrontal cortex induces changes in the expression of $\alpha 4$ and $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor subtypes**Abstract**

Introduction: Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are widely expressed throughout several brain regions. Formation of the $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 7$ subtypes in particular is involved in the organisation of different types of memory. Furthermore, due to their location, these receptors can control the release of various types of neurotransmitters and contribute to synaptic plasticity.

Methods: Rats were divided into three groups, an experimental group (E), a sham-operated group, (S) and an intact group (T). In group E, stereotactic guidance was used to induce a chemical lesion with $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ of 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) in the anteroventral part of the dorsal raphe nucleus (DRN). In the sham-operated group (S), animals underwent surgery including delivery of the same excipient solution to the same site. The intact group (T) received no treatment whatsoever. Twenty days after surgery, animals in all groups were euthanised by decapitation to evaluate the expression of $\alpha 4$ and $\alpha 7$ nAChRs by means of molecular biology techniques.

Results: 5-HT denervation of the rat PFC differentially modified the expression of $\alpha 4$ and $\alpha 7$ receptors: while $\alpha 4$ receptor expression increased, $\alpha 7$ expression decreased.

Conclusion: Expression differences observed between the two subtypes may be due to their separate locations. The $\alpha 4$ subtype is found in postsynaptic locations and may be related to adaptive changes in postsynaptic cells, while the location of $\alpha 7$ is presynaptic. This explains why the lesion and the elimination of 5-HT fibres in the CPF would cause a decrease in $\alpha 7$ expression.

© 2012 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La actividad eléctrica cortical es modulada por la interacción de los sistemas colinérgico y serotoninérgico, correlativamente con la expresión conductual del aprendizaje y la memoria, en los cuales ambos sistemas de neurotransmisión han sido involucrados de manera interactiva¹. Particularmente, los receptores colinérgicos de tipo nicotínico (R-Ach-n) participan en dicha expresión conductual² y se ha reportado que la administración sistémica de dosis altas de mecamilamina, un antagonista del receptor nicotínico, provoca déficit en el rendimiento de la memoria en el laberinto radial en ratas³, en tanto que a dosis bajas mejora la memoria⁴. Además, se ha demostrado que la activación de estos receptores con agonistas mejora el rendimiento de la memoria, tanto en roedores⁵ como en monos⁶. Se ha demostrado que estructuras cerebrales como el hipocampo⁷ y la amígdala están involucradas en la memoria a través de la activación de los R-Ach-n y se ha reportado que el uso de antagonistas a los subtipos de receptores $\alpha 7$ y $\alpha 4\alpha 2$ deteriora la memoria de trabajo⁸.

Los R-Ach-n son estructuras pentaméricas formadas por la combinación de subunidades α ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) y subunidades β ($\beta 2$ - $\beta 4$) (heteroméricas); en cambio, las subunidades $\alpha 7$ forman estructuras pentaméricas de forma homomérica y

se encuentran localizadas tanto en la presinapsis como en la post sinapsis de neuronas colinérgicas, GABAérgicas y glutamatérgicas⁹.

Ambas formas de R-Ach-n se encuentran en la corteza prefrontal (CPF), región involucrada en la memoria de trabajo¹⁰. Se ha demostrado que los R-Ach-n y muscarínicos de la corteza prefrontal de la rata están relacionados con la memoria de trabajo. Sin embargo, existe poca información acerca de la participación de los R-Ach-n corticales sobre la memoria, tanto en animales como en humanos¹¹. Se ha reportado que la pérdida de la subunidad $\alpha 4$ está correlacionada con el bajo rendimiento de la memoria en pacientes con la enfermedad de Alzheimer¹². Además, la estimulación de los R-Ach-n con agonistas selectivos minimiza las deficiencias relacionadas con la memoria causada por la pérdida de R-Ach-n corticales¹³.

