

01865

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Faj

FACULTAD DE PSICOLOGIA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

NEUROTRANSMISION COLINERGICA, FRECUENCIA,  
DURACION Y LOCALIZACION DEL ASKO EN RATONES

P r e s e n t a :

Lic. en Psic. Edgardo Ruiz Carrillo

T E S I S :

Para obtener el Grado de

MAESTRO EN PSICOBIOLOGIA

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

México, D. F.

1986.



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# I N D I C E

RESUMEN . . . . .	1
INTRODUCCION . . . . .	1
Conducta de Aseo, Exploración y su Relación con la Situación Novedosa . . . . .	1
Conducta de Aseo, Estres y su Vinculación con Agentes Ansiolíticos . . . . .	3
Sistema Catecolaminérgico, Exploración, Estres y Aseo . . . . .	4
Neuropéptidos y su Relación con la Conducta de Aseo y la Situación Novedosa . . . . .	6
El vínculo entre la conducta de aseo, estres y ACTH . . . . .	6
Prolactina y aseo . . . . .	9
Histamina y aseo . . . . .	11
La relación entre la transmisión colinérgica, ACTH y conducta de aseo . . . . .	12
OBJETIVO . . . . .	14
Neurotransmisión Colinérgica . . . . .	15
Eventos moleculares . . . . .	15
Síntesis de la acetilcolina . . . . .	15
Electrofisiología de la acetilcolina . . . . .	18
Almacenamiento y liberación de la acetilcolina . . . . .	19
Acetilcolina vesicular vs citoplasmática . . . . .	20
La identificación de los receptores de la acetilcolina . . . . .	23
Neurotransmisión y unión de receptores en el cerebro . . . . .	25
Electrofisiología . . . . .	26
Sistemas Neurales Colinérgicos . . . . .	31
Principales Drogas que Modifican la Transmisión Colinérgica . . . . .	33

Agonistas del receptor muscarínico . . . . .	33
Agentes bloqueadores del receptor muscarínico . . . . .	35
Agentes colinomiméticos . . . . .	36
Nicotina y acetilcolina . . . . .	37
Agentes anticolinesterásicos . . . . .	39
Efecto de las drogas sobre el recambio de la acetilcolina . . . . .	40
<b>METODO . . . . .</b>	<b>41</b>
Animales . . . . .	41
Ambiente Exploratorio . . . . .	41
Conducta y Registro . . . . .	41
Drogas . . . . .	43
Procedimiento . . . . .	44
Grupo I . . . . .	44
Grupo II . . . . .	44
<b>RESULTADOS . . . . .</b>	<b>46</b>
Grupo I . . . . .	46
Grupo II . . . . .	47
<b>CONCLUSIÓN Y DISCUSION . . . . .</b>	<b>51</b>
<b>FIGURAS . . . . .</b>	<b>58</b>
<b>TABLAS . . . . .</b>	<b>64</b>
<b>BIBLIOGRAFIA . . . . .</b>	<b>70</b>

Ruiz Carrillo, Edgardo.: Neurotrasmision colinergica, frecuencia, duracion y localizacion del aseo en ratones. Departamento de Psicobiologia y Conducta, Instituto Mexicano de Psiquiatria.

Con el objeto de evaluar la participacion de la trasmision colinergica central en la conducta de aseo se registraron la frecuencia, la duracion y la localizacion del aseo en dos grupos de ratones Balb/c machos adultos (n=7, n=10) en condiciones control y despues de la administracion cronica de escopolamina, fisostigmina y oxotremorina. El aseo espontaneo fue registrado diariamente (1000-1100 hrs) en la jaula de vivienda anotando el segundo de inicio y final de cada episodio de aseo espontaneo, asi como el lugar en el que ocurría. La media de los totales de duracion de aseo fue calculada y graficada en cada uno de los registros. El estudio fue dividido en etapas constituidas por periodos de condiciones basales, restriccion de agua (1500-1000 hrs) administracion cronica de drogas y control de recuperacion. Las drogas fueron administradas disueltas en el agua de beber que se introducía despues de la restriccion a las 1000 hrs, lo cual permitia el calculo de la cantidad promedio bebida por cada animal y de la dosis. Los dos grupos fueron analizados durante 145 dias y se totalizaron 69 registros para el primer grupo y 76 para el segundo. Los efectos de los farmacos se analizaron mediante la evaluacion de las diferencias entre las etapas utilizando como criterio de significancia una distancia mayor a 2 desviaciones standard entre las medias de cada periodo. Los niveles basales de aseo se encuentran entre 100 y 300 seg por animal y por registro, lo que representa entre 2 y 7% del tiempo. En el primer grupo la ingestion de escopolamina (0.04 mg/kg/dia/8 y 16 dias) incrementa el tiempo de aseo en comparacion con periodos control. Despues de la segunda serie de 16 dias de escopolamina los niveles de aseo no regresaron a la basal en un periodo de 30 dias, promediando 504 seg. La ingestion de 0.4 y 0.8 mgs/kg/dia/10 dias de fisostigmina recupera los niveles basales de aseo (314 seg), pero al ser descontinuada vuelven a subir a cifras similares al periodo previo. En el segundo grupo la restriccion de agua incrementa los niveles de aseo valores entre 300 y 400 seg. La fisostigmina (0.4 y 0.8 mgs/kg/dia/15 dias) disminuye el aseo a 235 seg, pero la diferencia no es significativa con ningun periodo control. La ingestion de dosis conductualmente toxicas de oxotremorina (1 y 0.5 mgs/kg) abaten el aseo, en tanto que 0.1 mgs/kg/dia/10 dias lo incrementan notoriamente hasta 538 seg. Despues del periodo control la escopolamina (0.06 mgs/kg/dia/13 dias) no produjo una alteracion significativa en el tiempo de aseo. No se encontro una alteracion definida en la localizacion del aseo.

Aparentemente la trasmision colinergica central esta en relacion inversa con la conducta de aseo en el raton. Es posible que la administracion repetida y cronica de escopolamina haya producido una alteracion persistente de los receptores muscarinicos.

## INTRODUCCION

Conducta de Aseo, Exploración y su Relación con la -  
Situación Novedosa.

La conducta exploratoria y el aseo son actividades - que se presentan al colocar a los roedores en un medio ambiente novedoso. Probablemente el organismo explore el medio ambiente para obtener información y reducir la incertidumbre (4). La exploración parece ser entonces una conducta de búsqueda de lo novedoso.

La conducta exploratoria inducida por el encuentro - con un objeto novedoso puede incluir aproximación, oler, morder, coger, acarrear, depositar, cubrir, mordisquear y en - ocasiones ataque. Sokolov (99) planteó que un estímulo nuevo evoca un reflejo de orientación que implica movimientos - oculares, alteraciones cardíacas y vasculares, activación de la respuesta galvánica de la piel y del electroencefalograma.

Brinda y Spinner (12) observaron que los animales expuestos a situaciones novedosas muestran un incremento en la actividad del aseo. Aunque a esta conducta se le llamó - "aseo inducido" por situación novedosa la contribución de lo novedoso se confunde con el manejo y transporte al cuarto de prueba y a veces con los efectos de otras manipulaciones, como la inyección sistémica o intracerebroventricular control. A pesar de que el aseo inducido por una situación novedosa - es menor al que se observa después de la administración de - algunos neuropéptidos, es mayor al registrado en la caja -

hogar sin manipulación, transporte e inyección. Es de notar que, en ratas, el estres mínimo inducido por manejo, transporte y situación novedosa lleva a un incremento en el aseo, en contraste con el inducido por choques eléctricos, que no lo hacen (57)

Robert Bolles (100) postuló que las ratas pasan el 40% del tiempo que están despiertas aseándose siguiendo el comer, el beber y el explorar. Según Draper (102); las unidades principales del aseo son el lavar, asear, frotar, rascar y lamer su pene. El lavar se refiere a alternar el lamido de las patas delanteras con el frotarse la cabeza. El aseo significa lamer y peinar sus flancos, las patas traseras, la cola y los incisivos. Rascar es peinar los flancos y la espalda con las uñas de las patas. Rothe (101) ha utilizado el aseo como un indicador del efecto de varias drogas en el ratón. Tomando en cuenta el tiempo que tarda en limpiarse el polvo de carbón que se encuentra en sus costados.

John Fentress y Frances Stilwell (103) observaron con detalle el aseo en ratones, particularmente desde un punto de vista matemático, tratando de entender qué tanto el aseo está gobernado por un programa central o estímulos periféricos. - Un ratón típicamente primero lava su cabeza antes de asear el cuerpo, pero ¿qué lugar de la cabeza? Existe un gran interés por hacer análisis de elementos de secuencias conductuales - que constituye la parte funcional orgánica y molecular del aseo.

El nado en ratones es una condición que favorece el - análisis de secuencias conductuales al registrarlas durante el secado.

Colber e Isaacson (14) propusieron que la inmersión de los ratones en el agua les induce asco excesivo y pica de papel. Díaz (21) demostró que el tallo cerebral presenta niveles de correlación positiva del asco inducido por nado y el diencéfalo con algunos índices de emocionalidad.

### Conducta de Asco, Estres y su Vinculación con Agentes Ansiolíticos.

Un gran número de estudios han demostrado que los ansiolíticos tienden a incrementar la conducta ambulatoria de los roedores en un ambiente no familiar (11, 17, 76). Los efectos parecen ser bifásicos, facilitatorios con dosis bajas e inhibitorios con dosis altas (75). El efecto es también dependiente del tiempo; la facilitación de la conducta exploratoria típicamente ocurre durante la fase inicial de la prueba y más tarde se invierte (54). La facilitación exploratoria inducida por los ansiolíticos se demuestra en animales que no han tenido experiencia con el aparato de prueba y la carencia de efectos en los animales ya experimentados (22, 53).

Existen evidencias en contra de que el incremento de la actividad exploratoria en los roedores se deba simplemente a una reducción del miedo (54); hay datos que sostienen que la conducta motora, por sí misma, puede ser estimulada por ansiolíticos, especialmente en ratones (5, 71), y no es factible separarlos de un efecto específico de los ansiolíticos sobre la exploración (95). Los efectos facilitatorios de los ansiolíticos no pueden generalizarse a otras medidas

de exploración. En la prueba "Asomarse al agujero", en donde la medida es el número de veces que el roedor introduce la - cabeza dentro de los agujeros de la caja donde está colocado (85), las benzodiazepinas en dosis relativamente bajas -tend- den a suprimir esta conducta "exploratoria" (93,94).

Santis y Díaz (87) diseñaron un experimento con el fin de analizar la respuesta de escape siguiendo un estímulo - aversivo. Los ratones machos Balb/c seleccionan lugares preferidos de aseo al ser colocados en un sitio novedoso, que - usan como refugio ante la presentación de un ruido fuerte. - Aunque el tiempo y la frecuencia de aseo varió entre los animales y los diferentes ensayos, se puede considerar que la - tendencia a limpiarse en un lugar preferido puede ser expresada por la probabilidad en términos del tiempo. Los mismos autores (83) planearon otro experimento, el cual tras la administración de diazepam (5 mg/Kg) los ratones mostraron una tendencia normal a limpiarse en un lugar preferido, pero nunca escaparon después del estímulo si el ruido ocurría cuando se encontraban fuera del lugar preferido, ni reasumieron la conducta exploratoria normal. El diazepam no alteró la selección de un lugar preferido de limpieza, lo cual sugiere - que el estrés no es un factor esencial en evocar la conducta.

#### Sistema Catecolaminérgico, Exploración, Estrés y Aseo.

Han existido varios intentos para distinguir estados emocionales basados sobre la tasa diferencial de liberación

de neurotransmisores como la norepinefrina y epinefrina (92). Esas investigaciones buscaron el papel que jugaba en la emoción las catecolaminas mediadas por la división simpática del sistema nervioso autónomo (63). A partir de lo anterior, se llevaron a cabo algunos experimentos con animales, específicamente con roedores, a fin de dilucidar la relación entre las catecolaminas y la emoción. Posteriormente Santis y Díaz realizaron un experimento con ratones para estudiar si la conducta de limpieza y la elección y uso de un sitio de refugio en ratones ante un ruido fuerte, en el campo abierto se afecta con drogas que alteran la transmisión dopaminérgica. La apomorfina incrementa en tres y una veces la duración de limpieza con dosis de 1 y 5 mg/Kg respectivamente, con una completa inhibición en dosis superiores a 50 mg/Kg; con el espiroperidol potente antagonista posináptico de los receptores D2, incrementa la duración de limpieza con dosis bajas (10 mg/Kg), mientras que con dosis intermedias no la modifica y niveles altos la suprime y la anfetamina suprime la limpieza en dosis superiores a 0.1 mg/Kg.

Los efectos de la apomorfina sobre la conducta de aseo, en sus diferentes dosis, sugieren que la estimulación de un receptor presináptico de la dopamina está correlacionada con el incremento en el aseo, mientras que la estimulación de un receptor posináptico está correlacionada con la inhibición de la limpieza. Así, la transmisión dopaminérgica estaría inversamente relacionada con la duración de la limpieza, dado que, bajas dosis de apomorfina decrementan la formación y liberación de dopamina por estimular al autorreceptor.

El aseo excesivo inducido en ratones por dos inyecciones intraperitoneales de solución salina, evocadoras de estres, fue bloqueado por la administración de antagonistas - seretoninérgicos, metisergida o pizotefina, y por haloperidol, pero no por fentolamina (antiadrenérgico $\alpha$ ), propranolol (antiadrenérgico B) (28). Hertzler, Hannigan e Isaacson (50), al administrar a ratones clonidina a dosis de 0.1 y 0.02 mg/Kg, un agonista de los receptores alfa 2 noradrenérgicos, subcutánea, encontraron que se suprime el aseo inducido por ACTH y estímulos novedosos. Por su lado Gispen y Brakke (40) observan que el pretratamiento con fenilalamina (5 mg/Kg), - un bloqueador alfa, no revierte el efecto de supresión del aseo inducido por ACTH y estímulo novedoso por la administración de clonidina.

#### Neuropéptidos y su Relación con la Conducta de Aseo y la Situación Novedosa.

El vínculo entre la conducta de aseo, estres y ACTH.

La actividad del aseo en ratas está en relación con situaciones de estres (14). Se ha propuesto que el aseo inducido por estímulos novedosos está mediado por la inducción de estres, liberador de la hormona ACTH endógena (14). La inyección de ACTH en el ventrículo cerebral causa excesivo aseo en ratas, ratones y pichones (41). El aseo provocado es aparentemente indistinguible del aseo espontáneo, excepto por su naturaleza excesiva. Tanto el aseo inducido por es-

tres, como por inyecciones de ACTH se piensa que están mediados por el mismo mecanismo hormonal. Así el aseo inducido - por estímulos novedosos se puede inhibir por inyecciones de antisuero de ACTH a nivel central y no a nivel periférico (36)

La acción de algunos antagonistas de los receptores - opiáceos, naloxona y naltrexona, sobre el aseo inducido por ACTH es de supresión (37).

Hanigan e Isaacson (49) mostraron que la presencia de estímulos asociados a la entrega de choques eléctricos en las patas de las ratas, días después de la administración dan lugar a un incremento en el aseo similar al inducido por la - hormona adrenocortrónica (ACTH) y estímulos novedosos. La administración de choques eléctricos fuera de la cámara experimental no instiga el aseo . Esto puede estar asociado con la liberación condicionada de péptidos (5) que se desencadena por la presencia de estímulos medioambientales asociados a la entrega de los choques inductores de estres, y que se bloquea con la administración de naloxona (1 mg/Kg) 10 minutos antes de colocar a los animales en la caja experimental.

Shiman Amir (3) para estudiar los efectos de la restricción física breve sobre la respuesta al estres inducido por calor, utiliza ratones obesos (ob/ob) y como controles - (ob/?) ratones delgados compañeros de crianza. Diez minutos de inmovilización antes de la colocación en una plancha caliente (46°), indujeron menos aseo y posiciones de erguido en los ratones ob/ob que en los ratones ob/?. Dado que los ratones ob/ob poseen niveles anormalmente elevados de Beta-endorfina y ACTH, se supone que estos péptidos están involucrados

de una manera diferencial sobre la respuesta al estres inducido por calor con la pre-exposición a restricción física. Este autor también nota que el pretratamiento con naloxona, revierte el aseo en los ratones ob/ob pero no en los ob/?.

Bajas dosis de los antagonistas opiáceos, naloxona y naltrexona, impiden el aseo inducido por ACTH (37). Dun y cols. ( ) estudiaron los efectos de la naloxona sobre el aseo inducido por ACTH en ratones y observan que se bloquea una hora después de la administración, pero no 16 horas más tarde. Estos resultados son paralelos a la respuesta de analgesia inducida por morfina medida por la intensidad del latigazo de la cola del ratón al presentarse un estímulo dañino. De aquí que se proponga que el aseo sea evocado por la interacción con un receptor que tiene propiedades similares a los responsables de la analgesia .

La administración intracerebroventricular de ACTH utilizada para inducir aseo, sería suficiente para saturar los receptores opiáceos cerebrales, a pesar de su relativa baja afinidad por el ACTH (35).

