

PÓSTERS

1. COGNICIÓN Y COMPORTAMIENTO

COGNICIÓN Y COMPORTAMIENTO EN HUMANOS

P158. INFLUENCIA DE LAS LESIONES SUBCORTICALES EN UN GRUPO DE PACIENTES CON ICTUS SOBRE LOS PROCESOS CONDUCTUALES, AFECTIVOS Y COGNITIVOSL. GUTIÉRREZ CABELLO^A, A. AGUILAR ALONSO^B, S. PEDRAZA GUTIÉRREZ^C^A DEPARTAMENTO DE PERSONALITAT, AVALUACIÓ I TRACTAMENTS PSICOLÒGICS.^B DEPARTAMENT DE PERSONALITAT, AVALUACIÓ I TRACTAMENTS PSICOLÒGICS. UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA. ^C DIAGNÒSTIC POR IMAGEN. HOSPITAL DE GIRONA DR. JOSEP TRUETA. GIRONA, ESPAÑA

Las lesiones en territorio subcortical (ganglios basales, tálamo, corona radiata y tronco del encéfalo) pueden interferir y modular los procesos afectivos, conductuales y cognitivos. Se estudia un grupo de pacientes con ictus subcorticales (observable en la difusión por resonancia magnética en las primeras 72 horas de su inicio). A dichos pacientes se les administran pruebas neuropsicológicas, una escala para valorar los trastornos obsesivos compulsivos ($n=68$) y una escala para valorar los estados depresivos ($n=75$). Se establece un punto de corte en la escala de trastornos obsesivos compulsivos (MOCI) de >13 , y se divide a los pacientes en dos subgrupos, observándose que el subgrupo con puntuaciones superior a 13 manifiesta afectación de la memoria de aprendizaje, de las funciones ejecutivas, de la atención y perseveración. Por otro lado, en el grupo de pacientes a los que se les administró la escala de depresión Hamilton (HRS-D), con una puntuación de corte >7 , se observan diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones directas en los test cognitivos (memoria, atención, fluencias y las capacidades ejecutivas con enlentecimiento psicomotor). De los resultados de las observaciones con este grupo de pacientes, no se puede concluir y asegurar que el deterioro de los procesos afectivos y cognitivos sea una consecuencia de las lesiones producidas por el ictus subcortical, pero se puede suponer que el conocimiento de dicho deterioro, tanto afectivo como cognitivo, complementa el diagnóstico precoz y facilita el mejor tratamiento (rehabilitación cognitiva y farmacológica), con el beneficio que ello representa para este tipo de pacientes.

P159. ÁREA 10 DE BRODMANN: METAANÁLISIS DE ESTUDIOS FUNCIONALES CEREBRALES BASADOS EN NEUROIMAGENA. GARCIA LINARES^A, L. DE LA PEÑA FERNÁNDEZ^B^A DEPARTAMENTO FISIOLÓGIA HUMANA. ^B RADIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. MÁLAGA, ESPAÑA

Introducción. El progresivo aumento de estudios funcionales cerebrales con técnicas de neuroimagen ha hecho crecer de forma importante el número de resultados obtenidos en esta área de conocimiento. Además, la creación de bases de datos vía Internet han facilitado enormemente la realización de estudios comparativos y/o metaanalíticos. **Material y método.** Como fuente de datos se ha utilizado un total de 523 artículos, indexando un total de 2.161 experimentos, incluyendo 17.722 focos de activación, procedentes de la base de datos BrainMap (Universidad de Texas). Para el análisis estadístico se ha utilizado SPSS para Windows, calculándose el test estadístico de Fisher para tablas de contingencia, buscando la existencia de relaciones estadísticamente significativas entre el área BA10 y el resto de áreas cerebrales, para cinco dominios funcionales: acción, cognición, emoción, interocepción y percepción. Para la visualización de los resultados se ha realizado un estudio cartográfico de los focos de activación, usando para ello el programa Caret (<http://brainmap.wustl.edu/caret>) y el Atlas Cerebral Human Colin (A. Toga, UCLA). **Resultados.** Se han encontrado relaciones estadísticamente significativas entre la activación de BA10 y otras áreas cerebrales según los distintos dominios contemplados, siendo algunas de ellas muy significativas (a nivel cognitivo) y coherentes con la bibliografía consultada. **Conclusiones.** La metodología ha demostrado ser muy útil para la realización de estudios meta-analíticos basados en estudios funcionales. Por otro lado, BrainMap es una excelente herramienta para facilitar la extracción de conocimiento a partir del metaanálisis de grandes colecciones de este tipo de estudios.