Debido a la distribución y ubicación de los R-Ach-n sobre terminales presinápticas, estos pueden regular la liberación de diferentes tipos de neurotransmisores¹⁴. Asimismo, dichos receptores se localizan sobre terminales 5-HTérgicas y se ha demostrado que su estimulación regula la liberación de serotonina (5-HT) en la corteza prefrontal de la rata¹⁵.

Por otro lado, se sabe que cuando hay neurodegeneración de segmentos axonales, las neuronas intactas son parcialmente desafrentadas y, a su vez, pueden morir o

iniciar un fenómeno plástico de tipo compensatorio, además dichas neuronas aumentan la sensibilidad al neurotransmisor que inicialmente liberaba la sinapsis (hipersensibilidad por denervación). Tal hipersensibilidad se debe a un aumento en el número de receptores posinápticos¹⁶. Por otro lado, se ha demostrado que la lesión farmacológica del núcleo del rafe dorsal (NRD) con 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) en la rata provoca cambios plásticos en las neuronas de la corteza prefrontal correlativamente con alteraciones en la ejecución de una tarea de memoria de corto plazo (MCP)¹⁷, así como una disminución en los niveles basales de 5-HT y acetilcolina (ACh)¹⁸. Sin embargo, la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} con el agonista 8-OH-DPAT incrementa liberación de ACh. En cambio, la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} con el agonista α -me-5-HT no tuvo efecto sobre la liberación de ACh en comparación con los animales intactos. Sin embargo, la liberación de ACh disminuyó con respecto al agonista 8-OH-DPAT¹⁸. Sobre la base de estos resultados y la amplia distribución de los R-ACh-n en la corteza prefrontal, es importante conocer más acerca de la participación de dichos receptores en aspectos relacionados con la memoria, y de manera particular de la respuesta plástica que presentan ante la denervación farmacológica del NRD, objetivo del presente trabajo.

Material y métodos

Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con la «Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio» del Instituto Nacional de Salud (NIH Publicación N.º 8023, 1978).

Debido a que las ratas hembra muestran una actividad mayor de la enzima que sintetiza 5-HT y una capacidad alta de almacenamiento de la misma en neuronas serotoninérgicas, en el presente trabajo se utilizaron 30 ratas hembra de 250-300 g de peso de la cepa Sprague-Dawley, las cuales fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio con ciclos luz-oscuridad 12:12 y acceso libre al agua y a la comida. Por otro lado, y para evitar la posible influencia de los niveles hormonales sobre dicho estudio, los animales fueron sacrificados entre los periodos de anestro, esto es, entre metaestro y diestro¹⁹.

Lesión de aferencias serotoninérgicas a la corteza prefrontal

Se conformaron 3 grupos de trabajo: un grupo fue designado como experimental (E), un grupo control (C) y el último como testigo (T). Al grupo E (n=10) se les produjo una lesión vía estereotáctica²⁰ en la región anteroventral del NRD: antero-posterior a Bregma, 8,0 mm; lateral, 2,0 mm; profundidad, 7,2 mm, y angulación, 19°. Con una jeringa microlítrica se inyectaron 0,2 μ l de una solución compuesta de: 1 μ g/ μ l de 5,7-DHT y ácido ascórbico al 0,1% en NaCl al 0,9%²¹. Al grupo C (n=10) se le sometió a la cirugía y se le aplicó una solución vehículo (ácido ascórbico al 0,1% en NaCl al 0,9%) en el sitio cerebral correspondiente a las mismas coordenadas estereotáxicas; el grupo T (n=10) no recibió ningún tratamiento. Treinta minutos antes de la cirugía los

animales de los grupo E y C recibieron una dosis de 50 mg/kg de peso de desipramina por vía intraperitoneal (ip) para proteger terminales noradrenérgicas²², dado que la 5,7-DHT es tóxica para neuronas noradrenérgicas. El estado de anestesia fue inducido mediante la aplicación de 1 mg/kg de dehidrobenezoperidol por vía ip y, por último, después de 15 min se les aplicó 50 mg/kg de ketamina.