Las concentraciones en el plasma de la beta-endorfina y ACTH incrementan en paralelo después de la inducción de estres por choques eléctricos en las patas de las ratas (27), o fractura de pierna (6). Es posible que la beta-endorfina juegue un papel periférico relacionado con cambios en la función adrenocortical o en el metabolismo intermedio durante el estres (6). La beta-endorfina puede estar relacionada con la activación de algún componente involucrado en la respuesta

de estres.<sup>(41)</sup> Por ésto es factible que el aseo se modifique con la administración de beta-endorfina y sus fragmentos correspondientes, dada la relación tan estrecha que tiene con la hormona ACTH en situaciones de estres. Gispen (39) notó - que la administración de beta-endorfina en ratas, causa un aseo excesivo, estimula la ingesta de comida (42) y decremen- ta la actividad general en ratas.<sup>(29)</sup> Gispen estudia los efectos de los fragmentos de la lipoproteína (LPH) sobre el aseo en ratones, notando que dentro del fragmento LPH<sub>61-69</sub> contiene la secuencia esencial para inducir aseo excesivo en ratones.

El aseo también se induce por la inyección intracerebroventricular de beta-endorfina pero no por beta-LPH o las encefalinas (29). Pequeñas dosis de morfina también inducen aseo aunque esta droga es menos efectiva que los péptidos, - quizá por que posea una actividad depresiva (24)

#### Prolactina y aseo.

Se conoce que la hiperprolactinemia afecta algunos tipos de conducta en ratas. La hiperprolactinemia inducida - por autoinjertos de la pituitaria, muestra estimulación parcial sobre la conducta copulatoria en ratas. La adquisición de la conducta de evitación activa, parece ser facilitada por la hiperprolactinemia en ratas, y resulta también de la respuesta a choques eléctricos en las patas, y realza el efecto de la anfetamina y la apomorfina en la inducción de estereotipias (24). La hiperprolactinemia endógena inducida por - autoinjertos o la inyección intracerebroventricular de prolac-

tina en ratas, realzan el aseo (23). Gerendai-Drago y Continnella (36) hicieron estudios con el objeto de ver si variaciones en la concentración de prolactina en el plasma sanguíneo inducidas por mastectomía del lado derecho e izquierdo y vagotomía del lado derecho e izquierdo y bilateral, en ratas, influyen en el aseo. La mastectomía del lado derecho e izquierdo incrementa y decrementa respectivamente las concentraciones de prolactina en plasma e inducen de igual manera un aumento y disminución del aseo. La mastectomía bilateral incrementa de forma leve los niveles de concentración de prolactina en plasma e induce un aumento en el aseo. La vagotomía del lado derecho e izquierdo resulta en niveles altos de prolactina en la sangre. Observándose un incremento en el aseo, sólo después de la vagotomía del lado izquierdo y ningún cambio con la del lado derecho. En este caso, es posible que la vagotomía del lado derecho pueda interferir vías que son necesarias para inducir el aseo, y podría ocurrir que estas vías tengan un efecto importante sobre los cambios inducidos por la hiperprolactinemia. La vagotomía del lado izquierdo y derecho, tiene un efecto diferencial sobre el aseo en ratas, de aquí se abre la posibilidad de una asimetría funcional vagal. (36)

El sistema dopaminérgico nigro-estriado puede subyacer a este tipo de aseo pues la inyección intraestriatal de antagonistas de la dopamina decremantan el aseo inducido por inyecciones de prolactina en la substancia negra (36).

### Histamina y aseo.

Una vez probado que el aseo inducido por estímulos novedosos está mediado por el estres inductor de la liberación de ACTH endógena (14) se plantea que el aseo puede resultar de una acción modulada por la hormona sobre un sistema neurotransmisor particular. Se ha sugerido que la histamina juega un papel importante en la liberación de la prolactina y vasopresina en la glándula pituitaria, en la tolerancia a la morfina, en la percepción del dolor, en el sistema extrapiramidal y en la esquizofrenia. Aunque la histamina no pasa la barrera hematocefálica, la histidina se ha utilizado para incrementar los niveles de histamina, que resultan en un incremento en la concentración de inhibidores y estimulantes neuronales y reducción de niveles cerebrales de otros aminoácidos por inhibición de su transporte de membrana en el cerebro ( ).

Callogan, Harowitz e Isaacson (13) realizaron un estudio para aclarar el posible papel del sistema histaminérgico en el aseo excesivo de ratones expuestos a manipulación y a un medio ambiente novedoso. Dado que, los receptores  $H_1$  y  $H_2$  median distintos efectos fisiológicos (24), se probaron fármacos agonistas y antagonistas de cada uno para observar su efecto sobre el aseo inducido por estímulo novedoso. Los ratones tratados con varias dosis de un agonista de los receptores  $H_1$ , (2 - 2 piridil - etilamina 0, 25, 45 y 65 mg/Kg) y un antagonista de los receptores  $H_2$ , (cimetidina: 0, 75 y 300 mg/Kg) vía subcutánea, produjeron un incremento del aseo significativo con respecto a los niveles basales. Por otro lado,

la administración de un antagonista de los receptores  $H_1$ , - (difenhidramina: 0, 5, 10 y 15 mg/Kg) y un antagonista de los receptores  $H_2$ , (dipramit: 0, 25, 45 y 65 mg/Kg) por vía subcutánea, atenuaron el aseo inducido por manejo y situación novedosa.

La naturaleza de la relación entre el efecto del ACTH y el sistema neuromodulador histaminérgico (13), con respecto al aseo inducido permanece sin ser aclarada. Sin embargo, - aquí se muestra un efecto sistemático de la acción de los - receptores histaminérgicos sobre el aseo inducido en ratones por manejo y situación novedosa.

La relación entre la transmisión colinérgica, ACTH y conducta de aseo.

Dunn y Vigle (28) pretendieron aclarar el papel que - juegan los diferentes sistemas bioquímicos en el aseo y de - qué manera las neuronas colinérgicas y los receptores muscarínicos subyacen al aseo inducido por ACTH en ratas. Encuentran que el aseo inducido por la administración de  $ACTH_{1-24}$  (1 mg/Kg) por vía intracerebroventricular se bloquea cuando se suministran inmediatamente después las siguientes drogas; metilatropina (0, 1, 5 y 10 mg/Kg), metilescopolamina (0, 1 y 5 mg/Kg) por vía intraperitoneal y metilatropina (0.1 mg), - metilescopolamina (0.1 mg) por vía intracerebroventricular y hemicolinium (10 mg). Ninguna de esas drogas predijo cambios dramáticos sobre la conducta en ausencia de ACTH, parecería que las neuronas colinérgicas están involucradas en el - aseo inducido por ACTH, y que los efectos de las drogas son

a nivel central.

Ferrari y cols. (39) propusieron que el estiramiento y el bostezo inducido por ACTH se inhibe con la administración de atropina y escopolamina. Este hallazgo implicaría que los antagonistas muscarínicos, en dosis moderadas inhiben el asco inducido por ACTH y que los efectos son a nivel central y abre la posibilidad de mecanismos comunes, ya sea a nivel de receptores colinérgicos o peptidérgicos, subyaciendo a la conducta de asco.

## OBJETIVO

El presente trabajo se realiza para establecer si la administración de drogas que afectan la transmisión colinérgica, modifican el aseo espontáneo en ratones, y el lugar preferido para realizarlo.

## Neurotransmisión Colinérgica.

### Eventos moleculares.

La acetilcolina se sintetizó por primera vez en 1867. Sin embargo, su importancia biológica no se conoció hasta muchos años después cuando Dale (18) notó que la aplicación de la acetilcolina imitaba a la estimulación de los nervios parasimpáticos y Loewi (12) descubrió su efecto sobre el corazón. Dale y cols. (19) identificaron la acetilcolina como un neurotransmisor en la unión neuromuscular esquelética. A pesar de esos hallazgos se encontraban dificultades para evaluar su papel en el sistema nervioso central (20). En la actualidad se ha acumulado gran cantidad de información sobre la actividad colinérgica central y las drogas que la afectan.

### Síntesis de la acetilcolina.

La síntesis de este neurotransmisor es el resultado de la reacción entre la acetilcoenzima A y la colina. La coenzima A se encuentra dentro de la mitocondria y contiene la base adenina nucleótido purina, el ácido pantoténico y otros grupos químicos. La acetilcoenzima A se sintetiza dentro de las mitocondrias aparentemente en todas las células. Participa en muchas reacciones metabólicas de acetilación, una de las cuales inicia el ciclo del ácido tricarbóxico, la vía principal para la oxidación aeróbica de los carbohidratos.

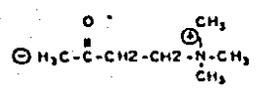
La acetilcoenzima A se sintetiza por varias vías, pero la más importante involucra el ácido pirúvico, que deriva de la glucosa por glicólisis anaeróbica. La acetilcoenzima A participa en la formación de acetilcolina en presencia de colina y colinacetilasa. No se conoce exactamente cómo la acetilcoenzima A se transporta a través de la membrana mitocondrial para participar en la síntesis de acetilcolina. Sin embargo, existen evidencias de un transporte dependiente de calcio de acetilcoenzima A que atravieza la membrana dentro del sinaptoplasma colinérgico. Este proceso está mediado por la enzima fosfolipasa, que cataliza la ruptura de la membrana de los fosfolípidos por hidrólisis (7).

La colina es un aminoácido en la comida y también se produce en el hígado. La colina sináptica se absorbe del torrente sanguíneo y también se deriva, al menos en parte, de la hidrólisis de los fosfolípidos, como la fosfatidilcolina (lecitina). Sin embargo la mayor fuente de colina para la síntesis de acetilcolina llega de la misma acetilcolina, que se hidroliza a través de la enzima acetilcolinesterasa y, por el proceso de recaptura entra de nuevo a la terminal presináptica del fluido extracelular.

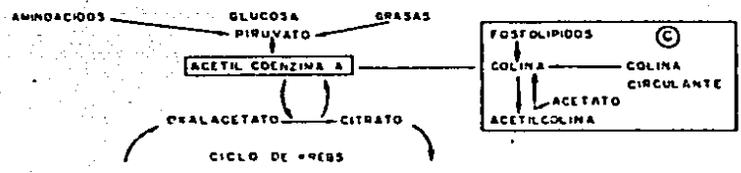
La colina se recapta específicamente en la zona sináptica o de una manera general en otros lugares a lo largo del axón o en el pericarion de la membrana. En la zona sináptica la recaptura es un proceso de alta afinidad dependiente de sodio. Esto significa que la colina será tomada rápidamente siempre que su concentración sea más baja que el número de iones de sodio disponibles. En contraste, la baja afi-

### BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA DE LA ACETILCOLINA

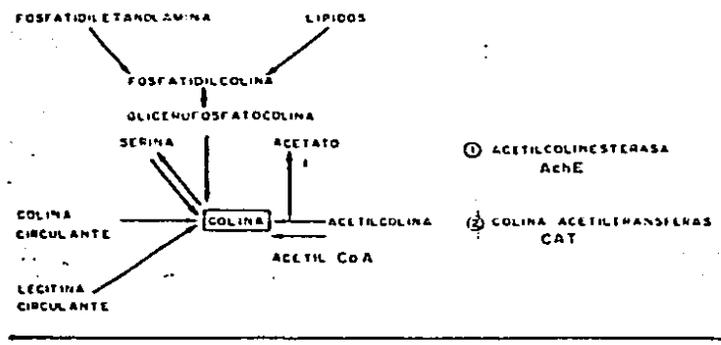
#### A. Estructura de la acetilcolina



#### B. Metabolismo de acetilcoenzima A



#### C. Metabolismo de la colina



nidad de recaptura ocurre únicamente si la concentración de colina es alta, así, la disponibilidad de sodio no es decisiva. La colina que es recapturada por el sistema de alta afinidad va directamente a la síntesis de acetilcolina, mientras que la colina que es capturada por el sistema de baja afinidad se presupone va a formar parte de la síntesis de fosfolípidos. Hay datos que sostienen la hipótesis de que la cantidad de acetilcolina capturada por las células determina la cantidad de acetilcolina que estará disponible para la transmisión. Así la recaptura de la colina es el paso - limitante en la síntesis de la acetilcolina (33).

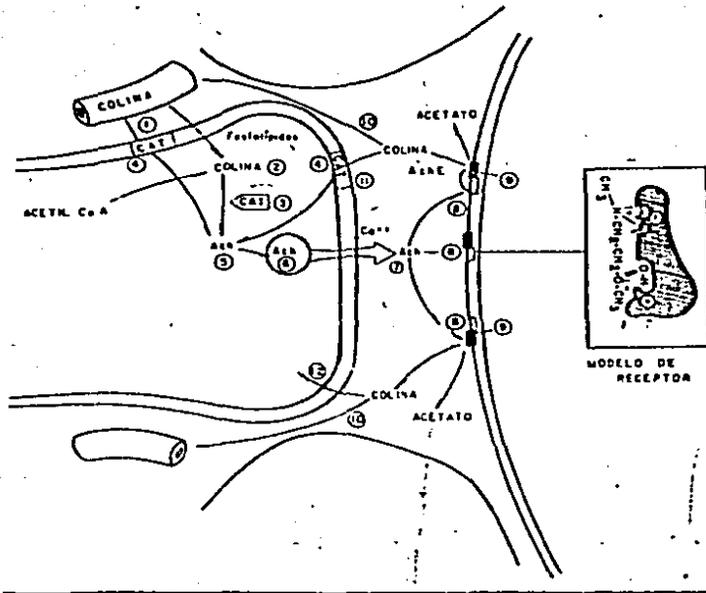
En la homogeneización y centrifugación diferencial del tejido colinérgico la colina acetilasa se encuentra en el citoplasma de los sinaptosomas. Algunas de las enzimas que - existen libres en el citoplasma aparecen adheridas a las vesículas. La concentración de esta enzima en algunas regiones en particular del sistema nervioso es paralela a la cantidad de neuronas colinérgicas en esa región. Así existe una amplia concentración de la enzima en el núcleo caudado y en el cerebelo. La enzima es abundante en la raíz ventral espinal y escasa en la raíz dorsal. Es casi seguro que la colina - acetilasa se sintetiza en el pericarion y es transportada - vía flujo axoplasmático a la terminal del axón. En el flujo retrógrado se encuentra una pequeña fracción de la enzima. El flujo de la colina acetilasa se inhibe con la inyección de colchicina (77).

### Electrofisiología de la acetilcolina.

El mecanismo de control en la sinapsis de la síntesis de acetilcolina y otros neurotransmisores es un proceso llamado inhibición por producto final o inhibición por retroalimentación. Esto es, la cantidad del producto final del proceso de síntesis (el neurotransmisor) mantiene el equilibrio de su producción. Por lo tanto, cuando hay suficiente transmisor disponible para su tarea usual la síntesis baja y cuando el transmisor está siendo utilizado en una tasa rápida se incrementa la síntesis.

La enzima que sintetiza la acetilcolina, la colina - acetilasa utiliza como sustratos a la acetilcoenzima A y a la colina y es sensible al producto final. La enzima tiene diferentes sitios de unión para el sustrato y el producto final. Cuando el producto está presente en alta concentración, éste llega a estar unido a la enzima. La unión con el producto final causa cambios en la estructura de la enzima, reduce su capacidad para unirse a los sustratos y lentifica o bloquea la síntesis de acetilcolina. La modulación de la síntesis de acetilcolina ha sido demostrada por algunos investigadores, utilizando diferentes tejidos como el ganglio cervical superior del gato (10), y administrando eserina y midiendo la actividad fisiológica y/o conductual, en gatos (63).

## LA SINAPSI COLINERGICA



- ① TRANSPORTE ACTIVO DE COLINA A PARTIR DE LA CIRCULACION.
- ② NIVELES DE COLINA LIMITANTES EN LA SINTESIS.
- ③ COLINA ACETILTRANSFERASA CITOPLASMICA.
- ④ COLINA ACETILTRANSFERASA MEMBRANAL.
- ⑤ ACETILCOLINA REGIMEN SINTETIZADA.
- ⑥ ACETILCOLINA ALMACENADA EN VESICULA.
- ⑦ ACETILCOLINA LIBERADA.
- ⑧ RECEPTORES A LA ACETILCOLINA
- ⑨ ACETILCOLINESTERASA MEMBRANAL ASOCIADA AL RECEPTOR.
- ⑩ FRACCION DE COLINA ELIMINADA.
- ⑪ FRACCION DE COLINA "RECAPTADA" POR CAPTURA Y TRANSPORTE ACTIVO.
- ⑫ FRACCION DE COLINA "RECAPTADA" POR DIFUSION.