P160. LOCALIZACIÓN Y MODULACIÓN DE LOS RITMOS CEREBRALES HUMANOSC.M. GÓMEZ GONZÁLEZ^A, J. MARCO^B, C. GRAU^C^A LAB PSICOBIOLÓGIA, DEPT. PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^B DEPT. PSIQUIATRÍA Y PSICOBIOLÓGIA CLÍNICA. ^C DEPT. DE PSIQUIATRÍA Y PSICOBIOLÓGIA CLÍNICA. UNIVERSIDAD DE BARCELONA. SEVILLA, ESPAÑA

El presente estudio trata de mostrar (a) La localización de los ritmos cerebrales, (b) Si se modulan por atención preparatoria (c) si las distintas áreas cerebrales tienen frecuencia específicas. Para ello se registró el EEG de 11 sujetos desde electrodos situados en 58 posiciones del cuero cabelludo. En el experimento se pidió a los sujetos que respondieran con la mano derecha al S2 visual, avisado 1 seg antes por un S1 también visual. La potencia espectral del período pre-S1 y pre-S2 fue calculada. El algoritmo LORETA fue aplicado a las bandas de frecuencias correspondientes a Theta (5-8 Hz), alfa (10-12 Hz), beta bajo (14-18) y beta alto (24-28 Hz). Sólo se analizaron las áreas cerebrales que estuvieron por encima de 2.5 veces el valor de la desviación estándar sobre el valor medio de densidad de corriente para cada banda. Las áreas cerebrales en las cuales la densidad de corriente fue máxima (2.5 SD) para el rango de Theta se localizaron en áreas frontales y temporales. Para el rango de alfa se localizaron en el lóbulo occipital. Para el rango de beta la localización fue en el lóbulo frontal. El período pre-S2 frente pre-S1 supuso una modulación de los ritmos alfa y beta. Los diagramas frecuencia-amplitud mostraron frecuencias específicas para distintas áreas cerebrales. El EEG podría ser concebido en parte como la superposición de osciladores en distintas frecuencias.

P161 DETERMINACIÓN DEL PATRÓN DE CONECTIVIDAD CEREBRAL A PARTIR DE EEG EN PACIENTES CON DAÑOS CEREBRALES CON MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y DETERMINISTASN. Perales Castellanos^a, V. A. Makarov^b, J. M. Barroso Martín^c, J. León Carrión^c, F. Panetsos^b^a Dept Matemática Aplicada. Escuela Universitaria de Optica. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. ^b Dept Matemática Aplicada. Escuela Universitaria de Optica. UCM. Madrid. ^c Dept Psicología Experimental. Universidad de Sevilla. Sevilla, España

Este trabajo está centrado en el estudio de electroencefalogramas (EEG) de pacientes con daños cerebrales con la pretensión de diferenciar distintos niveles de profundidad del estado de coma. Dicho estudio conlleva una mejora en la capacidad de diagnóstico y decisión del consecuente tratamiento. Para lograr nuestro objetivo se han estudiado los EEG enfatizando en la conectividad funcional entre distintas áreas del cerebro para buscar posibles anomalías en el acoplamiento funcional entre zonas dañadas, tomando como referencia EEG de sujetos sanos. Se ha abarcado este análisis desde un enfoque estadístico y determinista. Como herramientas estocásticas hemos empleado la coherencia espectral parcial y el reciente método basado en modelos auto-regresivos dDTF, función de transferencia dirigida. Para no cerrarnos a la idea de que dos estructuras interactúan solo cuando están sincronizadas consideramos los registros en un contexto determinista. Concibiendo el cerebro como una red heterogénea de sistemas dinámicos que interactúan entre sí, hemos podido valorar la manifestación macroscópica de la conectividad funcional corticocortical. Cada uno de los electrodos se trata como un sistema dinámico local cuyos parámetros de interacción proporcionan la conectividad y donde la dimensión del espacio de fase asociado es un estimador de la complejidad de cada estado. El estudio de los EEG de 15 pacientes a través de estos métodos nos ha permitido establecer diferencias entre los patrones de conectividad en los estados ojos abiertos-cerrados, estados de reposo y diversos daños cerebrales.

COGNICIÓN Y COMPORTAMIENTO EN ANIMALES

P162. EFECTO DE LA HIPOXIA HIPOBÁRICA SOBRE PROCESOS COGNITIVOS EN RATÓNJ. C. LÓPEZ RAMOS^A, N. MADROÑAL MONGE^B, J. M. DELGADO-GARCÍA^B^A DIVISIÓ DE NEUROCIENCIAS. ÀREA DE FISIOLÒGIA. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA. ^B DIVISIÓ DE NEUROCIENCIAS. ÀREA DE FISIOLÒGIA. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