Veinte días después de la cirugía los animales de los 3 grupos de trabajo fueron sacrificados por decapitación. Se extrajo el encéfalo en condiciones asépticas y se utilizó material previamente estéril y fue disecada la CPF dorso medial. El tejido se almacenó a -70 °C hasta el día de su utilización para la extracción del ácido ribonucleico (ARN) total.

Obtención y cuantificación del ARN total

La extracción del ARN total se realizó mediante el método de isotiocianato de guanidina²³. El precipitado de ARN que se formó fue suspendido en agua tratada con dietil pirocarbonato al 1%. La cantidad y la calidad del ARN extraído fueron evaluadas mediante el índice de absorbancia de 260/280 nm, considerándose óptimas aquellas muestras cuyo índice de absorbancia fue de 1,7 a 2,0.

Transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa semicuantitativa

Para la síntesis del ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) se utilizó la transcriptasa reversa del virus de la leucemia murina de Moloney. Se tomaron 2 μ g de ARN de cada muestra, se adicionó agua estéril a un volumen total de 6 μ l. Las muestras se desnaturalizaron a 70 °C durante 10 min. Inmediatamente después, se incubaron en baño de hielo con agitación continua durante 5 min. Posteriormente, se adicionó un volumen total de 14 μ l de la mezcla de retrotranscriptasa, que consistió en lo siguiente: amortiguador para RT 5X, dNTPs (desoxinucleótidos trifosfatados 2,5 mM), ditotretol (1,0 mM), indicadores aleatorios (Random primers) 1 μ g/ μ l e inhibidor de ARNasa (1 U/ μ l). La mezcla fue incubada con la transcriptasa reversa (200 U/ μ l) a 37 °C durante 1 hora. Con una etapa final a 95 °C durante 10 min y al final se adicionaron 5 μ l de agua estéril.

Para la reacción en cadena de la polimerasa, se utilizó una mezcla de reacción con la siguiente composición: agua estéril inyectable, iniciadores correspondientes a los genes de interés (tabla 1) dNTPs (2,5 mM), amortiguador 10X para PCR, MgCl₂ (50 mM), ADNc y Taq ADN polimerasa (1 U/ μ l).

A las reacciones de amplificación se les adicionó aceite mineral para evitar su evaporación y las condiciones del termociclador fueron de una primera etapa 95 °C por 5 min y se corrieron en forma automática según el ciclo correspondiente para cada receptor. Cada ciclo consistió de 95 °C por 1 min, 60 °C por 1 min y 72 °C por 1,5 min, con una etapa final de extensión a 72 °C por 5 min. Además, se utilizó como control de la PCR la expresión del gen para β -actina.

Los productos amplificados de la PCR se analizaron en una cámara horizontal de electroforesis, junto con un marcador de peso molecular de 100 pb en un gel de agarosa al 1,5% que contenía bromuro de etidio 0,5 mg/ml por 45 min a 70 voltios en amortiguador TBE 1X (Tris-borato-EDTA).

Tabla 1 Secuencias de oligonucleótidos utilizados para PCR semicuantitativa

Subunidad	Gen BANK	Secuencia	Producto	Ciclos
$\alpha 4$	Posición 181-600	5'-GGCAATATCT CAGATGTGGTCCTCGT-3'	420 pb	30
	NM.024354	5'- GCAAGATTGACTTAGTGAGCATTCAT-3'		
$\alpha 7$	Posición 298-570	5'- GTTCGTTTTCCAGATGGCCAGATTG-3'	273 pb	35
	NM.012832.3	5'- TGCAAGAGGCAGATATCAGCAGCTAT-3'		
β -actina	Posición 684-1201	5'-CACCACAGCTGAGAGGGAATCGTGCGTGA-3'	518 pb	22
	NM.031144	5'- ATTTGCGGTGCACATGGAGGGGCCGACT-3'		

La intensidad de las bandas fue determinada mediante el sistema de fotodocumentación equipado con un *software* de análisis (*Molecular Image Gel Doc XR System Quantity One 1-D Analysis Software*). Los valores para la expresión de cada receptor se calcularon y normalizaron contra el área representada por la expresión del gen constitutivo para la β -actina. Los resultados fueron expresados en unidades arbitrarias del área por la intensidad máxima.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media $\pm$ error estándar; se realizó la prueba de análisis de varianza de una vía (ANOVA) y como prueba *post hoc* se usó la prueba Tukey para comparar los diferentes grupos de estudio. El nivel de significancia aceptado fue $p \leq 0,05$.