### Almacenamiento y liberación de la acetilcolina.

Fatt y Katz (32) sugirieron que la terminal del axón en una unión neuromuscular libera acetilcolina, siempre en presencia y ausencia de impulsos nerviosos. Cuando introdujeron un microelectrodo dentro de la fibra muscular cerca de una unión neuromuscular, registraron pequeñas despolarizaciones espontáneas azarosas en la membrana muscular del músculo. La amplitud de la despolarización oscilaba entre 0.5 y 1 - milivoltios. Cuando alejaron el electrodo aproximadamente - 2 mm del lugar de la unión, la despolarización no desaparecía llamaron a este fenómeno, potencial miniatura de la placa terminal (PMPT), para distinguirlos de los potenciales de la placa terminal, los cuales tienen una mucho mayor amplitud (5.0 milivoltios), que son resultado del potencial de acción presináptico actuando sobre una unión neuromuscular. Estos autores observaron que la razón de la descarga del PMPT se incrementaba con la despolarización y decrementaba con la hiperpolarización de la membrana presináptica. Estos datos llevaron a la conclusión de que el PMPT reflejaba una respuesta de la membrana muscular a una liberación espontánea de un quantum de acetilcolina. El veneno de la araña de la viuda negra - causa un importante incremento y luego un decremento en la - frecuencia del PMPT (33). El incremento en la frecuencia - concuerda con el efecto de la estimulación del veneno y la - caída está en correlación con la depleción resultante en la vesícula sináptica. Se ha mencionado que el calcio es necesario para la liberación del transmisor. Se presume que el

calcio entra a la superficie interna de la membrana del axón e inicia la liberación de quants, quizás por afectar la contracción de la vesícula fundida en la membrana terminal, o por formar complejos calcio-calmodulina, que inducen cambios en la membrana presináptica, permitiendo la liberación del transmisor. Se ha concluido en otros experimentos, que la reducción de 4 iones de calcio afecta la liberación de un quantum de transmisor (83). Los iones de magnesio también tienen una alta afinidad por los procesos de la terminal nerviosa. Si la concentración del magnesio es suficientemente alta puede bloquear el influjo del calcio y es de esta manera como afectaría la liberación de la acetilcolina.

En contraste al PMPT, el potencial postsináptico excitatorio (PPE) es la respuesta de la membrana muscular a la liberación de la acetilcolina, después de una descarga nerviosa de la membrana presináptica.

#### Acetilcolina vesicular vs citoplasmática.

Como ya se indicó la acetilcolina se encuentra en algunas subfracciones del tejido neural homogeneizado. Existen evidencias de que la acetilcolina está presente en el pericarion, en el citoplasma sinaptosomal, y en la vesícula sináptica (73). La existencia de esos diferentes depósitos de acetilcolina se han establecido por infusiones en neuronas colinérgicas con colina radioactiva y estimulación eléctrica. En un experimento, se hizo perfusión del ganglio cervical superior con colina radioactiva, hasta que la colina se marcó completamente. Luego el nervio se estimuló ante la presen-

cia de colina no marcada. La acetilcolina liberada tenía más bajo nivel de radioactividad que la acetilcolina restante en el ganglio. Así durante la estimulación, la colina no marcada rápidamente entró a la terminal tomando parte en la síntesis de acetilcolina y liberándose inmediatamente (33). En otro experimento se hizo el procedimiento a la inversa. El tejido cerebral del conejo no marcado se estimuló ante la presencia de colina radioactiva. En este caso, la acetilcolina liberada, era más radioactiva que la acetilcolina del tejido. Por lo tanto, la acetilcolina liberada, pudo haber sido la recién sintetizada a partir de la colina radioactiva (33). En el órgano eléctrico del pez torpedo, el cual ha sido ampliamente estudiado por su gran cantidad de sinapsis colinérgicas, se encuentra una rápida caída de la acetilcolina libre del citoplasma durante su estimulación, y después de una extensa estimulación, la acetilcolina vesicular decae. De este modo parece que bajo esas condiciones la estimulación causó la liberación de la acetilcolina recién sintetizada y no de la vesicular (33). Es difícil reconciliar esos resultados con el concepto de vesícula sináptica como el depósito exclusivo para la sustancia transmisora y especialmente como el agente exclusivo de la liberación por exocitosis (33).

No hay evidencias que muestren una significativa recaptación de la acetilcolina a la célula nerviosa. Así, la degradación y difusión de la acetilcolina en la hendidura sináptica son probablemente los mecanismos principales para la terminación de la acción del transmisor, y para permitir a la terminal presináptica regresar a su estado de reposo.

### Catabolismo y terminación de la acción de la acetilcolina.

La acetilcolina es degradada por la acetilcolinesterasa para producir colina y ácido acético. Esto ocurre como sigue: la enzima tiene una región con carga negativa, que llega a estar unida a la carga positiva del nitrógeno cuaternario de la acetilcolina y contiene también una carga positiva, sitio esterásico en donde se une el acetato. Es de esta manera - como la molécula de acetilcolina se divide liberando a la colina, que es recapturada por la membrana presináptica. La molécula acetilada se hidroliza para regenerar la enzima y liberar ácido acético que entra a otro proceso metabólico.

Otra esterasa, la butirilcolinesterasa que se encuentra en la glía, puede ser importante en la activación de la acetilcolina que se difunde en cantidades apreciables de la hendidura sináptica. Se ha estimado que la liberación de la acetilcolina en la transmisión neuromuscular se hidroliza en 2 mseg y el tiempo de recambio para la acetilcolinesterasa es menor de 100 mseg (§3). La concentración de acetilcolinesterasa es paralela a la acetilcolina y la colina acetilasa. Por ejemplo, existe una alta concentración de acetilcolinesterasa en la unión neuromuscular especialmente en la región de la placa terminal muscular. Esta alta concentración parcialmente se explica por los repliegues de la postunión de la membrana que incrementa la superficie receptiva.

En algunos lugares del receptor la alta concentración de la acetilcolina puede inhibir la acción de la acetilcolinesterasa. La inhibición ocurre cuando una segunda molécula de acetilcolina se une por sí misma a la región con carga negativa del complejo enzima acetilada justo antes de la hidró-

PRINCIPALES DROGAS QUE MODIFICAN LA TRANSMISION COLINERGICA.

Fármaco	Mecanismo de acción	ACETILCOLINA		
		Niveles endógenos	Recambio	Transmisión
Arecolina Pilocarpina Muscarina Oxotremorina	Agonistas del receptor muscarínico	↑	↓	↑ ↑
Atropina Escopolamina Antidepresivos Antipsicóticos Δ <sup>9</sup> - THC	Antagonistas del receptor muscarínico	↓	↑	↓ ↓
Anfetamina	Incremento de la liberación de Ach	±		↑
Barbitúricos	Disminuyen la liberación de Ach	±		↓
Nicotina	Agonistas del receptor nicotínico			↑ ↑
Curare alfa bungarotoxina	Antagonistas del receptor			↓ ↓ ↓
Fisostigmina	Anticolinesterásicos	±	↓	↑
Toxina botulínica	Disminuye la liberación de Ach en terminal nicotínica			↓ ↓ ↓

lisis que libera al ácido acético. Bajo esas condiciones, - la hidrólisis que separa al ácido acético de la superficie de la membrana decrece lentamente.

Cuando las áreas del receptor están continuamente expuestas se desencadena un proceso de desensibilización. Este es uno de los mecanismos para la acentuación y atenuación de la acción de la acetilcolina en la sinapsis.

La identificación de los receptores de la acetilcolina.

La identificación química de los receptores colinérgicos ha sido un problema difícil de resolver. Se creía que la acetilcolinesterasa era el receptor y también la enzima degradante. Sin embargo, los estudios químicos demostraron que esto es improbable, aunque el número de sitios activos - de la acetilcolinesterasa fuera muy similar al número de sitios receptores.

Cuando los lugares del receptor se bloquean con curare (en la unión neuromuscular) o con atropina (en el corazón), la acetilcolinesterasa funciona y degrada rápidamente, sugiriendo que hay diferencias entre el receptor y la acetilcolinesterasa, se cree que el receptor es una proteína molecular que se une a la membrana para formar un ionóforo, cuya formación se altera por la unión de la acetilcolina. De esta manera, los canales se crean para permitir el paso de sodio y potasio a través de la membrana. En un análisis efectuado - para aislar la proteína del receptor indica que tiene un peso

de alrededor de 300,000 y está constituido por tres o más subunidades, propiedades que son típicas de otros receptores de la membrana (33).

Una técnica utilizada por Molinoff (31) basada en los estudios de Lee y cols. (69) que involucra el uso de bungarotoxina señala que la toxina de una manera rápida e irreversible bloquea la transmisión colinérgica en la unión neuromuscular. La toxina actúa uniéndose a los receptores nicotínicos y no altera el potencial de acción en los nervios, pero impide la liberación de la acetilcolina o los cambios de la actividad de la colinesterasa. De lo anterior se deduce que la toxina provee al investigador de una herramienta selectiva con la cual estudiar al receptor, dado que actúa ocupando sitios de receptores colinérgicos e impidiendo la despolarización inducida por acetilcolina sobre la membrana postsináptica (16).

La competencia de drogas agonistas y antagonistas nicotínicos, como la d-tubocurarina y nicotina, dan a la técnica de marcaje la posibilidad de identificar receptores en la membrana postsináptica del tejido neural (31) y sobre la membrana muscular. El examen de uniones neuromusculares muestran que la toxina marcada, se concentra en la placa terminal del músculo (79, 51). En mamíferos los receptores de la bungarotoxina no se encuentran donde la sensibilidad a la acetilcolina estaba ausente. Además si se secciona el nervio los sitios de unión se esparcen sobre todo el músculo, incrementando el número de sitios hasta 20 veces por un período de alrededor de tres semanas. La sensibilidad a la acetil-

colina se presenta en un tiempo similar (84). El fenómeno se llama "supersensibilidad por denervación" y demuestra que las proteínas de los receptores pueden ser modificadas por eventos crónicos que involucran a la terminal nerviosa. Cambios de este tipo en los receptores pueden proveer un modelo para entender el fenómeno de tolerancia a las drogas. Se puede considerar la acción de algunas drogas como una "denervación farmacológica", en el caso donde la sensibilidad del receptor está incrementada y pueden disminuir los efectos de la droga - después de la administración repetida.

#### Neurotransmisión y unión de receptores en el cerebro.

En 1970 y 1971 algunos investigadores lograron identificar receptores colinérgicos nicotínicos en el órgano eléctrico de la anguila y el pez torpedo (86). Estos estudios - tienen la ventaja de que el 20 % de las proteínas de la membrana del órgano eléctrico consisten de receptores colinérgicos a diferencia de los receptores de los neurotransmisores - en el cerebro que comprenden una fracción muy pequeña de la proteína cerebral. El uso de transmisores marcados permiten evaluar la recaptura de la terminal nerviosa de catecolaminas y otros neurotransmisores. Algunos intentos de clasificar - receptores por la unión o enlace a drogas radioactivas, no - han tenido éxito por la escasez de sitios receptores específicos, comparados con los sitios de unión no específicos que abundan en las membranas biológicas.

La mayoría de las uniones de moléculas radioactivas a la membrana está dada por una variedad de fuerzas que incluyen la fracción iónica, interacción hidrofóbica y las fuerzas de Van der Waals. El uso de ligandos de receptores con alta - afinidad y una alta radioactividad específica permite que el empleo de bajas concentraciones manifieste muy pocas uniones no específicas. Sin embargo, las uniones no específicas pueden ser también de alta afinidad y algunas veces mostrar especificidad en los sustratos, parecida de alguna manera, a la de los receptores específicos. Las uniones no específicas se pueden lavar rápidamente como sea posible, de tal manera que no interfieran con la retención de enlaces específicos. Si la tasa de disociación de ligandos del receptor biológico es suficientemente rápida, ésta se lavará siempre si la unión es de alta afinidad. Por ejemplo la estricnina, tiene una - afinidad nanomolar por el receptor de glicina y éste tiene - una vida media de disociación de alrededor de 30 a 45 segundos, a una temperatura de 4 °C (44). La alta afinidad se mantiene por una tasa rápida de asociación. Así la unión de estricnina al receptor de la glicina no puede ser medida bajo las condiciones en las que el tejido es lavado.

#### Electrofisiología.

Una sinapsis colinérgica constituye un sistema más complejo a nivel central que periférico. Con la estimulación - presináptica y la concomitante liberación de acetilcolina, - la neurona colinoceptiva postsináptica manifiesta primero -

una inmediata, rápida e intensa respuesta intracelular, el potencial postsináptico excitatorio, parecido al potencial de la placa terminal en la unión neuromuscular. La contraparte registrada a nivel extracelular de esta respuesta es la onda negativa (N) (29). La segunda respuesta de la despolarización excitatoria, es el potencial postexcitatorio lento muscarínico y su contraparte es la onda negativa tardía. La tercera es la respuesta despolarizante excitatoria que no es de naturaleza colinérgica. Su contraparte extracelular es el potencial negativo lento y tardío. La cuarta, es un potencial lento, de naturaleza inhibitoria e hiperpolarizante: el potencial P (29). Este potencial puede servir para suprimir el potencial postsináptico excitatorio lento y tardío y la concomitante desestabilización y es demasiado débil para suprimir el potencial postsináptico excitatorio rápido y bloquear la transmisión ganglionar (46).

El mecanismo iónico que subyace a estas cuatro respuestas está relacionado con la electrogénesis colinérgica en el sistema nervioso central. La generación del potencial postsináptico excitatorio rápido depende de la corriente dirigida a partir de los sitios nicotínicos subsinápticos que incrementa la conductancia de sodio y potasio (la generación del potencial postsináptico de placa es igual). El potencial postsináptico excitatorio lento muscarínico no se acompaña de un incremento en la conductancia (46); éste puede ser generado, no por corriente iónica, y sí a nivel metabólico, ya que tiene sus propios inhibidores. Finalmente la electrogénesis del potencial postsináptico excitatorio lento y tardío se de-

be a un lento y sostenido incremento en la permeabilidad de la membrana no colinoceptiva al sodio y potasio, mientras - que el potencial postsináptico inhibitorio lento, se debe al concomitante decremento de la resistencia por el transporte activo electrogénico posiblemente del sodio.

Greengan y cols. (46) proponen que la naturaleza del potencial postsináptico excitatorio e inhibitorio está relacionado con la participación del AMP y GMP cíclico que subyacen a los cambios en la permeabilidad de la membrana neuronal. Hay datos que contradicen esta hipótesis; Karczmar (87) no observa la hiperpolarización en células ganglionares en presencia y ausencia de inhibidores de la fosfodiesterasa, ni tampoco cambios en el potencial P. Algunas drogas no colinérgicas pueden incrementar la liberación del transmisor en el ganglio y en la unión neuromuscular, vía su efecto en este sitio (46), donde el AMP cíclico no parece estar involucrado (87).

Hay neuronas que responden a la aplicación de la acetilcolina por iontoforesis, o que muestran una respuesta colinérgica ante la estimulación eléctrica de vías apropiadas presentes en la mayoría de regiones del cerebro (64,66). Su frecuencia varía de baja (ciertas áreas límbicas, corticales y del cerebelo), a alta (núcleo caudado, médula y formación reticular pontina). Las neuronas centrales pueden responder a la estimulación eléctrica o a la administración de acetilcolina a nivel nicotínico o muscarínico. La respuesta nicotínica clásica es la de las células Renshaw. Las células de Renshaw muestran también una respuesta muscarínica demorada, cuando son estimuladas de una manera refleja. Pocas neuronas

centrales muestran una respuesta rápida y aguda típica de la estimulación nicotínica que se encuentra en el geniculado lateral, médula, tálamo, núcleo supraóptico y excepcionalmente la circunvolución del cíngulo (64, 66, 72). A nivel más central, (hipotálamo, tálamo, cuerpo estriado y cerebelo), la respuesta típica de las neuronas es muscarínica aunque algunas veces se encuentren ambas respuestas, o una respuesta intermedia bloqueada por drogas atropínicas y nicotinolíticas.

¿Es la acción muscarínica y nicotínica igual a nivel periférico y central? Parece haber diferencias y similitudes entre los mecanismos a nivel central y periférico. Las respuestas nicotínicas en las células de Renshaw, sugieren - que este efecto, semejante al periférico, está mediado por un incremento en la tasa de los gradientes de sodio y potasio. La activación muscarínica central está acompañada de una lenta y prolongada despolarización, la resistencia de la membrana, incrementa o permanece igual, y la respuesta es fácilmente impedida por bloqueadores metabólicos; todas estas características se parecen a la de los potenciales postsinápticos excitatorios lentos. Sin embargo, la respuesta muscarínica central puede mostrar un potencial inverso contrario al potencial muscarínico ganglionar (84). Krnjevic (66) propone que el efecto muscarínico central se debe a un decremento - en el gradiente de potasio. Pero ambos mecanismos, el metabólico y el decremento en el gradiente de potasio, propuestos para el potencial muscarínico ganglionar (84) y central (66) respectivamente deben estar involucrados para incrementar la responsividad neuronal.

Las drogas colinomiméticas y anticolinesterásicas, inducen disparos repetitivos en la terminal de las colaterales del axón (57, 15) igual a su efecto en la unión neuromuscular. Weight (47) sugirió que estos disparos constituyen un fenómeno atribuido generalmente a las células de Renshaw y especula que la inhibición de las motoneuronas resulta de un potencial post-sináptico inhibitorio inducido por acetilcolina. Sin embargo, lo propuesto por Weight está sujeto a críticas (55). Ambos fenómenos, el inhibitorio y el excitatorio, y la acción de drogas en el sistema nervioso central pueden ser atribuidos a mecanismos en la terminal nerviosa. Por ejemplo, las xantinas muestran una acción de facilitación en la terminal nerviosa, en la unión neuromuscular y de excitación en el sistema nervioso central.

Un mecanismo importante en los procesos centrales es la transición de la transmisión excitatoria a inhibitoria en el ganglio simpático que involucra una sinapsis colinérgica, una interneurona y un cambio en el transmisor. Eccles demostró los circuitos que están involucrados en las células de -- Renshaw, están de la misma manera subyaciendo a las operaciones realizadas en el mesencéfalo y el estriado.