Se pretende estudiar cómo la hipoxia hipobárica aguda afecta a diferentes aspectos cognitivos y motores en ratones adaptados y no adaptados a estas condiciones. Para ello, se determinó la evolución de la actividad en ratones Swiss durante una progresiva (aproximadamente 39 mmHg/min) descompresión hasta 266 mmHg, y posterior recompresión, en cámara hipobárica, y se evaluó esta actividad a presiones de 760, 550, 470 y 394 mmHg. Igualmente, se realizaron pruebas de reconocimiento de objetos

a 760 y 470 mmHg, y condicionamiento clásico del reflejo corneal a 760 mmHg (control) y a 394 mmHg en animales no adaptados y adaptados a dicha presión durante una semana en cámara hipobárica. La descompresión progresiva indujo una disminución de la actividad, que evolucionó con un retraso de aproximadamente 5 min. respecto a la altura, seguido de un posterior aumento conforme progresó la recompresión. Las medidas de actividad a diferentes presiones mostraron diferencias significativas con respecto a la actividad control (760 mmHg) a partir de los 470 mmHg. Las pruebas de reconocimiento de objetos mostraron que las capacidades de aprendizaje y/o memoria se vieron afectadas en animales sometidos a hipoxia hipobárica, coincidiendo con una disminución de la actividad. El condicionamiento clásico del reflejo corneal mostró cómo la hipoxia hipobárica retrasa el aprendizaje en animales no adaptados, aunque no en los adaptados, los cuales mejoraron su rendimiento con respecto al grupo control. Se concluye que la hipoxia hipobárica afecta al aprendizaje y la memoria en ratones no adaptados, aunque no a los adaptados a estas condiciones.

P163. CAMBIOS EN EL CONDICIONAMIENTO CLÁSICO PALPEBRAL INDUCIDOS POR TRATAMIENTO CON ÁCIDO RETINOICO EN EMBRIONES DE RATÓN

P. GARCÍA SANZ, J.M. DELGADO GARCÍA, E. DOMÍNGUEZ DEL TORO
DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

Los estudios del desarrollo del tronco del encéfalo en ratones transgénicos indican que las redes neuronales implicadas en el control motor se especifican durante el desarrollo temprano del rombencéfalo. Se sabe que el ácido retinoico exógeno (RA), que tiene efectos teratogénicos en los embriones, cambia la organización rombomérica y los dominios de expresión de los genes Hoxa1 y Hoxab1. Hemos demostrado en un estudio preliminar sobre el control del ritmo respiratorio, que el tratamiento con dosis no teratogénicas de RA origina una respiración episódica característica de algunos síndromes humanos (Joubert, Cheyne-Stokes, alguno de los cuales presenta cierto retraso psicomotor). Para investigar si dicho tratamiento afecta al establecimiento de la red neuronal del puente, implicada en el control de la adquisición de respuestas motoras condicionadas, hemos estudiado las curvas de aprendizaje en ratones tratados con RA (0,5 mg/kg, administración oral a hembras gestantes durante los primeros estadios del desarrollo embrionario). Las camadas obtenidas contenían neonatos aparentemente normales que sobrevivían hasta el estado adulto. Los resultados muestran que el tratamiento con dosis no teratogénicas de RA producen una disminución del 50% en la adquisición de respuestas condicionadas, bajando el aprendizaje máximo (como porcentaje de respuestas condicionadas) desde un 60-70% (ratones silvestres) hasta un 30-35% (ratones tratados). Hemos observado igualmente una inhibición por prepulso de la respuesta de sobresalto del 90% en estos ratones, frente al 40-50% (ratones silvestres). Se sugiere que la desestructuración de los patrones de expresión de los genes Hox durante el desarrollo embrionario, afecta a la elaboración de respuestas cognitivas.

P164. EFECTO DE LA INACTIVACIÓN REVERSIBLE DEL NÚCLEO SUPRAMAMILAR MEDIAL EN LA MEMORIA DE TRABAJO ESPACIAL

L. ARANDA GARRIDO^A, J.A. AGUIRRE GÓMEZ^B, E. BURÓN GUTIERREZ^C, A. BEGEGA LOSA^D, J.L. ARIAS PÉREZ^D, L.J. SANTÍN NÚÑEZ^C

^A LABORATORIO DE PSICOBIOLÓGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. ^C LABORATORIO DE PSICOBIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^D LABORATORIO DE PSICOBIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE OVIEDO. OVIEDO, ESPAÑA

Objetivo. El objetivo del presente experimento fue estudiar el efecto de la microinfusión de tetrodotoxina en el núcleo supramamilar medial (SuMm) en una tarea de memoria de trabajo espacial. *Material y métodos.* Se implantó estereotáxicamente un canula guía en el SuMm de 18 ratas Sprague Dawley machos (280-320 g). Todos los animales fueron entrenados en una tarea de emparejamiento demorado con un lugar (DMTP) durante siete días consecutivos. Los animales fueron asignados aleatoriamente a dos grupos: grupo SAL (microinfusión de suero salino 0,5 µL) (n = 9) y grupo TTX (microinfusión de 5 ng de tetrodotoxina en 0,5 µL de suero salino) (n = 9). Se registró el comportamiento de los animales después de la microinyección (tetrodotoxina o suero salino) los días 4 y 6, mientras que el resto de días el registro se realizó sin microinyección. Durante el entrenamiento se registraron las latencias de escape y el número de errores. *Resultados.* Los resultados obtenidos indican que se produce un incremento en el número de errores y en las latencias de escape durante el ensayo de recuerdo, cuando se administró tetrodotoxina en el SuMm pero no cuando se administró suero salino. *Conclusión.* La inactivación reversible del SuMm con tetrodotoxina perjudica gravemente la capacidad de los animales para ejecutar una tarea de DMTP, indicando que es una región cerebral crítica en los procesos de memoria de trabajo espacial.