Resultados

Histología

Se realizó el análisis histológico del NRD de todos los grupos de trabajo con el objetivo de solo considerar para este trabajo a aquellos sujetos cuya lesión estuviera circunscrita a la región intermedia al fascículo longitudinal medial (zona que inerva de manera preferentemente la CPF).

En las imágenes histológicas analizadas de los animales del grupo T se aprecia una gran cantidad de cuerpos neuronales en la zona intermedia al fascículo longitudinal medial (fig. 1A), en tanto que el análisis en la misma zona cerebral en los animales correspondientes al grupo C se apreció una leve pérdida de cuerpos celulares y una actividad glial moderada, 20 días después de la aplicación de la solución vehículo (fig. 1B). Por otro lado, en el grupo E, 20 días después de la lesión con el neurotóxico 5,7-DHT el análisis histológico reveló una pérdida masiva de cuerpos neuronales a nivel de la zona intermedia al fascículo longitudinal medial, así como una gran cantidad de glía reactiva (fig. 1C).

Expresión de las subunidades $\alpha 4$ y $\alpha 7$ de los R-Ach-n

La expresión del ARNm para la subunidad $\alpha 4$ en la CPF de la rata mostró un importante incremento (65 ± 6) después de la lesión del NRD en comparación con los animales del grupo T (15 ± 3) y C (13 ± 4) (fig. 2), en tanto que la expresión de la subunidad $\alpha 7$ mostró una disminución en los animales a los cuales se les lesionó el NRD (15 ± 6) en comparación

con los animales del grupo C (30 ± 3) y T (40 ± 5), respectivamente (fig. 3).

Discusión

La CPF es el centro responsable de las funciones ejecutivas del cerebro y participa en la planificación de conductas cognitivas complejas; de manera particular, participa en el procesamiento de la información mantenida en la memoria de trabajo²⁴ a través de la activación de los R-Ach-n²⁵. Dichos receptores se localizan tanto en la presinapsis como en la post sinapsis de diferentes estructuras cerebrales²⁶. Los resultados obtenidos en el presente trabajo demostraron que la denervación 5-HTérgica córtico frontal incrementa la expresión de la subunidad $\alpha 4$ en la CPF. Una de las combinaciones más ampliamente distribuidas y abundantes en el cerebro de la rata es la forma heteromérica $\alpha 4\beta 2$ ²⁶ y además se ha reportado que esta participa en la MCP (subtipo de memoria de trabajo)¹². En este sentido, se ha demostrado que la denervación 5-HTérgica córtico frontal provoca una mejora en la realización de una tarea que requiere de la evocación de información adquirida en el corto plazo, correlativamente con modificaciones morfológicas en neuronas piramidales de la CPF¹⁷, por lo que dichas alteraciones podrían deberse al incremento en la expresión de la subunidad $\alpha 4$. Sin embargo, para sustentar esta premisa es necesario realizar el análisis de la expresión de la subunidad $\beta 2$. Por otro lado, la sobreexpresión de la subunidad pudo ser el resultado de un fenómeno plástico de tipo compensatorio puesto en marcha por la CPF para modular la liberación o interacción de la acetilcolina u otras moléculas neurotransmisoras. Al respecto, se sabe que los R-Ach-n localizados en sitios post sinápticos participan de manera importante en la plasticidad sináptica y la regulación de los efectos propios de la acetilcolina²⁶.

Por su parte, la baja expresión de algunas subunidades del receptor se ha asociado con la patogénesis de diversas enfermedades neurodegenerativas²⁷.