## Sistemas Neurales Colinérgicos.

Lesiones en el área septal dan lugar a un marcado decremento en los niveles de acetilcolina en el hipocampo y con menor intensidad en la corteza cerebral medial (102). El sistema colinérgico septal hipocampal es quizás el más estudiado. Otros tractos colinérgicos han sido localizados en el cerebro: el núcleo caudado, donde las neuronas parecen estar contenidas dentro del núcleo (102); el tracto habenulo interpeduncular (102), cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el epitalamio y corre a través del fascículo dorsal y termina en el pedúnculo mesencefálico; un tracto cercano al núcleo centro mediano del tálamo que viaja hacia la cabeza del núcleo caudado.

Los nervios craneales motores suministran fibras colinérgicas al músculo estriado, y todos estos nervios muestran un alto nivel de acetilcolinesterasa (103). Los cuerpos neuronales de estas fibras se encuentran en la formación reticular mesencefálica y viajan a través de la vía piramidal e inervan el III, IV, VI, IX, X, XI y XII par craneal.

El sistema ascendente difuso tegmento-mesencefálico-cortical (58), se empalma sobre la vía tegmental dorsal y ventral, el origen de la sustancia negra, el área tegmental ventral y la parte anterior del núcleo cuneiforme. La vía tegmental ventral inerva el cerebelo, el septum y de aquí al sistema límbico (70), así como también al estriado.

También se proyecta hacia el núcleo interpeduncular y de aquí a la habenula.

La vía dorsal se difunde hacia los colículos. Los brazos de ambas vías terminan en la corteza (70) formando la vía tálamo-cortical y septo-cortical. El tálamo también recibe inervación colinérgica del caudado y del cerebelo (70). Es probable que existan neuronas colinérgicas que se proyecten a la corteza de áreas subcorticales (103). Algunos tractos que pueden antagonizar la acción del sistema colinérgico ascendente son: el septo hipocampo cortical y el talámico cortical (70). Igualmente, las colaterales de las motoneuronas que hacen contacto con las células de Renshaw han mostrado ser colinérgicas (103).

## SISTEMAS NEURALES COLINERGICOS

<u>Sistemas</u>	<u>Cuerpos neuronales</u>	<u>Vía</u>	<u>Terminales</u>	<u>Función supuesta</u>
Septum - hipocampo	Septum	Fornix	Hipocampo	Memoria reciente
Habénulo - interpeduncular	Epitalamio	Fascículo dorsal	Pedúnculo mesencefálico	
Reticular - pares craneales	FRM	Piramidal	Núcleos motores	Motora III, IV, VI, IX, X, XI, XII.
Tegmento - cortical neural	Mesencéfalo	Diversas	Cerebelo, septum estriado.	
Tegmento - cortical dorsal	Mesencéfalo	Intrínseca	Colículos	
Intrínseco del estriado	Caudado	Caudado	Caudado	Regulación motora

## Principales Drogas que Modifican la Transmisión Colinérgica.

Las drogas que afectan los sistemas neurales colinérgicos son en la mayoría de los casos sustancias que alteran la disponibilidad del transmisor durante el evento sináptico - (33).

### Agonistas del receptor muscarínico.

Las primeras drogas a considerar son los agonistas del receptor muscarínico: arecolina, pilocarpina, muscarina, metacolina, carbacol y oxotremorina. Estas sustancias parasimpaticomiméticas tienen fuerte efecto sobre estructuras inervadas por neuronas parasimpáticas postganglionares. La metacolina y el carbacol son derivados sintéticos de la colina y no tienen efecto, al menos directo, sobre el sistema nervioso central. La metacolina, tiene una acción inhibitoria prolongada sobre la frecuencia cardiaca como resultado de la estimulación de receptores muscarínicos sobre el corazón (33). El carbacol tiene una gran afinidad por receptores muscarínicos en las vísceras, de aquí que se utilice para inducir estimulación prolongada en el tracto gastrointestinal y de la vejiga urinaria. Este compuesto es casi totalmente resistente a la hidrólisis de la acetilcolinesterasa (33). La muscarina es un alcaloide tóxico, que no tiene uso terapéutico; se usa principalmente como herramienta farmacológica. En caso de ingestión accidental de este alcaloide los síntomas consis-

ten de un marcado lagrimeo, salivación, sudoración, miosis, algunos dolores abdominales debido a las fuertes contracciones del músculo liso de la víscera, diarrea, colapso cardiovascular, coma, convulsiones y muerte (33). La atropina - (un agente bloqueador parasimpático) desplaza la muscarina del lugar del receptor y puede revertir los efectos.

La pilocarpina es un alcaloide que se extrajo en 1875, del arbusto Pilocarpus jaborandi. Los nativos sabían que al masticar la hoja de esta planta se estimula la salivación y produce sudoración. Administrada por vía intramuscular en dosis de 10 - 15 mg puede inducir la secreción de 2 a 3 litros de sudoración con un efecto colateral no placentero de salivación de 350 ml en dos horas, náuseas, vómito, debilidad y ocasionalmente colapso (62). La arecolina es un alcaloide derivado de la nuez de betel. Tiene un efecto parecido a la pilocarpina, pasa la barrera hematocefálica, igual que la oxotremorina, un agonista muscarínico sintético y actúa también sobre receptores nicotínicos (42). La oxotremorina se usa en la investigación del parkinsonismo. Sus efectos centrales son semejantes al Parkinson: temblor, ataxia y espasmos, que parecen resultar de su acción sobre receptores muscarínicos en los ganglios basales (42). La aplicación de estas sustancias parasimpaticomiméticas, a nivel del sistema nervioso central resulta en una respuesta cortical de despertar o de activación en los gatos, parecida a la que causa la inyección de acetilcolina, anticolinesterasa o estimulación eléctrica en la sustancia reticular del tallo encefálico. La atropina bloquea este efecto (42).

### Agentes bloqueadores del receptor muscarínico.

Se conocen como agentes antimuscarínicos o parasimpato-  
líticos a las sustancias que bloquean al receptor muscarí-  
nico. Aunque las drogas antimuscarínicas tienen una alta -  
especificidad por los receptores muscarínicos, en dosis altas,  
también bloquean con una alta selectividad la transmisión en  
sitios nicotínicos en los ganglios autónomos (33). Los re-  
ceptores muscarínicos pueden ser tanto excitatorios como in-  
hbitorios por lo que la acción de estos antagonistas bloquea  
la actividad que es propia de un receptor dado. Las drogas  
antimuscarínicas pasan fácilmente la barrera hematocefálica  
y afectan la sinapsis dentro del sistema nervioso central. (33)

La atropina, un alcaloide que se obtiene de la *Atropa*  
*belladonna* se usa para bloquear los músculos del iris y cuerpo  
ciliar, inhibe la secreción de la nariz, garganta y bronquios  
y reduce la frecuencia cardiaca, la presión sanguínea y la -  
movilidad del tracto gastrointestinal. La escopolamina, otra  
droga antimuscarínica, es un alcaloide que se encuentra en -  
las solanáceas delirógenas tanto de Europa (*Mandragora* - - -  
*officinarum* *Hyoscyamus niger*) como de América (Especie de  
*Datura*, *Solandra* y *Brugmansia*). Las drogas antimuscarínicas  
son bloqueadoras competitivas de los sitios de los recepto-  
res muscarínicos. Desde luego el antagonismo a la acetilco-  
lina, característica de estas drogas, puede ser revertido al  
incrementar la concentración de acetilcolina en el receptor,  
inyectando un anticolinesterásico como la fisostigmina o una  
droga colinomimética, como carbacol o pilocarpina.

PRINCIPALES DROGAS QUE MODIFICAN LA TRANSMISIÓN COLINERGICA

Fármaco	Mecanismo de acción	ACETILCOLINA		
		Niveles endógenos	Recambio	Transmisión
Arecolina Pilocarpina Muscarina Oxotremorina	Agonistas del receptor muscarínico	↑	↓	↑ ↑
Atropina Escopolamina Antidepresivos Antipsicóticos Δ <sup>9</sup> - THC	Antagonistas del receptor muscarínico	↓	↑	↓ ↓
Anfetamina	Incremento de la liberación de Ach	±		↑
Barbitúricos	Disminuyen la liberación de Ach	±		↓
Nicotina	Agonistas del receptor nicotínico			↑ ↑
Curare alfa bungero toxina	Antagonistas del receptor			↓ ↓ ↓
Fisostigmina	Anticolinesterásicos	±	↓	↑
Toxina botulínica	Disminuye la liberación de Ach en terminal nicotínica			↓ ↓ ↓

La atropina y la escopolamina pueden ser comparadas en términos de sus acciones farmacológicas. La atropina tiene un efecto más fuerte sobre el corazón, intestinos y músculos bronquiales, mientras que la escopolamina tiene una acción más fuerte sobre el iris, cuerpo ciliar y las glándulas salivales y del sudor. La escopolamina tiene una duración más corta - en dosis moderadas y produce un cuadro delirante y alucinatorio con somnolencia, euforia, amnesia, fatiga y dormir sin sueño, inquietud, irritabilidad y desorientación (33). La atropina produce el mismo cuadro solo con dosis tóxicas. - Esta droga puede deprimir algunos mecanismos motores centrales que controlan el tono muscular y el movimiento como se ve en el efecto benéfico que tiene en el temblor y la rigidez - del parkinson, de la misma manera lo hace la escopolamina. Estas drogas tienen poco efecto en los lugares de los receptores nicotínicos, solo en dosis altas (42). Algunos agentes antimuscarínicos pueden tener acción doble como agonistas en dosis baja y antagonistas en dosis alta.

#### Agentes colinomiméticos.

Las drogas que se consideran como agentes colinomiméticos son también nicotínicas. La nicotina es un alcaloide extraído de la planta del tabaco (Nicotiana tabacum) en 1928.

Dosis pequeñas de nicotina tienen un efecto excitatorio sobre los receptores nicotínicos en la unión neuromuscular y en los receptores de los ganglios autónomos. A dosis altas,

la nicotina produce un bloqueo en las uniones nicotínicas; y a dosis suficientemente altas produce asfixia, que ocurre - por parálisis de los músculos respiratorios. La nicotina - puede incrementar la frecuencia cardiaca por estimular al ganglio simpático o a la médula suprarrenal para liberar - epinefrina. La frecuencia cardiaca puede ser aumentada indirectamente por vasoconstricción, resultante de la estimulación del ganglio autónomo. La nicotina incrementa la - secreción del ácido clorídrico en el estómago e incrementa la actividad motora del intestino . La exposición aguda determina signos de toxicidad nicotínica: náuseas, vómito, - dolor abdominal, dolor de cabeza, mareo, debilidad, palidez y temblor. (76)

#### Nicotina y acetilcolina.

Los agentes bloqueadores del receptor nicotínico forman un grupo de sustancias anticolinérgicas, que bloquean el efecto de la acetilcolina sobre el receptor nicotínico. Dos de los más conocidos bloqueadores de receptores nicotínicos en la unión neuromuscular son el curare y su forma alcaloide purificada d-tubocurarina. Los trabajos de Claude Bernard en 1856 con ranas a las que inyectaba con curare y ligaba - una de las piernas para aislarla de la circulación, encontrando que todos los miembros se paralizaban, excepto el que se encontraba ligado, son clásicos en la demostración de la - unión neuromuscular, como el sitio de acción del curare. La d-tubocurarina actúa por bloqueo competitivo de los lugares

de los receptores nicotínicos a nivel neuromuscular, pero el mecanismo del bloqueo no se conoce. La naturaleza competitiva de la acción del bloqueo significa que el curare puede ser desplazado de su posición de bloqueo por incremento en la concentración de acetilcolina disponible. Esto puede ser obtenido con la administración de un anticolinesterásico, - como la neostigmina, que es la droga que se elige en caso de sobredosis de curare. El curare y las drogas parecidas no actúan a nivel del sistema nervioso central porque no atraviesan la barrera hematocefálica.

Se han desarrollado un gran número de drogas sintéticas, parecidas al curare; gallamina (flaxedil), succinilcolina y decametonio que actúan sobre los receptores nicotínicos en la unión neuromuscular. Estas tres últimas drogas, en lugar de bloquear los receptores nicotínicos en la unión neuromuscular, despolarizan la membrana del músculo, haciéndola irresponsiva a la acetilcolina (96).

Otro grupo de bloqueadores de receptores nicotínicos - incluye al hexametonio y macamilamina. Son agentes sintéticos que bloquean a los receptores nicotínicos en el ganglio autónomo, pasan la barrera hematocefálica y pueden bloquear la acción de la nicotina a nivel central.

### Agentes anticolinesterásicos.

Los agentes anticolinesterásicos incrementan el efecto endógeno de la acetilcolina sobre el receptor colinérgico por bloquear hidrólisis de la acetilcolina por la acetilcolinesterasa. Este efecto se da por competencia con la acetilcolina por lugares de unión sobre la molécula de la acetilcolinesterasa. Algunas de las drogas anticolinesterásicas forman uniones reversibles con la acetilcolinesterasa, y otras se unen de manera irreversible a la enzima y pueden tener efectos fatales en dosis altas. Algunas de ellas tienen una corta duración porque forman uniones únicamente en el sitio aniónico de la molécula.

El edrofonio (tensilon) es una droga que por su corta acción se utiliza para detectar miastenia gravis, un orden caracterizado por debilidad muscular y que resulta de una anomalía del sitio del receptor colinérgico sobre la membrana muscular. La inyección de edrofonio causa un súbito incremento en el potencial de acción muscular y en la fuerza muscular. Esta actividad no ocurriría si la debilidad muscular fuera debida al daño de la motoneuronas más que al mal funcionamiento de la membrana muscular.

Una de las sustancias más conocidas es la fisostigmina o eserina que se obtiene del Haba de calabar. En 1864 se aisló y se le llamó fisostigmina a este alcaloide. En 1877, se utilizó en el tratamiento del glaucoma por aplicación directa al ojo y todavía se usa hoy. El glaucoma es una enfermedad

del ojo caracterizada por la anormalidad de presión alta intraocular. Al estimular los receptores muscarínicos del iris para formar una pupila pequeña, la droga facilita el drenaje del humor acuoso y la presión intraocular baja. Esta droga pasa la barrera hematocefálica y afecta el sistema nervioso central, participando en el mejoramiento de la memoria e incrementando la fase REM del sueño.

Otra droga, de esta clase, es la neostigmina. Esta droga se introdujo en 1931 y es un agente sintético que tiene un nitrógeno cuaternario con una carga positiva. No atraviesa la barrera hematocefálica. Esta droga tiene más potencia y duración que la fisostigmina. Se utiliza para la estimulación del tracto gastrointestinal y es también efectiva en el tratamiento de la miastenia gravis y es un antídoto en caso de envenenamiento con curare.

Efecto de las drogas sobre el recambio de la acetilcolina.

Con el desarrollo de técnicas de microondas, para inactivar instantáneamente en el cerebro las enzimas responsables de la síntesis y degradación de la acetilcolina y colina, la estimación del contenido en el tejido de esos compuestos es posible. Las drogas parasimpaticomiméticas incrementan el contenido de acetilcolina en todo el cerebro o en partes en ratas y ratones (9,43,44), y en general reducen, la tasa de conversión de colina marcada a acetilcolina (9).

De acuerdo con esto, se encuentra que la oxotremorina y la fisostigmina reducen la alta afinidad dependiente de sodio para la recaptura de colina, además de la liberación de acetilcolina en la corteza cerebral. La oxotremorina parece reducir el recambio de la acetilcolina en todas las regiones del cerebro examinadas encontrándose un efecto diferencial de disminución de la liberación solo en la corteza y en el estriado (7). De aquí que cuando los receptores de la acetilcolina son ocupados por un agonista el transmisor no se libera o es hidrolizado y el recambio de la acetilcolina disminuye. Se ha propuesto que los receptores presinápticos regulan el recambio de la acetilcolina, sin embargo, no ha sido demostrado.

Las drogas parasimpáticas reducen el contenido de la acetilcolina en el cerebro del ratón (30). Con benzotropina y triexifenidil el incremento de la conversión de colina marcada a la acetilcolina se compensa por el decremento del contenido de la acetilcolina, y de ahí que no hay un cambio real en la tasa de recambio de la acetilcolina. La atropina y la escopolamina, incrementan la recaptura de la colina en la corteza (8) y el hipocampo (35), respectivamente, y realzan la liberación de acetilcolina (43,38).

## METODO

## Animales.

Diez y siete ratones machos Balb/c albinos, divididos en dos grupos de siete y diez sujetos, asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos; de ocho semanas de edad, y de 25 a 30 grs. de peso. Adquiridos en el Instituto de Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. El agua y la comida estuvieron disponibles durante 14 y 17 días al inicio del experimento, en cada grupo respectivamente, y sometidos a restricción de agua, durante el resto del experimento. Los ciclos luz-oscuridad se controlaron con un reloj automático -- (0600-1800 horas luz), y la temperatura osciló de 18 a 22 grados centígrados.