P165. SISTEMA INFORMATIZADO PARA VALORAR MEMORIA VISUAL EN MONOS

M. J. GARCÍA-MIGUEL^A, F. GONZÁLEZ^B, I. TORRES-ALEMÁN^C, C. CAVADA^D

^A FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. INSTITUTO CAJAL/CSIC. MADRID. ^B FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. ^C INSTITUTO CAJAL. CSIC. MADRID. ^D FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: COMUNIDAD DE MADRID GR/SAL/0896/2004

Hemos diseñado un sistema informatizado para entrenar y evaluar la conducta de macacos adultos en un test de reconocimiento visual diferido. El sistema se compone de los siguientes elementos: 1) panel frontal metálico con tres ventanas circulares dispuestas en triángulo situadas frente al mono, 2) un pulsador debajo de cada una de las dos ventanas inferiores, 3) tubo metálico para administrar la recompensa, 4) ordenador con programas para el entrenamiento, control y registro de los parámetros del test, y 5) dos pantallas, una para presentar al mono la muestra y las opciones de respuesta detrás de las ventanas, y la otra para el investigador. El sistema fue adecuado para entrenar a un macaco en una tarea en la que debía elegir entre dos figuras (opciones de respuesta) tras la presentación de una figura-muestra en la ventana superior. Utilizamos dos figuras: un círculo y una cruz. Empleamos la siguiente secuencia de tareas para el entrenamiento: 1) recogida de recompensa, 2) pulsación – recompensa, 3) muestra – figura igual a la muestra en diferentes posiciones – recompensa tras pulsar la posición correcta, 4) muestra – figura igual o no a la muestra – recompensa tras pulsar bajo la figura igual a la muestra, 5) muestra – dos figuras simultáneas – recompensa tras pulsar bajo la figura igual a la muestra, 6) muestra – tiempo de retardo sin figuras en ventanas – dos figuras simultáneas – recompensa tras pulsar bajo la figura igual a la muestra.

P166. EL SISTEMA DE PROYECCIONES ASCENDENTES DESDE EL NÚCLEO INCERTUS AL HIPOCAMPO

F. E. OLUCHA-BORDONAU^A, A. P. CERVERA FERRI^B, A. PÉREZ VILLALBA^C, R. T. AMPARO^D, R. P. VERTES^E

^A DEP. ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE VALENCIA. VALENCIA. ^B DEP. ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. ^C DEP. ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. ^D DEP. ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD VALENCIA. VALENCIA, ESPAÑA. ^E CENTER FOR COMPLEX SYSTEMS. FLORIDA ATLANTIC UNIVERSITY. BOCA RATON FL. FLORIDA, ESTADOS UNIDOS

El núcleo *incertus* se localiza en la parte caudal del tegmento pontino ventromedialmente respecto a los núcleos tegmentales dorsales, es una estructura par que se sitúa a ambos lados de la línea media. Sus proyecciones se han descrito recientemente y consisten en un amplio abanico de estructuras agrupadas en dos rutas ascendentes, una acaba en la corteza prefrontal medial y la otra acaba en el hipocampo. La vía que acaba en el hipocampo contiene sucesivamente el núcleo mediano del rafe, los núcleos interpedunculares, núcleo supramamilar, núcleo *reuniens*, complejo *septum* medial e hipocampo. Todas estas estructuras han sido relacionadas a la generación y control del ritmo theta. En orden a estudiar si las proyecciones ascendentes de esta vía contactan con neuronas de proyección al hipocampo se han realizado inyecciones de fluorogold en el hipocampo dorsal e inyecciones de *miniruby* en el núcleo *incertus*. En el complejo *septum* medial, banda diagonal se observaron neuronas fusiformes o triangulares marcadas retrógradamente que presentaban fibras con engrosamientos arrosariados sobre las dendritas primarias y secundarias, los terminales sobre soma fueron escasos. Los contactos sobre neuronas del *reuniens* fueron escasos pero constantes al igual que sobre el núcleo supramamilar, en estos casos el marcaje se presentaba sobre el soma. Los marcajes sobre el núcleo interpeduncular rostral y el núcleo del rafe superior se produjeron sobre el soma. Estos datos refuerzan la idea de que el núcleo *incertus* juega un papel importante en la génesis y control del ritmo theta.