En relación con la expresión del ARNm de la subunidad $\alpha 7$, esta mostró una disminución después de la denervación 5-HTérgica a la CPF. Al respecto, se ha reportado que los R-Ach-n en la CPF participan en la formación de la memoria a corto y largo plazo; así, la disminución de la subunidad $\alpha 7$ en la CPF se ha correlacionado con una disminución o pérdida de la formación de la memoria en pacientes con enfermedad de Alzheimer¹². Bajo el modelo de denervación 5-HTérgica se han reportado alteraciones en la ejecución de una prueba que requiere de la memoria de corto plazo¹⁷ y

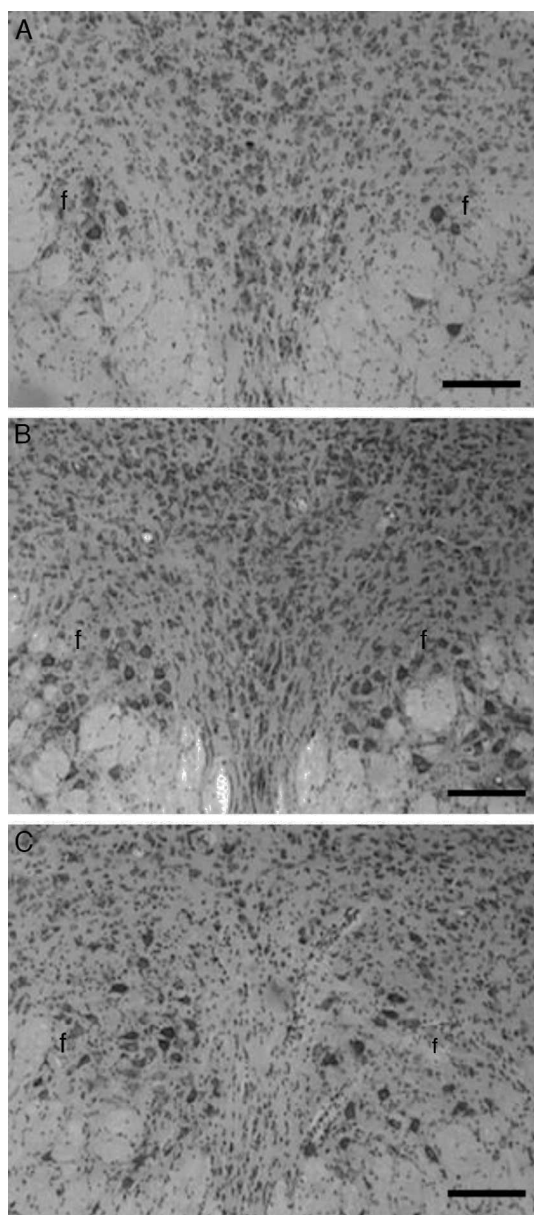


Figura 1 Imágenes histológicas representativas de cortes coronales del núcleo del rafe dorsal, en los que se aprecia la histología normal del grupo testigo (A), así como las características histopatológicas después de la microinyección de la solución vehículo en los animales del grupo control (B), o después de la aplicación de la neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina utilizada para destruir neuronas serotoninérgicas en los animales experimentales (C). Nótese la ausencia casi total de neuronas en el grupo lesionado, así como la mayor cantidad de glía en este último, respecto del grupo control y testigo. f: fascículo longitudinal medial; violeta de cresilo, barra = 100 μ m.

se ha demostrado que la liberación basal de 5-HT y Ach en la CPF disminuye¹⁸. En el presente trabajo, se observó una disminución en la expresión de la subunidad de los receptores $\alpha 7$, los cuales son expresados ampliamente en la CPF y de manera particular cuando son activados promueven vías de señalización necesarias para la formación de la memoria de referencia y de trabajo²⁶. Además, debido a su