## Ambiente Exploratorio.

Una pecera de 60X30X60 centímetros, con azerrín y comida en el piso, y el bebedero colgado del lado derecho al frente. El piso se dividió en diez cuadrantes, enumerados de izquierda a derecha y de adelante hacia atrás, lo que permitió localizar al animal en el espacio dentro de la caja.

## Conducta y Registro.

La preferencia del lugar de aseo, y el aseo se definieron y registraron en base a lo reportado por Santís y Díaz (18). La frecuencia y duración del aseo se registraron como el número total de veces de ocurrencia y el tiempo acumulado respectivamente. Así, el lugar de preferencia de aseo se definió como el sitio donde es más alta la probabilidad de aseo, y se cal-

cula como el tiempo que pasa el animal aseándose en un sitio, dividido por el total del tiempo de aseo en el período considerado.

Autolimpieza. Una serie de acciones que involucran - lengüeteos, rascados y mordiscos del animal sobre su propio - cuerpo. Típicamente esta categoría comienza en postura de - sentado con lengüeteos sobre las patas delanteras, con una - morfología similar a la de ruego, pero involucra cambios gra- - duales en la postura dependiendo sobre cuál segmento de su - cuerpo está dirigida.

Díaz, J. L. y de la Vega, J. (2/ ) en su trabajo sobre - aseo inducido por nado en el ratón; etograma y análisis de - transición entre acciones específicas. Plantean que las - transiciones de lateralización comienzan cuando la boca del ratón entra en contacto con sus manos lamiéndoselas y frotán- - dose la cara, alternándose con pausas largas, continuando con boca flanco derecho e izquierdo, presentándose pausas largas, cambiando a boca pie derecho e izquierdo, con pausas largas y cortas, a través de las diferentes acciones. Las transiciones intermedias se encuentran involucradas dentro de las anterio- - res. El ratón alterna entre manos orejas y boca manos, pre- - sentándose pausas largas y cortas, prosiguiendo con manos ore- - jas a boca flanco derecho e izquierdo, con pausas largas y cor- - tas, pasando de boca flanco derecho e izquierdo a boca abdomen y viceversa, continuando de boca abdomen a boca pie derecho e izquierdo, y de boca pie derecho a boca genitales, haciendo - pausas largas y cortas, la postura que culmina este tipo de - transiciones es el paso de boca cola a boca genitales, con - pausas largas.

Con respecto a las acciones pie derecho e izquierdo - cabeza, ocurren de una manera independiente a la secuencia de - transiciones anteriores, con pausas largas y cortas, pudiéndose considerar como transiciones periféricas.

Registro. De las 1000 - 1100 se registró la conducta de aseo y el lugar donde ocurría dentro de la pecera. Se medía la frecuencia, la duración en segundos y la localización de la conducta, el número del lugar, en cada uno de los animales. - Se anotó la hora de inicio y terminación del autoaseo, cada vez que ocurría en cada uno de los animales, así como el número del lugar donde ocurría, durante la hora de registro diaria.

#### Drogas.

Escopolamina hidrociorada (Sigma Co.), con dosis de 0.04 mg./Kg. para el grupo I; y 0.06, 0.12 mg./Kg. para el grupo II.

Fisostigmina fosfatada (Sigma Co.), con dosis de 4.0, - 0.4 y 0.8 mg./Kg. para el grupo I; y 0.4, 0.8 mg./Kg. para el grupo II.

Oxotremorina fosfatada (Sigma Co.), con dosis de 1.0, - 0.5 y 0.1 mg./Kg. para el grupo II.

Las drogas se disolvieron en agua, en 2000, 666 y 1000 - mls., para cada una de las dosis; y se administraron vía oral.

#### Administración de la droga.

La botella con el agua y la droga, permanecieron dentro de la caja de registro, sólo durante el tiempo de observación (1000 - 1100), después se cambiaba por agua pura, y permanecía de las 1100 - 1500.

## Procedimiento.

### Grupo I.

En la fase A y B se llevó a cabo una línea base de la ocurrencia y lugar de la conducta de aseo ad libitum y en condición de restricción de agua, respectivamente. La condición de restricción de agua, consistía de solo dar acceso al agua a los animales de 1000-1500. En la fase C y E se administró escopolamina durante ocho y diez y seis ocasiones bajo condiciones de restricción, al pasar a la fase D y F, se registró la conducta en condiciones de restricción durante cinco y diez y nueve días respectivamente. En la fase G, se dió fisostigmina durante diez ocasiones; y en la condición H, se registró en condiciones de restricción de agua durante cinco días. Ver Figura(1).

### Grupo II.

En la condición A, B y C, se establece una línea base, durante cuatro, diez y siete, y cinco días, de la conducta de aseo y su localización, ad libitum durante las dos primeras fases y en condición de restricción, igual que en el grupo I, en la tercera fase. Durante la fase D, se administró escopolamina por un período de quince ocasiones, al entrar a la fase E, se registró la conducta de aseo en condiciones de restricción un total de catorce veces. En las dos siguientes condiciones, F y G se administró oxtremorina durante ocho veces en la primera condición, y en la segunda se registró en condiciones de restricción, la conducta durante diez ocasiones. En la condición H se administró escopolamina durante catorce ocasiones. Y en la última condición I se registró la -

conducta bajo la condición de restricción, durante ocho días.  
Ver Figura No. (2).

## RESULTADOS

## Grupo I .

En la Figura ( 2 ), lo primero que se aprecia, es un ligero efecto de la disminución de la conducta de aseo en la situación de restricción (Fase B) con respecto a la Fase A, - siendo las medias de 196 y 210 respectivamente. En relación a la administración de escopolamina (Fase C), se observa un incremento de la limpieza de un 47 % y 50 % en relación con las dos primeras fases, no siendo significativo este cambio. Al pasar a la fase E, segunda administración de escopolamina, se advierte un incremento en la conducta de los animales, superior a todas las condiciones anteriores, siendo significativo este incremento, para las fases A, B y D, en donde la Fase D, restricción, regresó a valores similares a A y B, - después de administrar la escopolamina. En contraste, en la Fase F, restricción, se presenta un incremento de la limpieza en los ratones, superior al alcanzado en las fases anteriores, siendo significativo este aumento para los períodos A,B,D y G, lo que sugiere un efecto conductual permanente de incremento aún en ausencia de la droga, escopolamina. Lo que corresponde al administrar fisostigmina (Fase G), es un descenso de la ocurrencia de la conducta en vínculo con la situación E, con medias de 314 y 504, respectivamente, notándose una tendencia de incremento en las últimas sesiones, pero finalmente siendo inferior en un 28 % y 38 % en relación a las dos fases anteriores E y F, y siendo significativo con las fases D, F y H - esta condición. Por último en la Fase H, se observa que la conducta tiende a subir, alcanzando valores similares a la Fase F, con medias de 490 y 504, para cada una, siendo signi-

ficativo este ascenso, para las fases A, B, D y G. Esta tendencia a subir, remarcaría lo antes propuesto, de un efecto conductual permanente, independiente de la administración de la droga, dado que esta propensión contrasta con las fases B y D de restricción, y está de acuerdo con la tendencia de incremento que se presenta en la Fase F, de restricción, obteniendo medias similares.

#### Grupo II.

En la Figura (2), lo que se manifiesta al principio, es un incremento de la conducta de aseo en la Fase C, restricción, en relación con las dos condiciones anteriores, A y B, en un 86 % y 55 %, siendo significativo este aumento para la fase A. Durante la administración de fisostigmina, Fase D, se abate al inicio la conducta, creciendo a partir de la sexta sesión, alcanzando una media de 234, superior en un 76 % a la de la Fase B. En relación con la Fase C, desciende la ocurrencia de aseo en un 60 %. Al regresar a la condición de restricción, Fase E, se advierte un ligero incremento de la conducta en vínculo con la fase anterior D, descendiendo de la sexta a la décima sesión y ascendiendo durante los últimos días de registro, alcanzando una media de 321, superior en un 72 % a la de la fase D. Entretanto, en la fase F, al suministrar oxotremorina, al inicio se abate la conducta, con dosis de 1 y 0.5 mg./Kg. Al dar 0.1 mg./Kg., se observa que el aseo se reinstala a partir de la tercera sesión, manteniendo una tendencia a crecer hasta el final. El aseo en esta fase, presenta una media de 537, superior a la de todas las fases, en un 80 % en promedio. Siendo significativo éste, para la fase A, B, D, e I. Esta propensión es paradójica, con respecto a los efectos observados de -

la escopolamina, sobre la conducta de aseo, puesto que la oxotremorina, es un agonista del receptor muscarínico, y la escopolamina, es un antagonista de los mismos receptores. Al reintegrar la condición de restricción, Fase G, el aseo sufre un decremento con respecto a la fase anterior, pero se mantiene sobre niveles similares a la fase E, de restricción, apuntando un incremento con respecto a la fase de fisostigmina, que es significativo. Al administrar escopolamina, Fase H, se presenta un incremento con respecto a la Fase G, con medias de 388 y 330; respectivamente, teniendo valores más bajos, con respecto a la administración de oxotremorina. La última fase, I, presenta valores similares a los de la fase D, con una media de 229, siendo inferior en un 59 %, con la fase anterior, lo que no sostendría, lo antes dicho, de un efecto de permanencia conductual independiente de la administración de la droga, escopolamina.

A continuación, se describen los resultados de la Figura (3,5), donde se muestra, el porcentaje de aseo (p/t), la duración total del aseo en todos los lugares durante cada condición, dividido entre el tiempo de aseo para cada lugar, en todos los ratones, de cada grupo por separado.

Al agrupar los lugares más preferidos (1-6 y 5-10), en términos del tiempo que pasaban ahí aseándose los ratones, en dos sitios, lateral izquierdo (LI) y lateral derecho (LD); respectivamente, dada su proximidad geográfica, se pudo describir de una manera más clara, los efectos de cada condición, sobre la elección de un lugar de aseo.

En el grupo I, durante las fases de restricción, se observa una variación sistemática que oscila entre un p/t de 0.7 a 0.9 para el sitio LI, y de 0.2 a 0.0 para el sitio LD, excepto en la Fase D, donde tienden a aproximarse los dos sitios - alrededor de un p/t de 0.5 . En tanto en la fase de administración de droga, se visualiza primero, en la Fase C, primera administración de escopolamina, una preferencia por el lugar LD, con un nivel de 0.75, en contraste con el lugar LI, que alcanza un valor de 0.25, este efecto se invierte en la Fase E, segunda administración de escopolamina, con un p/t de 0.35 - para el lugar LI, y 0.56 para el lugar LD, siendo más pronunciado este efecto en la Fase G, administración de fisostigmina, donde se observa un efecto de espejo entre los lugares LI y LD.

Al describir las relaciones del grupo II, se nota que - todas las fases de restricción (C, E, G e I), tienen un nivel similar, con un p/t alrededor de 0.7, y que a partir de la - Fase A, control, se presenta una tendencia positiva, hasta la Fase D, donde se administró fisostigmina, y posteriormente - una propensión a decrementar hasta la Fase F, administración de oxotremorina, registrándose un cambio en la dirección, - nuevamente a incrementar hasta la Fase H, escopolamina, con un decremento en la última Fase I, restricción, con un nivel similar a las otras fases de restricción. Esto se refiere - al sitio LI. Mientras que para el lugar LD, el patrón de - comportamiento del p/t, para todas las fases, muestra una relación inversamente proporcional a la del sitio LI.

Índice de agrupamiento. Es un indicio de asociación de la conducta de aseo para cada uno de los lugares. Ver Tabla (3,2).

Al analizar la manera en que se distribuye el tiempo de aseo en el grupo I, se advierte una mayor acumulación del aseo en el lugar 1, 6 y 10, en todas las condiciones, excepto en la C, D y H, donde el agrupamiento del aseo, es mayor en el lugar 5, que en el lugar 6, y una menor asociación se presenta en los lugares 2, 7, 8 y 9, en cada una de las fases, aparte la condición F y H, en donde el sitio 3 es menor que el 2.

En relación con el grupo II, al estudiar como se aglutina el aseo, en cada uno de los lugares, se nota que para todas las situaciones, los lugares 1, 6 y 10, son los más visitados, siendo diferente, en la condición D, donde el 2 es mayor que el 10, así los lugares menos concurridos fueron el 7, 8 y 9, para todas las fases, excepto en la condición C y F, en que el sitio 2, es menor que el 7, y en las circunstancias H e I, en las que el 5 es menor que el 7. Tanto para el grupo I y II, los índices más altos de agrupamiento del aseo, se encuentran, en las esquinas de la caja, y los más bajos, en medio de la misma.

## CONCLUSIONES

En este trabajo se analizaron los efectos de la administración de drogas que afectan la transmisión colinérgica, sobre el aseo, en ratones, y el lugar preferido para realizarlo.

En el primer experimento se encontró, que el aseo sí se altera con la administración de escopolamina y fisostigmina. Al observar cambios en la duración del aseo, al administrar escopolamina con respecto a las condiciones de restricción, antes y después; de la misma manera, al suministrar nuevamente escopolamina y fisostigmina, según se relató en los resultados. El incremento de la conducta de aseo al administrar por segunda vez escopolamina, plantea la posibilidad de que otros sistemas se vean favorecidos, como el sistema adrenérgico (71), y éste, realce la conducta. La persistencia de este aumento, durante la siguiente fase, restricción, hace pensar en el fenómeno de supersensibilidad, donde la sensibilidad del receptor está alterada por la administración repetida de la droga, similar a la supersensibilidad por denervación.

Cuando se administró fisostigmina, se presentó un descenso en la conducta de aseo, es claro, que este anticolinérgico incrementa la duración del efecto endógeno de la acetilcolina, sobre el receptor colinérgico, y así probablemente contrarresta el bloqueo inducido por la escopolamina sobre los receptores, o activa un mayor número de receptores sobre la membrana posináptica.

A la luz del modelo de Robert (5'), quien plantea, que - tanto para receptores de dopamina, serotonina, opiáceos y muscarínicos, parecen existir dos estados; uno, tiene alta afinidad selectiva para los agonistas; y otro para los antagonistas. Los estados agonistas y antagonistas del receptor, pueden intercambiar libremente.

La presencia de un agonista no clasificado, rápidamente cambia el equilibrio entre los dos estados del receptor, a favor del estado agonista. Así, la reducción de sitios antagonistas, y el consecuente desplazamiento de  $/H^3/$  antagonista, dependería de la afinidad del agonista. Aquí parecería, que la fisostigmina competiría directamente por sitios de unión - del antagonista ocupados por la escopolamina, favoreciendo la presencia del estado agonista del receptor.

En el segundo experimento, también se nota un cambio, en la duración del aseo, al administrar fisostigmina, oxotremorina y escopolamina, en relación con sus respectivas fases de - restricción, como ya se narró en los resultados.

Al administrar fisostigmina, se observa un decremento, en la conducta de aseo, en relación con sus condiciones de restricción, lo que coincide con los resultados del primer experimento, quizás confirmando, una vez más, que el incremento de la actividad endógena colinérgica, está relacionada con un descenso en la conducta de aseo en ratones.

Al administrar oxotremorina se manifiesta un amplio incremento en la conducta de limpieza.

Roster (7/) plantea, que tanto la acetilcolina, carbacol y la oxotremorina, son potentes inhibidores de la liberación -

de [ $^3\text{H}$ ] acetilcolina en la corteza e hipocampo, y de la misma manera estimulan la liberación de [ $^3\text{H}$ ] dopamina en el estriado.

Por lo tanto, parecería que la activación de los receptores presinápticos, y como consecuencia la disminución de la liberación de acetilcolina, está correlacionada con el decremento en el aseo.

Al administrar la escopolamina, el aseo aumenta, con respecto a sus fases de restricción, pero no, en relación con la situación de oxotremorina, tampoco se observa, el fenómeno de supersensibilidad sobre los receptores al dejar de administrar la escopolamina; aquí la oxotremorina, bloquea la manifestación de este fenómeno. Esto probablemente obedece, a un efecto de secuenciación de administración de drogas. Existe la posibilidad de que otros sistemas neuronales, quizás adrenérgicos ( $\gamma$ ), se vean perjudicados, y éste frene el aseo en ratones.

En atención a probar si es la secuenciación de presentación de las drogas, la que induce la desaparición del efecto conductual permanente de la escopolamina, sobre el aseo, se podría invertir el orden de presentación, escopolamina-oxotremorina, y comprobar si existe un nivel de competencia por los mismos receptores, o si actúan sobre diferentes receptores.

Es atrayente la idea de que el aseo tenga funciones ansiolíticas, como se mencionó en la introducción, ante situaciones de estrés. Así, es posible, que el aseo sirva para limpiar, mantener, preparar y alertar los órganos sensoriales y motores en caso de peligro, o de desequilibrio homeostático,

por la administración de drogas que alteran el estado normal - del organismo. Lo anterior se observa, al administrar las - drogas, y de manera especial, cuando se dió oxotremorina; - - cuando se administran dosis altas, el animal queda postrado en el piso, manifestando una serie de respuestas simpato génicas - y temblor, que lo impedían físicamente el asearse, pero cuando lo podía hacer, lo hacía, iniciando con aseo incompleto. Parecía haber una necesidad de asearse.