P167. EXPRESIÓN C-FOS EN LOS CUERPOS MAMILARES EN UNA TAREA DE MEMORIA DE TRABAJO ESPACIAL EN EL LABERINTO DE HOYOS

E. BLANCO CALVO, R. MIRANDA GARCÍA, A. BEGEGA LOSA, J.L. ARIAS PÉREZ

LABORATORIO DE PSICOBIOLÓGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE OVIEDO. OVIEDO, ESPAÑA

En la neurociencia actual el estudio del substrato neurobiológico de los procesos de aprendizaje espacial es una constante, donde se sabe que el sexo es un determinante biológico que afecta la ejecución de tareas de memoria espacial. Los Cuerpos Mamilares son una estructura hipotalámica que mantiene importantes conexiones con el Hipocampo, claramente relacionado con memoria espacial. El objetivo de este

17.09.05

trabajo fue estudiar la implicación de los Cuerpos Mamilares en memoria de trabajo espacial de ambos sexos en la expresión de c-fos mediante detección inmunohistoquímica de la proteína c-Fos. La inmunoreactividad c-Fos (c-fos IR) puede ser usada como un marcador de la actividad neuronal en regiones cerebrales implicadas en procesos de memoria. Como grupos experimentales, dos grupos de ratas Wistar adultas (10 ratas macho y 10 hembras) fueron entrenadas en una tarea de memoria de trabajo (ensayo dependiente) realizada en el laberinto de 16 hoyos (holeboard); además, empleamos dos grupos controles (10 ratas macho y 10 hembras) para el estudio de la activación c-fos no específica al proceso de memoria estudiado. Después del procedimiento inmunohistoquímico el número de núcleos neuronales c-Fos positivos fue cuantificado en varios núcleos de la región mamilar (núcleos mamilar medial, mamilar lateral y supramamilar). Los resultados muestran un incremento en el número de c-Fos IR en los grupos entrenados, estableciéndose una clara relación entre las neuronas de los cuerpos mamilares que expresan c-fos IR con la memoria de trabajo espacial, siendo más evidente en los núcleos mamilares implicados en memoria de trabajo espacial.

P168. EL EFECTO DE LA SOBREEXPOSICIÓN AL CONTEXTO EN EL CONDICIONAMIENTO DE MIEDO AL CONTEXTO

A. PEREZ-VILLALBA^A, N. J. MACKINTOSH^B, A. CERVERA-FERRI^A, V. TERUEL^A, F. E. OLUCHA-BORDONAU^A, A. RUIZ-TORNER^A

^ADEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD VALENCIA. VALENCIA. ^BDEPARTMENT OF EXPERIMENTAL PSYCHOLOGY. TRINITY COLLEGE. CAMBRIDGE, REINO UNIDO

El objetivo de este experimento fue el de probar el efecto de una larga exposición al contexto antes del condicionamiento de miedo al contexto. Ratas macho SD fueron expuestas durante cinco minutos o durante toda la noche (grupo ON) a la caja en la que posteriormente se realizaría un único ensayo de condicionamiento al contexto. Las ratas del grupo ON mostraron un significativo nivel más bajo de *freezing* en el test de aprendizaje que las ratas que fueron expuestas sólo durante cinco minutos. El test de aprendizaje se llevó a cabo una hora después del ensayo de condicionamiento. Dos grupos más de ratas recibieron una exposición larga al contexto como la del grupo ON antes del condicionamiento, pero se les introdujo un espacio temporal de cinco minutos (ON-5') o de 1 hora (ON-1H), entre la sobreexposición y el ensayo de condicionamiento, en un contexto distinto, pero conocido. El grupo ON-1H mostró niveles parecidos de *freezing* a los animales que fueron expuestos al contexto durante un breve periodo de tiempo (cinco minutos), mientras que el grupo ON-5' mostró niveles de *freezing* superiores al grupo de cinco minutos en el test de aprendizaje. Los resultados muestran que la sobreexposición al contexto produce una inhibición de la respuesta condicionada que es recuperada con la inserción de un cambio de contexto breve o moderado previo al condicionamiento. Estos resultados son discutidos en términos de una clara diferenciación entre los efectos de la exposición larga al contexto y la inhibición latente.

P169. EXPRESIÓN DE C-FOS EN EL TRONCO DEL ENCÉFALO EN RATAS SOBREEXPUESAS AL CONTEXTO ANTES DEL CONDICIONAMIENTO DE MIEDO A UNA SEÑAL

A. PEREZ-VILLALBA, V. TERUEL, A. CERVERA-FERRI, F. E. OLUCHA-BORDONAU, A. RUIZ-TORNER

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD VALENCIA. VALENCIA, ESPAÑA

El principal objetivo de este estudio es analizar la actividad de distintos núcleos del troncoencéfalo a través del marcaje de c-fos durante la adquisición de condicionamiento de miedo a la señal. Esta expresión de c-fos se ha medido en 30 ratas macho SD que han sido expuestas al contexto de condicionamiento durante un corto o largo periodo de tiempo antes del condicionamiento a la señal. Las secciones de cerebros fijadas y cortadas coronalmente fueron procesadas para el marcaje de c-fos mediante inmunohistoquímica. Todos los núcleos del troncoencéfalo seleccionados mostraron diferencias estadísticas en el marcaje de c-fos excepto el núcleo *reuniers* de tálamo. Los núcleos Dorsal del *rafe* e *incertus* muestran un marcaje que podría relacionarlos con el grado de actividad motora y exploración previa al aprendizaje. El resto de núcleos (PL, LC, SuM, MnR) muestran diferencias en activación probablemente no relacionadas con el momento de adquisición del miedo condicionado a la señal, sino más bien con el procesamiento de la respuesta incondicionada.