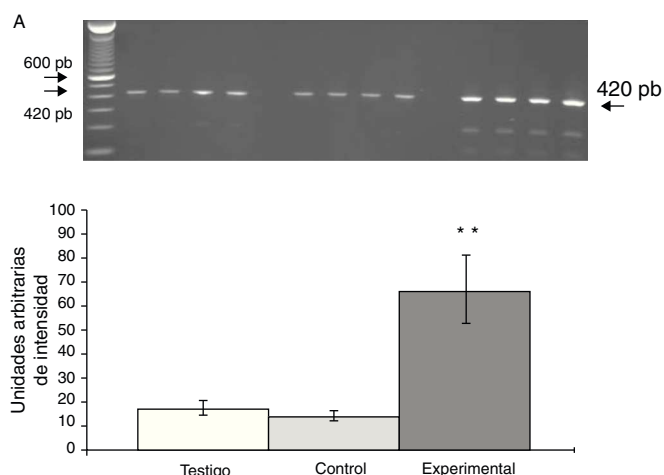


Figura 2 Niveles de ARNm de $\alpha 4$ en la CPF dorsomedial de ratas con lesión del núcleo del rafe dorsal. A) Fotografía de gel representativo de los diferentes grupos de trabajo. Los datos se expresaron como la media $\pm$ DE de 4 experimentos por duplicado. $p < 0,05$. **T vs E; + T vs C.

localización presináptica de forma homomérica en diferentes sistemas de neurotransmisión, su principal función es modular la liberación de acetilcolina²⁶. Por otro lado, la disminución de la expresión de la subunidad $\alpha 7$ se debe a la disminución del contingente de fibras 5-THérgicas a la CPF tras la lesión farmacológica del NRD²⁸. Se ha demostrado que la liberación de 5-HT en la CPF de la rata es promovida por la estimulación de diferentes conformaciones de los R-Ach-n¹⁵. Sin embargo, la combinación exacta de subtipos de R-Ach-n en dicho efecto no se conoce. Se ha sugerido que este efecto de liberación de 5-HT, al menos en el hipocampo, es regulado por los R-Ach-n²⁹ y la estimulación de estos puede aumentar o disminuir la liberación de 5-HT. En el primer caso, la liberación está promovida por la acción directa de R-Ach-n presentes sobre terminales 5-THérgicas en presencia de concentraciones altas de nicotina²⁹. En segundo lugar, su

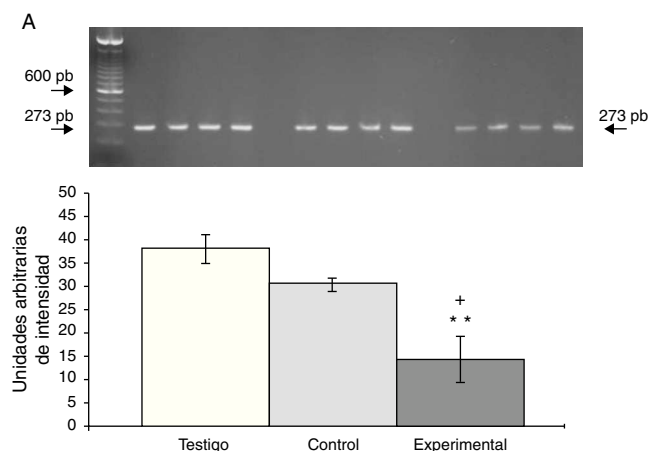


Figura 3 Niveles de ARNm de $\alpha 7$ en la CPF dorsomedial de ratas con lesión del núcleo del rafe dorsal. A) Fotografía de gel representativo de los diferentes grupos de trabajo. Los datos se expresaron como la media $\pm$ DE de 4 experimentos por duplicado. $p < 0,05$ **T vs E.

disminución es promovida por la propia liberación de Ach, mediante un efecto de tipo inhibidor sobre la liberación de 5-HT. En la actualidad, se desconoce el mecanismo preciso involucrado en esta interacción¹⁵.