La acción de la oxotremorina, parece resultar de su - efecto sobre los receptores muscarínicos de los ganglios basales. No es factible saber, a través de este trabajo, la participación del sistema nervioso central y periférico, en la inducción del aseo. Por medio de la administración de atropina, se podrían separar los efectos, a nivel periférico y central, que están involucrados en evocar el aseo. Pero se podría afirmar, que dada la selectividad de las drogas, utilizadas aquí, sobre receptores muscarínicos a nivel central, es posible concluir, que la participación de estructuras a nivel central, - ganglios basales, y otras estructuras que trabajan con acetilcolina, son necesarias en la coordinación, secuenciación y - aparición de la conducta de aseo en ratones, en sus diferentes manifestaciones.

Como parte del objetivo de este trabajo, se pretendía - conocer, sí la administración de drogas que afectan al sistema colinérgico, alteran la tendencia a limpiarse en un lugar preferido.

Al finalizar el análisis del porcentaje del tiempo de - aseo, e índice de agrupamiento, para cada lugar, con respecto a los demás sitios, en las diferentes condiciones, se advierte una clara tendencia a realizar esta conducta en las esquinas - de la caja de registro, siendo esta propensión afectada, por - las diferentes situaciones de suministro de droga.

En el primer grupo, se encuentra que la administración - de escopolamina, tiene un efecto de inversión de preferencia - de lugar, con respecto a las condiciones de restricción, antes y después, manteniéndose menos pronunciada en la segunda administración de escopolamina, sin cambios importantes al administrar fisostigmina. En el segundo grupo, cambia la tendencia - de incrementar a decrementar, al administrar fisostigmina, en relación con sus fases de restricción, y se invierte esta predisposición al pasar a la fase de oxotremorina, en relación - con sus condiciones de limitación de agua. Al suministrar escopolamina, se altera la tendencia de aumentar a decrecer. - Esto se refiere al sitio lateral izquierdo (LI). Mientras que para el lugar lateral derecho (LD), se exhibe una relación - proporcionalmente inversa.

Con respecto a los índices de agrupamiento, de la conducta de aseo, en los diferentes lugares de la caja experimental, al estudiarlos, se prevee que esta transformación de datos crudos a porcentajes, permite reafirmar, la preferencia de los ratones por algunos lugares, las esquinas, para realizar la -

conducta de aseo, siendo el uno y el seis, los más visitados, siguiendo el cinco y el diez.

Los cambios en la preferencia del lugar, para realizar - la conducta de aseo, son marcados al administrar las diferentes drogas, en los dos grupos. Las esquinas pueden ser sitios más seguros, que otros lugares en la caja. La elección de una esquina con respecto a otra, a través de las diferentes condiciones, no es factible determinarla aquí, aunque se podría decir, que puede estar en función de una respuesta biológica - adaptativa, o de alteraciones fisiológicas inducidas por la - droga, o de obedecer a una forma particular de organización y distribución social y territorial, en donde el dominante, a - través de una conducta de marcaje, determina la función de - cada uno de los lugares en la caja. Es interesante mencionar que los animales, saben donde realizar las diferentes actividades, comer, dormir y asearse.

Sería de interés, conocer cómo el ratón, distribuye sus actividades de una manera espacio - temporal. Según Honig (52) hasta el momento, existen dos posibilidades para determinar - cómo el organismo, reconoce donde debe realizar las diferentes actividades.

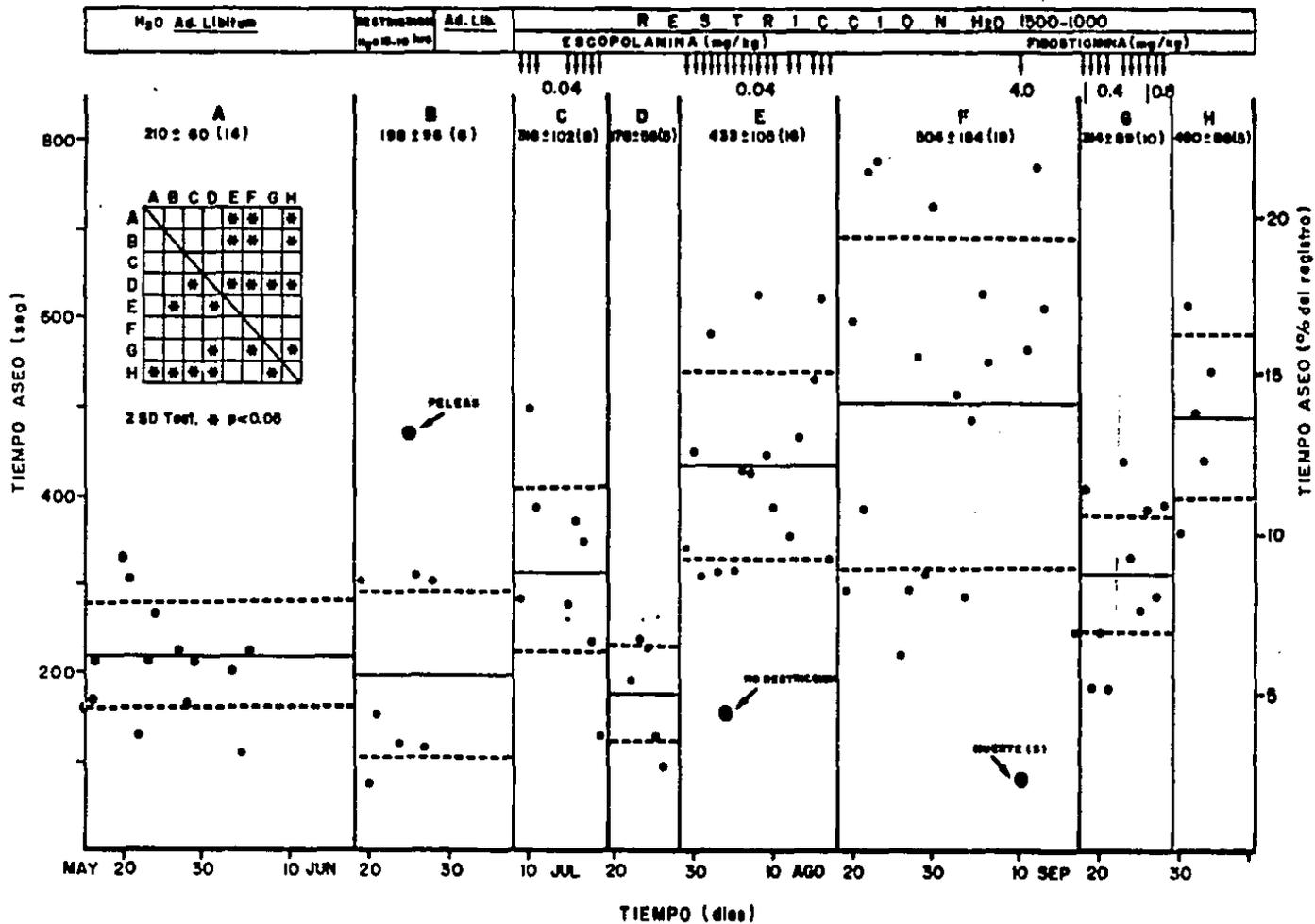
Primero, a través de la construcción de una memoria de trabajo, que se realiza en el momento en que entra el organismo en contacto con los elementos presentes en su medio ambiente, tomando selectivamente la información que es pertinente, - únicamente, dentro de un período corto de tiempo. La segunda, es la construcción de una memoria referencial, en donde el organismo al entrar en contacto con los elementos presentes en

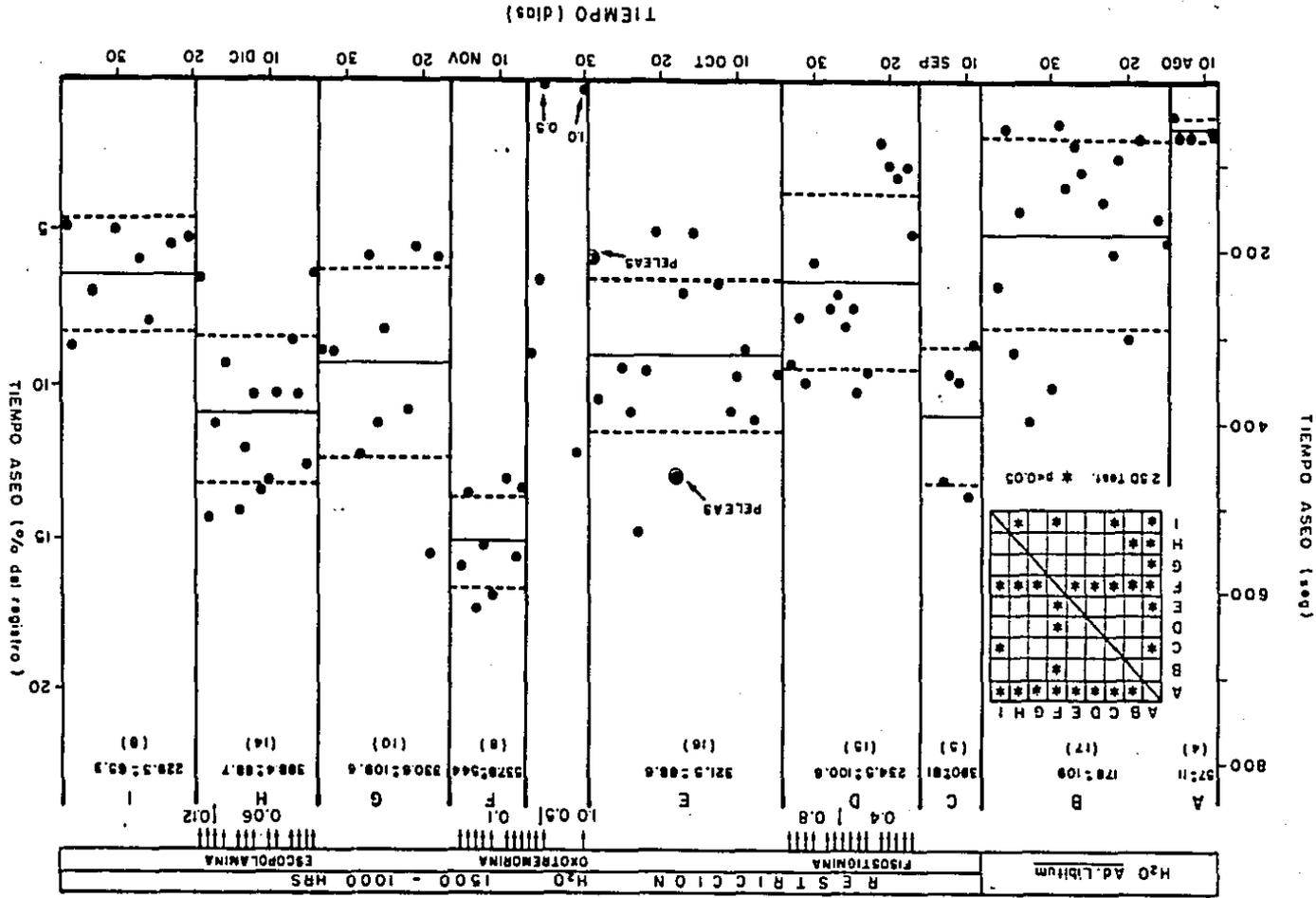
su medio ambiente, selecciona la información pertinente, y ésta permanece constante en el tiempo.

Una aproximación parsimoniosa con respecto a las proposiciones anteriores, sería el concebir una interacción de construcción dinámica, entre la memoria de trabajo y la referencial, en que al entrar en contacto, una con otra, se alteran mutuamente. Una vez que el organismo se familiariza, analiza y reconoce su medio ambiente, memoria de trabajo, esta información la organiza más a largo plazo, memoria referencial. Si el medio ambiente se modifica, el engrama (mapa cognitivo) se altera, dando lugar a una reconstrucción, reorganización y reelaboración de elementos que la constituyen.

Por lo tanto, esta aproximación permite, establecer medios de contacto dinámicos entre el organismo y el medio ambiente.

La alteración de la geografía de los elementos en el medio ambiente, y la administración de fármacos, que alteran la transmisión colinérgica, permitirían comprobar, esta aproximación parsimoniosa.





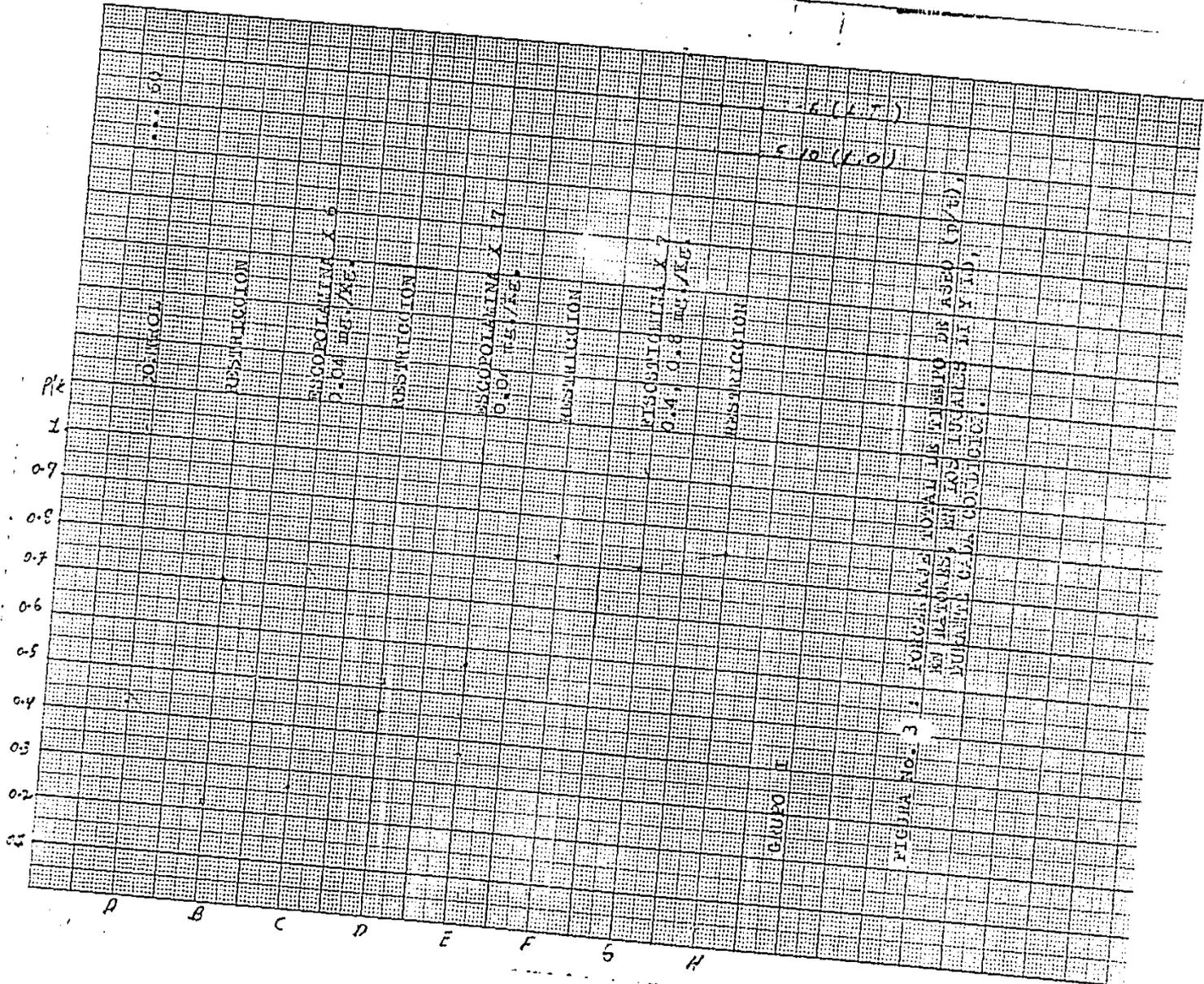


FIGURA NO. 3 : PORCENTAJES TOTAL Y LOCAL DE ASFD (P/E), EN ELEMENTOS, EN LOS LOCALS DE ASFD (E/100), DENTRO DE LA CONDICION.