P170. IMPLICACIÓN DEL NÚCLEO INCERTUS EN EL RITMO THETA HIPOCÁMPICO EN LA RATA

A. CERVERA-FERRI^A, V. TERUEL^A, A. PEREZ-VILLALBA^B, A. RUIZ-TORNER^A, F. E. OLUCHA-BORDONAU^A, Á. NÚÑEZ^C

^ADEPARTAMENTO ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. ^BDEPARTAMENTO ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD VALENCIA. VALENCIA. ^CDEPARTAMENTO MORFOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo del presente estudio es probar la posible implicación del núcleo *incertus* (NI) en la ruta multisináptica generadora y/o moduladora del ritmo theta hipocámpico. Actualmente, se postula como generador del ritmo theta al núcleo *reticularis pontis oralis* (RPO) y al complejo *septum* medial-banda diagonal (SM/BD) como marcapasos del ritmo. Sin embargo, no existe una conexión directa entre ambos. El NI proyecta al SM/BD y a otras estructuras implicadas: núcleo supramamilar y núcleo del rafe mediano. Para el estudio anatómico, se realizaron inyecciones de trazadores anterógrados (BDA, BDA-fluoresceína, Miniruby) en RPO y retrógrados (Fluorogold, CTB) en SM/BD y NI de rata. Se observaron, en NI, fibras procedentes de RPO, que muestran aspecto de terminales, sobre neuronas retrógradamente marcadas. Pudo verificarse así la existencia de proyecciones desde RPO hasta NI y de éste al SM/BD. Registros electrofisiológicos unitarios de neuronas del NI, en ratas anestesiadas con uretano, muestran correlación en sus disparos con la aparición de ondas lentas (3-6 Hz) en el EEG hipocámpico, provocadas bien por estimulación eléctrica del RPO bien por estimulación sensorial. La estimulación eléctrica del NI provocó también un aumento en dicho rango de frecuencias. Tras la supresión de la actividad del NI, por lesión o inhibición química (inyección de muscimol), se observó una disminución significativa de ritmo theta generado por estimulación eléctrica del RPO, pero no por estimulación sensorial. El conjunto de resultados demuestra la implicación del NI en la generación o modulación del ritmo theta hipocámpico originado por estimulación del RPO.

P171. DISMINUCIÓN DE LA NEUROGÉNESIS ADULTA HIPOCÁMPAL EN AUSENCIA DEL RECEPTOR DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO LPA1

E. MATAS RICO^A, P. FERNÁNDEZ-LLEBREZ ZAYAS^B, E. GIL LARA^B, P. FERNÁNDEZ-LLEBREZ^C, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA^B, G. ESTIVILL TORRÚS^B

^AUNIDAD DE INVESTIGACION. FUNDACION IMABIS. MÁLAGA. ^BUNIDAD DE INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN IMABIS. MÁLAGA. ^CDEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA; FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

El ácido lisofosfatídico (LPA) es un fosfolípido que actúa como mensajero intercelular a través de receptores específicos (lpA1-4) acoplados a proteína-G. Sin embargo, aún no se conoce totalmente el significado de sus mecanismos de señalización en el sistema nervioso. El primer gen identificado para el receptor de LPA, lpA1, se expresa intensamente durante el desarrollo de la corteza cerebral en las regiones proliferativas. El LPA induce cambios en neuroblastos y aumenta la actividad en neuronas hipocámpales, sugiriendo funciones en procesos cognitivos. Se ha sugerido una relación entre dicha vía de señalización y los procesos de neurogénesis, especialmente aquellos asociados al aprendizaje y memoria, siendo, en esa línea en la que se encuentran enfocados nuestros estudios. Como metodología, se han utilizado ratones carentes de dicho receptor, disponibles en nuestro laboratorio, y que, actualmente, nos han permitido demostrar también la implicación de dicha vía de señalización en la neurogénesis cortical embrionaria. Mediante el uso de marcaje con BrdU (100 microg/g peso; 1 dosis/día, cuatro días; 3 cada 2h el último día) y sometiendo a los animales a situación de aislamiento y de enriquecimiento ambiental, se analizó la diferente respuesta de génesis neuronal que tiene lugar en ausencia del receptor de LPA, lpA1. Los resultados demuestran que la ausencia de dicho receptor impide una respuesta neurogénica adecuada en el giro dentado. Paralelamente se ha realizado caracterización inmunocitoquímica y estudios de estereología para el análisis poblacional del hipocampo.