Cabe mencionar que en el presente trabajo también se pudo apreciar una leve disminución en la expresión del ARNm para el subtipo de receptor $\alpha 7$ en el grupo de animales control en comparación con el grupo testigo. Esto podría deberse a la lesión parcial inducida por la manipulación mecánica de la cirugía y química del ácido ascórbico en las neuronas del NRD, ya que se ha reportado que el ácido ascórbico puede inducir estrés oxidativo hasta llevar a las células a apoptosis³⁰. Esto podría explicar la relativa disminución de los receptores $\alpha 7$ en la CPF en los animales de este grupo. Estos mismos resultados fueron observados en los animales del grupo experimental, pero con un cambio mayor.

En este estudio, se demostró que la lesión farmacológica del NRD modifica la expresión de los receptores $\alpha 4$ y $\alpha 7$ en la CPF de la rata. Además, ambos responden de una forma diferente a la lesión. Por un lado, la expresión de los receptores $\alpha 4$ incrementa y la de los $\alpha 7$ disminuye. Estos resultados podrían proporcionar una aproximación acerca de su participación en los procesos cognitivos. Sin embargo, es necesario realizar más experimentos para evaluar la expresión de todas las subunidades que componen a los R-Ach-n. Esto permitirá obtener información más completa acerca de su respuesta ante fenómenos de lesión relacionado con la plasticidad cerebral y, por ende, su posible participación en procesos relacionados con la memoria a corto plazo.

Así, los resultados obtenidos en este trabajo junto con aquellos reportados por nuestro grupo de trabajo demuestran la existencia de un efecto plástico de tipo compensatorio que pudiese estar mediando las posibles alteraciones en la transmisión de información cortical que subyace a la expresión conductual de la MCP bajo el modelo de denervación 5-HTérgica de la CPF.

Financiación

Trabajo parcialmente financiado por PROMEP, oficio 103.5/07/2636 con folio PTC-427, así como por el Fondo COECYTJAL-UDG mediante el folio del proyecto PS-209-515.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Riekkinen M, Sirviö J, Riekkinen Jr P. Pharmacological consequences of nicotinic plus serotonergic manipulations. *Brain Res.* 1999;622:139–46.
- Changeux JP. Allosteric receptors: from electric organ to cognition. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010;50:1–38.
- Levin ED, Simon BB. Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacol.* 1998;138:217–30.
- Terry AV, Buccafusco JJ, Prendergast MA. Dose-specific improvements in memory-related task performance by rats and aged monkeys administered the nicotinic-cholinergic antagonist mecamylamine. *Drug Dev Res.* 1999;47:127–36.
- Woodruff-Pak DS. Mecamylamine reversal by nicotine and by a partial $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist (GTS-21) in rabbits tested with delay eyeblink classical conditioning. *Behav Brain Res.* 2003;143:159–67.
- Spinelli S, Ballard T, Feldon J, Higgins GA, Pryce CR. Enhancing effects of nicotine and impairing effects of scopolamine on distinct aspects of performance in computerized attention and working memory tasks in marmoset monkeys. *Neuropharmacol.* 2006;51:238–50.
- Nott A, Levin ED. Dorsal hippocampal $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors and memory. *Brain Res.* 2006;1081:72–8.
- Addy NA, Nakijama A, Levin ED. Nicotinic mechanisms of memory: effects of acute local DHbE and MLA infusions in the basolateral amygdala. *Cogn Brain Res.* 2003;16:51–7.
- Pasternak T, Greenlee MW. Working memory in primate sensory systems. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:97–107.
- Jones IW, Wonnacott S. Precise localization of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors on glutamatergic axon terminals in the rat ventral tegmental area. *J Neurosci.* 2004;24:11244–52.
- Granon S, Poucet B, Thinus-Blanc C, Changeux JP, Vidal C. Nicotinic and muscarinic receptors in the rat prefrontal cortex: differential roles in working memory, response selection and effortful processing. *Psychopharmacol.* 1995;119:139–44.
- Kendziorra K, Meyer P, Wolf H, Barthel H, Hesse S, Seese A, et al. Cerebral nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in patients with Alzheimer's disease (AD) assessed with 2-F18-A85380 (2-FA) PET e correlations to dementia severity. *J Nucl Med.* 2003;4(Suppl. 1), 8P.
- Claassen J, Jansen R. Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in Alzheimer's disease and related cognitive disorders: the cholinergic-vascular hypothesis. *J Gerontol a Biol Sci Med Soc.* 2006;61:267–71.
- Livingstone PD, Srinivasan J, Kew JN, Dawson LA, Gotti C, Moretti M, et al. $\alpha 7$ and non- $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors modulate dopamine release in vitro and in vivo in the rat prefrontal cortex. *Eur J Neurosci.* 2009;29:539–50.
- Rao TS, Correa LD, Adams P, Santori EM, Sacaan AI. Pharmacological characterization of dopamine, norepinephrine and serotonin release in the rat prefrontal cortex by neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists. *Brain Res.* 2003;990:203–8.
- Brailowsky S, Stein DG, Will B. El cerebro averiado. Plasticidad cerebral y recuperación funcional. 2.^a ed. México DF: CONACYT/Fondo de Cultura Económica; 1998. p. 98–122.
- Pérez-Vega MI, Feria-Velasco A, González-Burgos I. Prefrontocortical serotonin depletion results in plastic changes of prefrontocortical pyramidal neurons, underlying a greater efficiency of short-term memory. *Brain Res Bull.* 2000;53:291–300.
- Pérez-Vega MI, Soria-Fregozo C, Beas-Zarate C, González-Burgos I, Feria-Velasco A. Acetylcholine release in rat prefrontal cortex during short term memory performance following cortical serotonergic denervation. Program N.º 2006 Neuroscience. Meeting Planner. Atlanta: Society for Neuroscience, 2006. Disponible en: <http://www.abstractsonline.com/viewer/SearchResults.asp>.
- Salas-Valdés A. Una tinción rápida y barata para citología vaginal. *Arch Invest Med.* 1979;10:147–50.