5.10 (1.0)

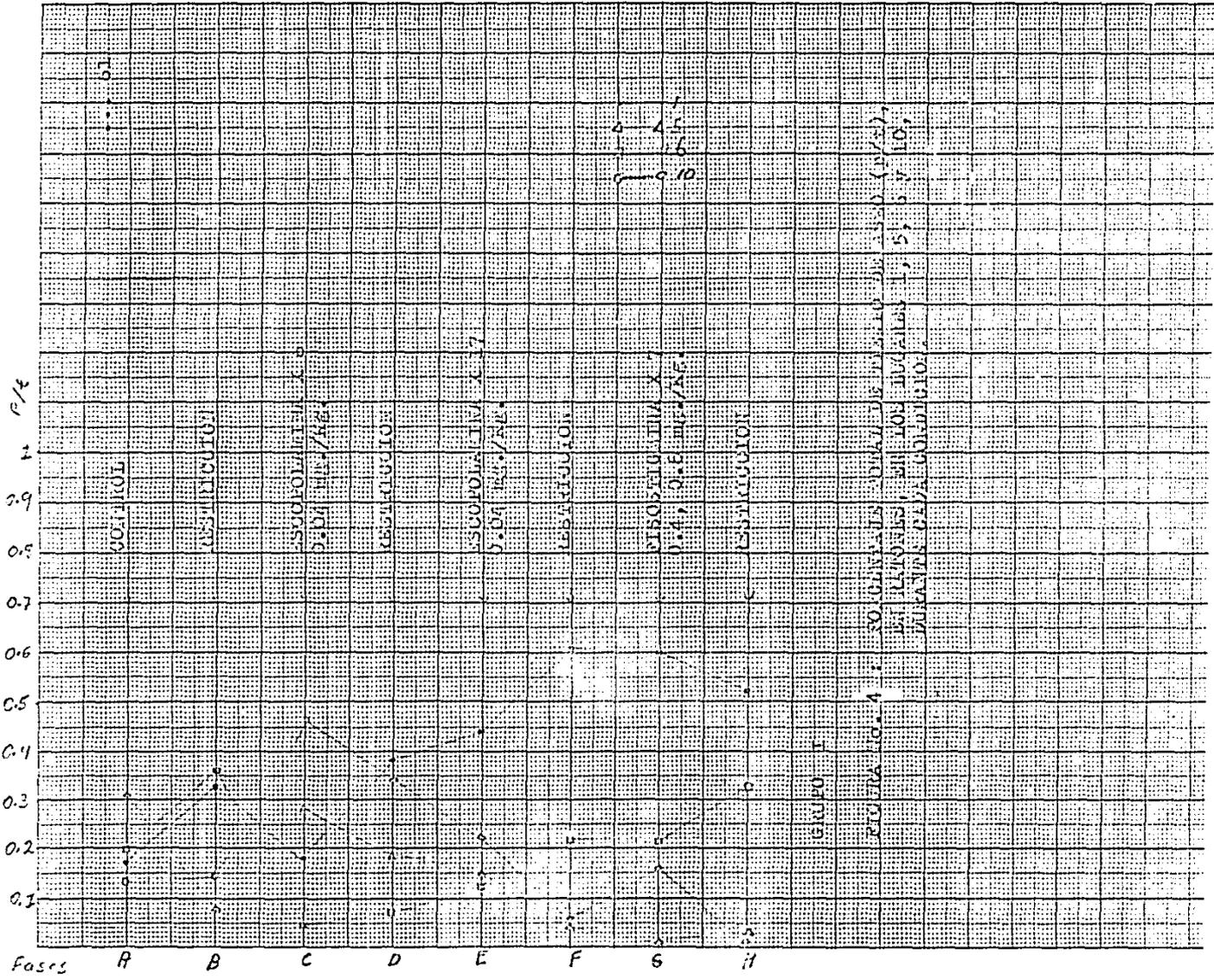
5.11 (1.0)

GRUPO I

A B C D E F G H

P/E

1  
0.9  
0.8  
0.7  
0.6  
0.5  
0.4  
0.3  
0.2  
0.1



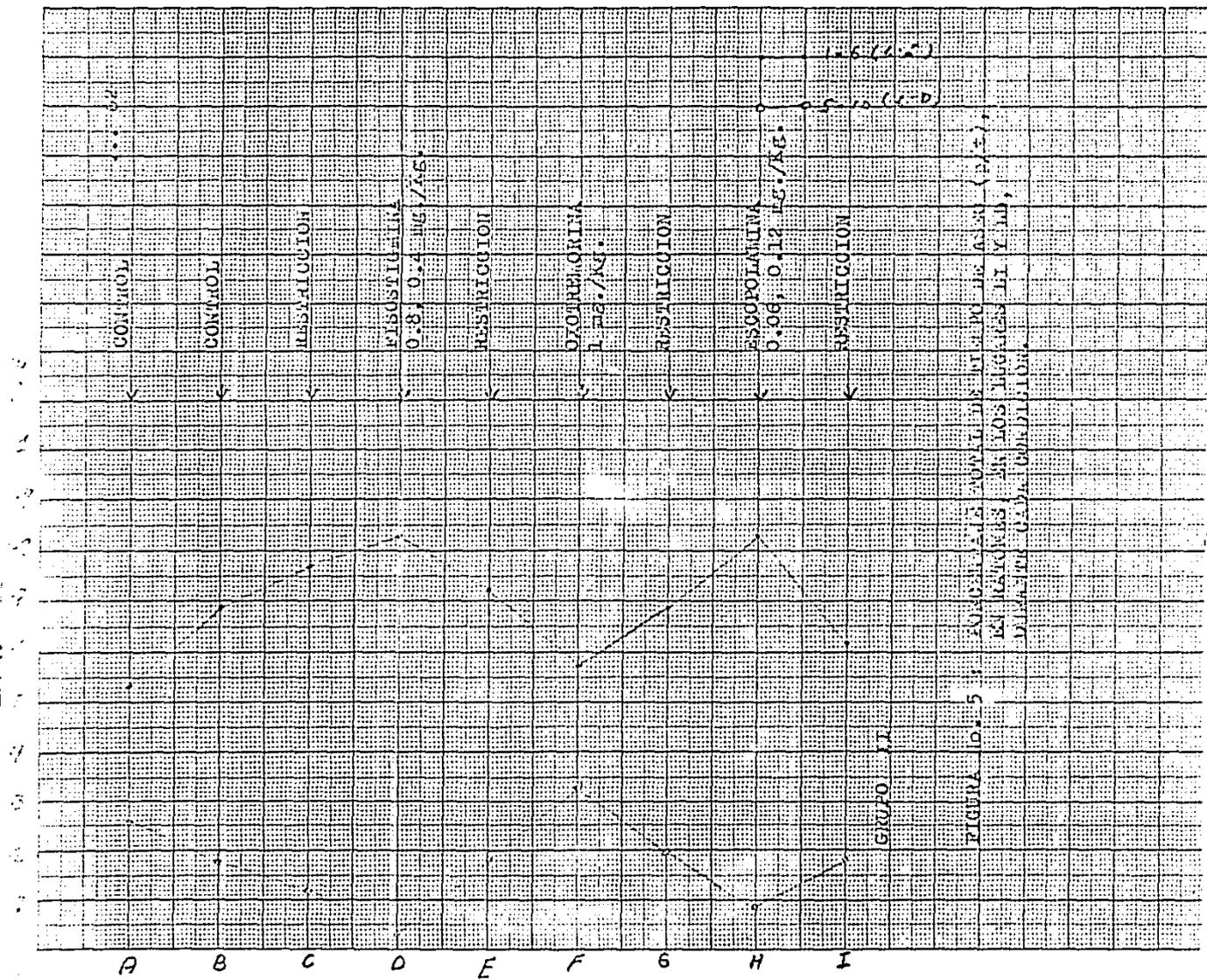


FIGURA 10.5. FIBROFILLIN, OXOTREQUINA Y ESCOPOLAMINA EN LOS MARCHES DE LOS INDIOS DE LAS MONTAÑAS DE LOS ANDES (PERU).

P/4

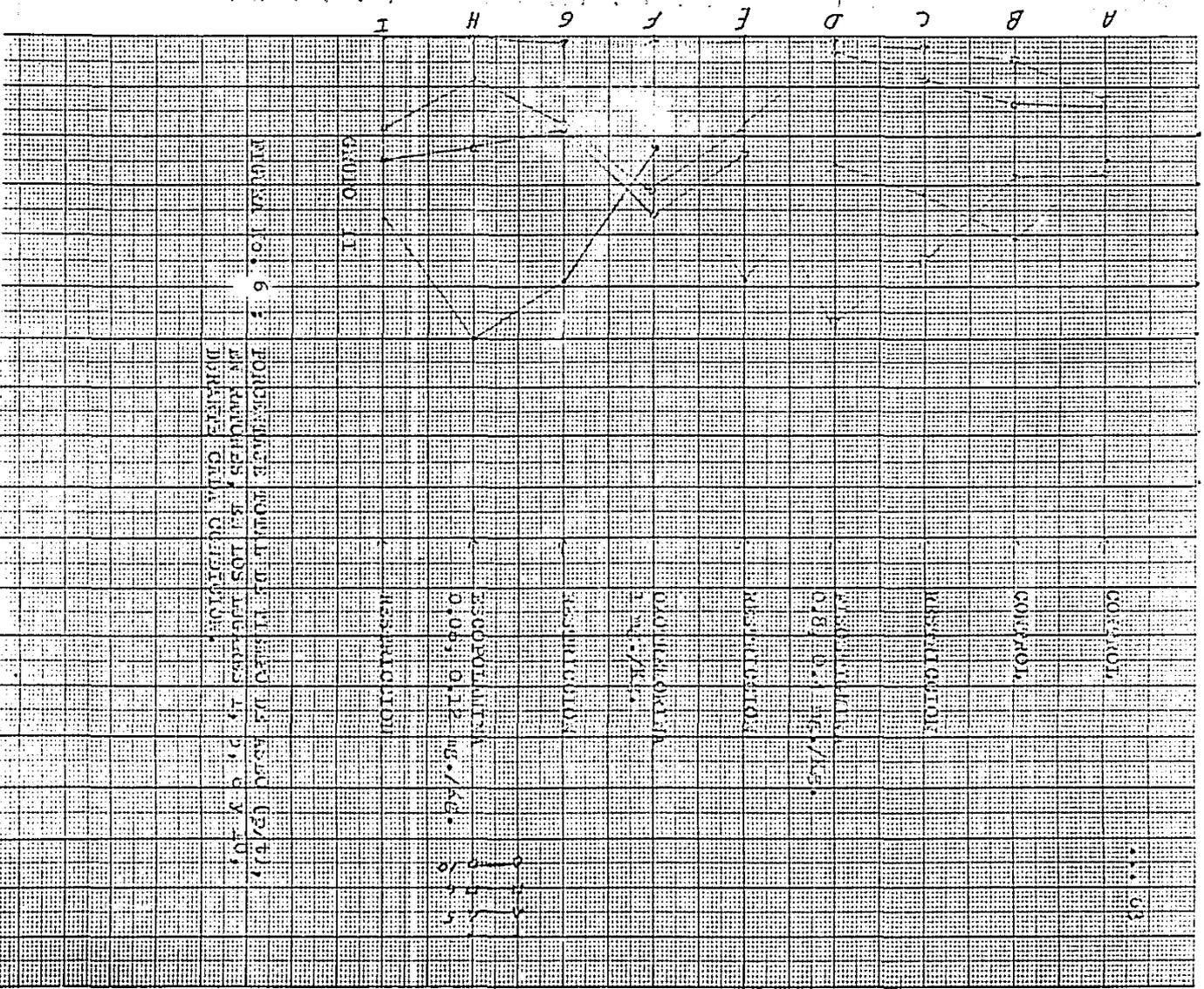


TABLA No. 1 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO I, DE RATONES BALB/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES .

LUGAR	FASE A AD LIBITUM			FASE B RESTRICION			FASE C ESCOPOLAMINA		
	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	4018	574	4.78	3841	548	8.0	3099	419	6.46
2	61	9	0.07	347	49	0.72	71	19	0.15
3	506	72	0.60	353	50	0.74	17	6	0.03
4	1063	152	1.27	459	65	0.96	152	34	0.32
5	7500	1071	1.93	852	121	1.78	4827	467	10.0
6	4147	592	4.94	4514	644	9.40	809	100	1.7
7	350	50	0.42	237	34	0.49	23	9	0.05
8	191	27	0.22	0	0	0	0	0	0
9	287	41	0.34	0	0	0	50	19	0.10
10	2868	410	3.41	1648	235	3.43	8589	378	17.9
TOTAL	20991			12045			17637		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	840			360			480		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo total de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento de aseo para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total entre el número de animales (7).

TABLA No. 1 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO I, DE RATONES BALB/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES .

LUGAR	FASE D RESTRICCION			FASE E ESCOPOLALINA			FASE F RESTRICCION		
	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	2477	354	8.2	18952	2707	20.0	36281	5183	33.6
2	0	0	0	118	39	6.0	1596	228	1.48
3	0	0	0	677	97	0.71	904	129	0.84
4	107	15	0.4	567	81	0.59	858	122	0.79
5	1146	164	3.8	4410	860	4.59	2481	354	2.30
6	676	97	2.3	5803	829	6.04	15232	2176	14.10
7	0	0	0	77	11	0.08	295	42	0.27
8	8	1	0	175	25	0.18	45	6	0.04
9	62	9	0.2	61	9	0.06	190	27	0.18
10	2056	294	6.8	11449	1707	11.92	5054	722	4.68
TOTAL	6532			45402			63105		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	300			960			1080		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo total de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento de aseo, para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total entre el número de animales (siete).

TABLA No. 1 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO I, DE RATONES BALE/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES .

LUGAR	FASE G FISOSTIGMINA			FASE H RESTRICCION		
	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	7403	480	12.33	3898	558	18.18
2	113	56	0.18	239	34	1.1
3	0	0	0	85	12	0.39
4	4	0.8	0.006	18	2	0.084
5	46	9.2	0.076	376	54	1.75
6	2459	492	4.09	2814	402	13.13
7	0	0	0	95	13	0.44
8	0	0	0	333	47	1.55
9	0	0	0	0	0	0
10	1880	376	3.13	3289	469	15.34
TOTAL	11905			11147		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	600			300		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo total de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento del aseo, para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total entre el número de animales (siete).

TABLA No. 2 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO II DE RATONES BALB/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES.

LUGAR	FASE A			FASE B			FASE C		
	AD	LIBITUM	INDICE AGRUP.	AD	LIBITUM	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	7366	1052	30.6	7616	1088	7.46	6108	872	20.36
2	1809	258	7.5	826	118	0.80	69	10	0.23
3	1519	217	6.32	849	121	0.81	344	49	1.14
4	1797	256	7.5	481	69	0.47	160	22.8	0.53
5	4330	618	18.0	1185	169	1.1	582	83	1.9
6	9431	1347	39.0	5361	765	5.2	8600	1228	2.0
7	1228	175	5.11	94	13	0.09	128	18	0.42
8	79	11	0.32	214	30	0.2	646	92	2.15
9	647	92	2.7	91	13	0.08	83	12	0.27
10	3902	557	16.2	2632	376	2.58	1729	247	5.76
TOTAL	32108			19440			18449		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	240			1020			300		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo total de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento del aseo, para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total entre el número de animales (diez).

TABLA No. 2 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO II DE RATONES BALB/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES .

LUGAR	FASE D FISOSTIGMINA			FASE E RESTRICCIÓN			FASE F OXOTREMORINA		
	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	4409	629	4.9	29263	4192	30.5	9729	1389	20.0
2	1407	201	1.5	1336	192	1.39	485	69	1.0
3	31	4	0.03	566	81	0.58	514	73	1.07
4	356	51	0.39	497	71	0.51	46	6	0.1
5	73	10	0.08	538	77	0.56	1122	160	2.33
6	9934	1347	10.40	13196	1885	13.7	17993	2570	37.0
7	40	6	0.04	952	136	0.99	1391	198	2.9
8	15	2	0.016	232	33	0.24	1006	143	2.1
9	49	7	0.05	241	34.5	0.25	29	4	0.06
10	551	79	0.61	10347	1478	10.77	15302	2186	32.0
TOTAL	16365			57168			47617		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	900			960			480		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento del aseo, para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total, entre el número de animales - (diez).

TABLA No. 2 : EL TOTAL, MEDIA E INDICE DE AGRUPAMIENTO DEL ASEO, PARA CADA LUGAR, EN EL GRUPO II DE RATONES BALB/c, BAJO DIFERENTES CONDICIONES .

LUGAR	FASE G RESTRICCIÓN			FASE H ESCOPOLAMINA			FASE I RESTRICCIÓN		
	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.	TOTAL	MEDIA	INDICE AGRUP.
1	17534	2504	29.22	32760	4680	39.0	7182	1026	15.0
2	748	106	1.2	660	94	0.78	1494	213	3.11
3	732	104	1.1	162	108	0.90	246	35	0.51
4	1226	175	2.04	1095	156	1.30	34	5	0.07
5	1065	152	1.77	299	43	0.35	82	12	0.17
6	6975	996	11.6	12852	1836	15.30	4926	703	10.20
7	109	15	0.18	870	124	1.03	992	142	2.06
8	627	89	1.04	69	10	0.08	120	17	0.25
9	516	74	0.86	156	22	0.18	534	76	1.1
10	6212	887	10.35	4307	615	5.12	3524	503	7.34
TOTAL	35744			53830			19134		
TIEMPO TOTAL DE REGISTRO	600			840			480		

El total representa la duración total del aseo de todos los animales, para cada lugar, y al dividirlo entre el tiempo total de registro, en minutos, se estima el índice de agrupamiento del aseo, para cada lugar, durante cada condición. La media se calcula, dividiendo el total entre el número de animales (diez).