P172. EFECTOS DEL CONDICIONAMIENTO CLÁSICO DEL REFLEJO PALPEBRAL SOBRE LA EXPRESIÓN EN EL HIPOCAMPO DE LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR NCAM Y L1

L. JIMÉNEZ- DÍAZ^A, A. I. HERRERO^B, C. VENERO^B, K. CAMBON^B, K. TOUYAROT^B, J. M. DELGADO-GARCÍA^C, C. SANDI^D

^A CENTRO REGIONAL INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS - FACULTAD MEDICINA. UNIVERSIDAD CASTILLA LA-MANCHA. ALBACETE. ^B DEPARTAMENTO PSICOBIOLÓGÍA. UNED. MADRID. ^C DIVISIÓN NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA. ^D LABORATORY OF BEHAVIORAL GENETICS. BRAIN AND MIND INSTITUTE. LAUSANNE, SUIZA

En este estudio se evaluó si el condicionamiento clásico del parpadeo modula la expresión, en el hipocampo, de las moléculas NCAM, PSA-NCAM y L1, un grupo de moléculas de adhesión celular (CAM) que regulan las interacciones célula-célula y se han relacionado con procesos de plasticidad sináptica. Además, se estudió si esta regulación se correlaciona con el grado de aprendizaje alcanzado. Los animales se implantaron (párpado derecho) con electrodos: de registro electromiográfico en el músculo orbicular, y de estimulación en el nervio supraorbitario para suministrar los estímulos condicionado e incondicionado. Las ratas ($n = 57$) se dividieron en tres grupos: a) condicionado ($n = 26$), b) pseudocondicionado ($n = 18$), y c) control ($n = 13$). Un tercio de los animales de cada grupo se sacrificó 12 h después de 1, 3 o 6 sesiones de entrenamiento. Los niveles de las CAM, se midieron en sinaptosomas crudos de hipocampo completo (derecho e izquierdo) mediante ELISA. Los resultados mostraron que en los animales entrenados durante una sesión, la expresión de L1 y PSA-NCAM aumentó significativamente en el hipocampo contralateral (izquierdo) respecto tanto al hipocampo homolateral de este grupo, como a los dos hipocampos de los controles (pseudocondicionados y contexto). Esta diferencia interhemisférica disminuyó tras 3 sesiones y desapareció después de 6. En las sesiones 1 y 3 de entrenamiento, los niveles de NCAM en los animales condicionados no variaron ni entre hemisferios ni respecto a los grupos control, pero en la sexta sesión aumentaron bilateralmente. Estos resultados sugieren que las CAM juegan un papel en la remodelación sináptica en el hipocampo durante el aprendizaje asociativo.

P173. ESTUDIO FISIOLÓGICO Y CONDUCTUAL DE ANSIEDAD Y PÁNICO EN RATONES TS65DN MACHOS Y HEMBRAS, UN MODELO DE SÍNDROME DE DOWN

N. RUEDA REVILLA^A, J. FLÓREZ BELEDO^B, C. MARTÍNEZ-CUÉ PESINI^B

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. SANTANDER, ESPAÑA

El ratón Ts65Dn (TS), el modelo animal más utilizado de síndrome de Down, es trisómico para un segmento del cromosoma 16 homólogo a la región crítica de síndrome de Down (SD) del cromosoma 21 humano. Este ratón presenta muchas de las características fenotípicas de las personas con SD tales como alteraciones en la neuromorfología, neuroquímica, electrofisiología y alteraciones conductuales y cognitivas. La hiperactividad es una característica frecuentemente descrita en el ratón TS en situaciones que provocan ansiedad como las pruebas de campo abierto y el laberinto elevado en cruz. Aunque esta hiperactividad podría ser considerada como una reducción de la ansiedad, a menudo ha sido interpretada como consecuencia de falta de inhibición conductual. Este trabajo analizó distintos componentes conductuales y bioquímicos de ansiedad y de pánico en machos y hembras TS. Para ello se evaluaron parámetros bioquímicos y respuestas conductuales a un predador en la batería de tests de defensa de ratón, un paradigma validado para analizar ansiedad y pánico en ratones cuando son confrontados con una amenaza natural como un predador: la rata. Se evaluó la huida, la valoración de riesgo, conductas de ataque/ amenaza defensivas, e intentos de escape durante y después de la confrontación con una rata. Las hembras TS presentaron mayores niveles de corticosterona y mostraron un incremento en las conductas defensivas que los machos, lo que indica mayores niveles de ansiedad. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de considerar el sexo como un factor importante en la evaluación conductual del ratón Ts65Dn.