20. Paxinos G, Watson C. The rat in stereotaxic coordinates. 2.^a ed. San Diego: Academic Press, Inc.; 1986.
21. Rikkinen Jr P, Sirvio J, Valjakka A, Miettinen A, Riekkinen P. Pharmacological consequences of cholinergic plus serotonergic manipulations. *Brain Res.* 1991;552:23–6.
22. Wenk G, Hunghey D, Boundy V, Kim A. Neurotransmitters and memory. Role of cholinergic, serotonergic, and noradrenergic systems. *Behav Neurosci.* 1987;101:325–32.
23. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat Protoc.* 2006;1:581–5.
24. Robbins TW. Dissociating executive functions of the prefrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1998;351:1463–70.
25. Howe WM, Ji J, Parikh V, Williams S, Mocaer E, Trocmé-Thibierge C, et al. Enhancement of attentional performance by selective stimulation of $\alpha 4\beta 2$ (*) nAChRs: underlying cholinergic mechanisms. *Neuropsychopharmacol.* 2010;35:1391–401.
26. Dos Santos Coura R, Granon S. Prefrontal neuromodulation by nicotinic receptors for cognitive processes. *Psychopharmacol (Berl).* 2012;221:1–18.
27. Nordberg A. Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Biol Psychiatry.* 2001;49:200–10.
28. Soria-Fregozo C, Pérez-Vega MI, González-Burgos I, Feria-Velasco A, Beas-Zárate C. Prefrontal serotonergic denervation induces increase in the density of 5-HT_{2A} receptors in adult rat prefrontal cortex. *Neurochem Res.* 2008;33:2350–7.
29. Kenny PJ, File SE, Neal MJ. Evidence for a complex influence of nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal serotonin release. *J Neurochem.* 2000;75:2409–14.
30. Song JH, Shin SH, Ross GM. Oxidative stress induced by ascorbate causes neuronal damage in an in vitro system. *Brain Res.* 2001;895:66–72.