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Ahtec, L. & E. Shillito. The effect of benzodiazepines and atropine on exploratory behavior and motor activity of mice. Br. J. Pharmacol., 1970, 40, 361-371.
- (2) Alexander, G. Karczmar & Nae, J. Dunn. In: Lipton, M. A., A. Dimascio & K. F. Killam (Eds.). Psychopharmacology: A Generation of Progress, New York: Raven Press, 1978, p. 271.
- (3) Amir Shiman. Behavioral response of the genetically obese (ob/ob) mouse to heat stress: Effects of naloxone and prior exposure to immobilization stress. Physiology and Behavior, 1981, 27, 249-253.
- (4) Barnett, S. A. & P. E. Cowan. Activity, exploration, curiosity and fear: An ethological study. Interdisc. Sci. Rev., 1976, 1, 43-62.
- (5) Barzaghi, F., R. Fournex & P. Mantengazza. Pharmacological and toxicological properties of clobazam a new psychotherapeutic agent. Arzneimittelforsch., 1973, 23, 683-686.
- (6) Beaumont, A. & J. Hughes. Biology of opioid peptides. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1979, 19, 245-267.
- (7) Benjamin, A. M. & J. H. Quastel. Acetylcholine synthesis in synaptosomes: Mode of transfer of mitochondrial acetylcoenzima A. Science, 1981, 231, 1495-1497.
- (8) Bignami, G. Psychopharmacologia, 1966, 10, 44-58.
- (9) Bignami, G. In: Proc. 5th Congr. Coll. Intern. Neuropsychopharmacology. Edited by Brill, Excerpta Medica, Amsterdam, 1967, p. 819-830.
- (10) Birks, R. & F. C. MacIntosh. Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. Can. J. Biochem. Physiol., 1961, 39, 787-827.

- (11) Boissier, J. R. & P. Simon. Dissociation de deux composantes dans le comportement d'investigation de la souris. Arch. Int. Pharmacodyn Ther., 1964, 372-387.
- (12) Brinda, D. & N. Spinner. Response to different degrees of novelty: The incidence of various activities. Journal of Experimental Analysis and Behavior, 1958, 1, 341-350.
- (13) Callaghan, M., G. Horowitz & R. Isaacson. An investigation of the involvement of histaminergic systems in novelty - induced grooming in the mouse. Behavioral and Neural Biology, 1982, 35, 368-374.
- (14) Colbern, D., R. Isaacson, E. Green & W. Gispen. Repeated intraventricular injections of ACTH<sub>1-24</sub>. The effects of home and novel environment on excessive grooming. Behavioral Biology, 1978, 23, 381-386.
- (15) Corrodi, H., K. Fuxe & P. Lidbrink. Brain Res., 1979, 43, 397-416.
- (16) Changeux, J. P. The cholinergic receptor protein from fish electric organ. In: Iversen, L. L., S. D. Iversen & S. H. Snyder (Eds.). Handbook of Psychopharmacology. Vol. 6, New York: Plenum Press, 1975, p. 235-301.
- (17) Christmas, A. J. & D. R. Maxwell. A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behavior in mice and rats. Neuropharmacology, 1970, 9, 17-29.
- (18) Dale, H. H. The action of certain esters and ethers of choline and their relation to muscarine. J. Pharmacol., 1914, 6, 147-199.
- (19) Dale, H. H., W. Feldberg & M. Vogt. Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings. J. Physiol., 1936, 86, 353-380.
- (20) De Weid, D., B. Bohus, J. M. Van Ree & I. Urban. Behavioural and electrophysiological effects of peptides related to lipotropin (B-LPH). Pharmacol. Exp. Ther., 1978, 240, 570-580.

- (21) Díaz, J. L. y J. de la Vega. Aseo inducido por nado en el ratón: Etograma y análisis de la transición entre acciones específicas. Simposio XXIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue., Agosto 1985, Memoria del Congreso # 14, 1985.
- (22) Dantzer, R. Etude des effets du diazepam sur le comportement explorateur du porc. Psychopharmacology (Berlín), 1977, 51, 317.
- (23) Drago, F., P. L. Canonico, R. Bitetti & V. Scapagnini. Systemic and intraventricular prolactin induces excessive grooming. Eur. J. Pharmacol., 1980, 65, 457-458.
- (24) Drago, F., B. Pellegrini-Quarantatti, V. Scapagnini & G. L. Gessa. Short-term endogenous hiperprolactinaemia and sexual behavior of male rat. Physiol. Behav., 1986, 26, 277-279.
- (25) Dunn, N. J. & A. G. Karczmar. J. Pharmacol. Exp. Ther. (in press), 1977.
- (26) Dunn, N. J., J. P. Green & E. Isaacson. Intracerebral adrenocorticotropic hormone mediate novelty-induced grooming in the rat. Science, 1979, 203, 281-283.
- (27) Dunn, N. J., S. Childers, R. Kramarcy & W. Villiger. ACTH-Induced grooming involves high-affinity opiate receptor. Behavioral and Neural Biology, 1981, 31, 105-109.
- (28) Dunn, N. J. & G. Vigle. Grooming behavior induced by ACTH involves cerebral cholinergic neurons and muscarinic receptors. Neuropharmacology, 1985, 24: 4, 329-331.
- (29) Eccles, R. M. & B. Libet. J. Physiol. (Lond.), 1961, 157, 484-503.
- (30) Eccles, J. C. Fed. Proc., 1969, 28, 90-94.
- (31) Eteravic, V. A. & E. L. Bennet. Nicotinic cholinergic receptor in brain detected by binding of 3H-bungarotoxin. Biochim. Biophys. Acta, 1974, 362, 246-355.

- (32) Fatt, P. & B. Katz. Spontaneous subthreshold activity of motor nerve endings. J. Physiol., 1952, 117, 109-128.
- (33) Feldman, R. & L. Quenzer. Fundamentals of Neuropsychopharmacology. Sunderland, Massachusetts: Sinover Associates, Inc. Publishers, 1984.
- (34) Ferrari, W., G. L. Gessa & L. Vargiu. Behavioral effects induced by intracisternally injected ACTH and MSH. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1963, 104, 330-345.
- (35) George, R., W. L. Haslett & D. J. Jenden. Int. J. Neuropharmacol. 1964, 3, 541-552.
- (36) Gerendai, I., F. Drago, G. Continella & U. Scapagnini. Dopamine in the nucleus accumbens: Its role in prolactin enhanced grooming behavior of the rat. Biogen Amines, 1984, 1, 75-81.
- (37) Gispen, W. H., V. M. Wiegant, Bradbury A.F., E.C. Hulme, D. Smyth, C. R. Sneli & D. de Wied. Induction of excessive grooming in the rat by fragments of lipotropin. Nature, 1976, 264, 794-795.
- (38) Georgieva, V. P. & B. P. Patkova. Izv. Inst. Fisiol. (Sofia), 1974, 16, 271-280.
- (39) Gispen, W. H., J. Buitelaar, V. M. Wiegant, L. Terenius & D. de Wied. Interaction between ACTH fragments, brain opiate receptors and morphine induced analgesia. European Journal of Pharmacology, 1976, 39, 393-397.
- (40) Gispen, W. H. & Brakke. In: Callaghan, M., G. Horowitz & R. Isaacson. An investigation of the involvement of histaminergic systems in novelty-induced grooming in the mouse. Behavioral and Neural Biology, 1982, 35, 368-374.
- (41) Gispen, W. H. & R. L. Isaacson. ACTH - Induced excessive grooming in the rat. Pharmacology and Therapeutics, 1982, 12, 209-246.

- (42) Goodman, L. S. & A. Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics. A Textbook of Pharmacology Toxicology and Therapeutics for Physicians and Medical Students. México: Edit. Interamericana, 1974.
- (43) Goldstein, D. B. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1973, 186, 1-9.
- (44) Goldstein, D. B. Science, 1976, 193, 1081-1086.
- (45) Green, J. P., C. L. Johnson & H. Weinstein. Histamine as a neurotransmitter. In: Lipton, M. A., A. Dimascio & K. F. Killam (Eds.). Psychopharmacology: A Generation of Progress, New York: Raven Press, 1978, p. 319.
- (46) Greengard, P. Nature, 1976, 260, 101-108.
- (47) Grandison, L., & A. Guidott. Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin. Neuropharmacology, 1977, 16, 533-536.
- (47) Grossman, S. P. Science, 1960, 132, 301-302.
- (48) Guillemin, R., T. Vargo, J. Rossier, W. Ling, C. Rivier, W. Vale & F. Bloom. B-endorphin and adrenocorticotrophin are secreted concomitantly by the pituitary gland. Science, 1977, 197, 1367-1369.
- (49) Hannigan, J. H. (Jr.) & R. L. Isaacson. Conditioned excessive grooming in the rat after foot shock: Effect of naloxone and situational cues. Behavioral and Neural Biology, 1982, 33, 280-292.
- (50) Hertzler, J. H. Hannigan & R.L. Isaacson. In: Callaghan, M., G. Horowitz & R. Isaacson. An investigation of the involvement of histaminergic systems in novelty-induced grooming in the mouse. Behavioral and Neural Biology, 1982, 35, 368-374.
- (51) Hartzell, H. G. & D. M. Fambrough. Acetylcholine receptors: distribution and extrajunctional density in rat diaphragm after denervation correlated with acetylcholine sensitivity. J. Gen. Physiol., 1982, 60, 248-262.

- (52) Honig, W. K. Studies of working memory in the pigeon. In: Hulse, S. H., H. Fowler & W. K. Honig (Eds.). Cognitive Processes in Animal Behavior, Hillsdale, N. J.: Erlbaum, 1978.
- (53) Itoh, H. & S. Takauri. Effects of psychotropic agent and the the exploratory behavior on rats in a Y-shaped box. Jpn J. Pharmacol., 1968, 18, 344-352.
- (54) Iwahara, S. & Sakama, E. Effects of chlordiazepoxide upon habituation of open field behavior in white rats. Psychopharmacologia, 1972, 27, 285-292.
- (55) Jankowasa, K. E. In: Golgi Centennial Symposium Perspectives In Neurobiology. Edited by M. Santini, N. Y.: Raven Press, 1975, p. 235.
- (56) Jolles, J., J. Rampa-Barendregt & W. Gispen. Novelty and grooming behavior in the rat. Behavioral and Neural Biology, 1979, 25, 562-572.
- (57) Jolles, J., J. Rampa-Barendregt & W. Gispen. ACTH-Induced excessive grooming in the rat. The influence of environmental and motivational factors. Hormones and Behavior, 1979, 12, 60-72.
- (58) Karczmar, A. G. In: Physiological Pharmacology, Vol. 3, Root, W. S. & F. G. Hofman (Eds.), New York: Academic Press, 1967, p. 163-322.
- (59) Karczmar, A. G. Actual Pharmacol (Paris), 1969, 22, 253-338.
- (60) Karczmar, A. G. In: Goldberg, A. M. & I. Hanin. Biology of Cholinergic Function, New York: Raven Press, 1976, p. 395-449.
- (61) Karppanen, H., I. Paakari, R. Huatari & A. Orma. Possible involvement of central histamine H<sub>2</sub> receptors in the hipotensive effects of clonidine. Nature (London), 259, 1975, 587-588.

- (62) Koelle, G. B. Parasympathomimetic agents. In: Goodman, L. S. & A. Gilman (Eds.) The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan, 1975, p. 467-476.
- (63) Kravitz, E. A. Acetylcholine, gamma aminobutyric acid, and glutamic acid: Physiological and chemical studies related to their roles as neurotransmitter agents. In: Quartan, G. C., T. Melnecuk & F. O. Schmitt (Eds.). The Neuroscience. A Study Program, New York: Rockefeller Univ. Press, 1967, p. 433-443.
- (64) Krnjevic, K. Physiol. Rev., 1974, 54, 418-540.
- (65) Krnjevic, K. In: Iversen, L. L., S. D. Iversen & S. H. Snyder (Eds.). Handbook of Psychopharmacology. Vol. 6, New York: Plenum Press, 1975, p. 97-125.
- (66) Krnjevic, K., E. Paul & R. Werman. Can. J. Physiol. Pharmacol., 1976, 54, 172-176.
- (67) Kuhar, M. J. In: Goldberg, A. M. & I. Hanin. Biology of Cholinergic Function, New York: Raven Press, 1976, p. 3-27.
- (68) Lader, M. Current psychophysiological theories of anxiety. In: Lipton, M. A., A. Dimascio & K. F. Killam (Eds.). Psychopharmacology: A Generation of Progress, New York: Raven Press, 1978, p. 1375-1380.
- (69) Lee, C. Y., L. F. Tseng & T. H. Chiu. Influence of denervation on localisation of neurotoxins from clopid venoms in rat diaphragm. Nature, 1967, 215, 1177-1178.
- (70) Lewis, P. R. & C. C. D. Shute. Brain, 1967, 90, 521-540.
- (71) Lipton, M. A., A. Dimascio & K. F. Killam (Eds.). Psychopharmacology: A Generation of Progress, New York: Raven Press, 1978.
- (72) Loewi, O. Veber humorale veber tragbarkeit der herznervenwirkung. Pflügers Arch., 1921, 189, 239-242.

- (73) MacIntosh, F. C. & B. Collier. The neurochemistry of cholinergic terminals. In: Zaimis, E. & J. MacLagan (Eds.). Handbook of Experimental Pharmacology: Organization, Function and Pharmacology of the Neuromuscular Junction. Berlin: Springer Verlag, 1976, p. 99-228.
- (74) Maickel, R. P. & G. J. Maloney. Effects of various depressant drugs on deprivation-induced water consumption. Neuropharmacology, 1977, 12, 777-782.
- (75) Marriott, A. S. & E. F. Smith. An analysis of drug effects in mice exposed to a simple novel environment. Psychopharmacologia, 1972, 24, 397-406.
- (76) Marriott, A. S. & P. S. Spencer. Effects of centrally acting drugs on exploratory behavior in rats. Br. J. Pharmacol., 1965, 25, 432-441.
- (77) Marchbanks, R. M. Biochemistry of cholinergic neurons. In: Iversen, L. L., S. D. Iversen & S. H. Snyder (Eds.). Handbook of Psychopharmacology. Vol. 3, New York: Plenum Press, 1975, p. 247-326.
- (78) Mason, J. A review of psychoneuroendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. Psychosomatic Medicine, 1968, 30, 576-607.
- (79) Miledi, R. & L. T. Potter. Acetylcholine receptors in muscle fiber. Nature, 1971, 233, 599-603.
- (80) Minz, B. C. The role of humoral agents in nervous activity. Illinois: Thomas, Springfield, 1955.
- (81) Molinof, P. B. The use of snake venom toxins to study and isolate cholinergic receptors. In: Schmitt, F. O. & P. G. Worden (Eds.). The Neurosciences Third Study Program. Cambridge, Massachusetts: MIT Press, 1974, p. 759-763.
- (82) Myers, R. D. Handbook of Drug and Chemical Stimulation On Brain. New York: Van Nostrand Reinhold, 1974.

- (83) Nastuk, W. L. Neuromuscular transmission. In: Mountcastle, V. B. (Ed.). Medical Physiology, Vol. 1, St. Louis: Mosby, 1974, p. 151-181.
- (84) Nishi, S. In: Narahushi, E. T. & C. P. Bianchi. Advances in General and Cellular Pharmacology, Vol. 1, New York: Plenum Press, 1976, p. 179-245.
- (85) Nolan, N. A. & M. W. Parkes. The effects of benzodiazepines on the behavior of mice on a hole board. Psychopharmacologia, 1973, 29, 277-288.
- (86) Potter, L. T. Acetylcholine receptors in vertebrate skeletal muscles and electric tissues. In: Rang, H. P. (Ed.). Drug Receptors, Baltimore: University Park Press, 1973, p. 295-310.
- (87) Rodríguez-Echandia, E. L., Broitman, S. J. & Foscolo, M. R. Effect of serotonergic and catecholaminergic antagonists on mild-stress-induced grooming in the rat. Behav. Neurosci., 1983, 97, 1022-1024.
- (88) Rossier, J., E. D. French, C. Rivier, N. Ling, R. Guillemin, & F. E. Bham. Foot-shock induced stress increases B - endorphin level in blood but not brain. Nature, 1977, 270, 618-620.
- (89) Santis, D. M. & J. L. Díaz. Location response to a startling noise depend on the preferred grooming site in mice. Physiol. and Behav., 1983, 30, 551-555.
- (90) Santis, D. M. & J. L. Díaz. Self-Grooming, refuge and behavioral response to a startling noise in mice: Effects of drugs that modify brain dopamine transmission, México, 1984, Trabajo Inédito.
- (91) Sansone, M. Facilitating effects of chlordiazepoxide on locomotor activity and avoidance behavior of reserpinized mice. Psychopharmacology (Berlin), 1978, 59, 157-160.
- (92) Schildkraut, J. J. & S. S. Kety. Biogenic amines and emotion. Science, 1967, 156, 21-30.

- (93) Scrollini, F., S. Culiari, A. Romano & P. Torchio. Toxicological and pharmacological investigations of pinazepam a new psychotherapeutic agents. Arzncimittelforsch, 1975, 25, 934-940.
- (94) Snyder, S. H. Br. J. Pharmacol., 1975, 53, 473-484.
- (95) Treit, D. Animal model for the study of anti-anxiety agents: A review. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 1985, 9, 203-222.
- (96) Voller, R. L. & G. B. Koelle. Ganglionic stimulating and blocking agents. In: Goodman, L. S. & A. Gilman (Eds.). The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan, 1975, p. 565-575.
- (97) Weight, F. F. In: Efron, D. H. (Ed.). Psychopharmacology. A. Review of Progress. 1957-1967. Publ. No. 1836, Washington: U. S. Gort, Printing Office, 1968, p. 69-75.
- (98) Weischer, M. L. Kineefach versushsanordnung zur quantitativen beurteilung von motilitat und neugierverhalten bei mausen. A. Psychopharmacology. (Berlin), 1976, 50, 275-279.