P174. RESCUE OF AMPHETAMINE-INDUCED COGNITIVE DEFICITS AND IP3 LEVELS BY DOPAMINE D1 RECEPTOR BLOCKADE IN THE PREFRONTAL CORTEX OF NONHUMAN PRIMATE MODEL OF SCHIZOPHRENIA

F. JOSE CARBALLO^A, S. CASTNER^B

^A CENTRO DE INVESTIGACIONES MEDICOSANITARIAS. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTMENT OF PSYCHIATRY. YALE UNIVERSITY OF MEDICAL CENTER. NEW HAVEN, ESTADOS UNIDOS
FINANCIACIÓN: MICYT (BF12003-03464) Y PROGRAMA RAMÓN Y CAJAL

Although the behavioral and pharmacological consequences of amphetamine (AMPH) have been extensively interrogated in rodents, nonhuman primates and humans, understanding of the long-term consequences of repeated stimulant exposure on cognition and neural signaling, particularly in cortical areas, is limited. In addition to addictive, AMPH is long been known to induce psychotic reactions such as loss in working memory in normal individuals and exacerbate these symptoms in patients with schizophrenia. With the use of AMPH-sensitized nonhuman primate model of cognitive dysfunction relevant to both schizophrenia and substance abuse, we found that spatial working memory impairments induced by AMPH sensitization were associated with a reduction in inositol triphosphate (IP3) signaling in prefrontal cortex. Following chronic treatment with the selective D1 antagonist, SCH-39166, spatial working memory performance and IP3 signaling were restored coincident with a marked up-regulation of dopamine D1 receptors. We posit that these effects are manifestations of D1-mediated regulation of excitatory transmission in local cortical networks. These findings link IP3 signaling to cognitive performance and to the D1 receptor in the cerebral cortex of a primate model of human cognition. It is concluded that regulation of IP3 signaling in prefrontal cortex is an important biological correlate of cognitive impairment and recovery.

P175. EL INTERVALO INTERESTIMULAR EN EL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO: EFECTOS SOBRE EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO

C. MEDIAVILLA GARCÍA^A, A. BERNAL BENÍTEZ^B, A. PUERTO SALGADO^C

^A DEPARTAMENTO PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL Y FISIOLÓGÍA DEL COMPORTAMIENTO. ^C DEPARTAMENTO PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL Y FISIOLÓGÍA DEL COMPORTAMIENTO. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA. ^B DEPARTAMENTO DE PSICOLOGÍA. ÁREA DE PSICOBIOLÓGÍA. FACULTAD DE HUMANIDADES. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN, ESPAÑA

El aprendizaje aversivo gustativo (AAG) se manifiesta en la tendencia a rechazar estímulos gusto-olfatorios asociados a malestar visceral. Este aprendizaje puede ser inducido a través de modelos concurrentes o secuenciales que implican procedimientos diferentes, sobre todo en el intervalo interestimular utilizado. Con el objetivo de destacar la relevancia de esta característica procedimental, se han examinado en el Núcleo del Tracto Solitario (NTS) los correlatos neurales del aprendizaje en contigüidad y en demora estimular utilizando 20 ratas Wistar que fueron distribuidas entre los grupos experimental y control en ambas modalidades de aprendizaje. Durante el proceso de aprendizaje, la ingesta del estímulo gustativo era asociada con la administración intragástrica de CINA hipertónico (Grupos Experimentales) o suero fisiológico (Grupos Controles). Una vez establecido el aprendizaje, en una sesión posterior se ofrece a todos los animales el estímulo gustativo y, transcurridas dos horas, son sacrificados y sus cerebros extraídos para el procesamiento inmunohistológico de c-Fos. Los datos comportamentales muestran que los grupos experimentales reducen significativamente la ingesta del estímulo gustativo a lo largo de las sesiones sin que se observen diferencias entre ambos grupos. Sin embargo, el examen de la inmunorreactividad a Fos demuestra diferencias significativas en el NTS, que aparece densamente marcado sólo en el grupo experimental con contigüidad estimular. Este estudio permite disociar, ahora mediante técnicas de registro de la actividad cerebral, entre las bases neuroanatómicas de las distintas modalidades de AAG, apoyando la existencia de diferentes sistemas neurobiológicos para aprender y recordar.

P176. LA DIETA DE AYUNO INTERMITENTE POTENCIA EL APRENDIZAJE A TRAVÉS DE MECANISMOS DEPENDIENTES DE LA SUBUNIDAD 2B DEL RECEPTOR DE NMDA

A. FONTÁN LOZANO, M. DE LOS SANTOS-ARTEAGA, J.L. SÁEZ-CASSANELLI, SA. SIERRA-DOMÍNGUEZ, MC. INDA, J.M. DELGADO-GARCÍA, AM. CARRIÓN-RODRÍGUEZ

DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

La dieta de ayuno intermitente (DAI) produce un incremento en la esperanza de vida de diferentes especies de animales usados en la investigación biomédica. Además, la DAI reduce significativamente la incidencia de enfermedades provocadas por el envejecimiento como son el cáncer, las enfermedades cardio-

17.09.05

vasculares, las deficiencias en el sistema inmune así como las enfermedades neurodegenerativas. Estos efectos beneficiosos parecen ser el resultado de una respuesta neuroendocrina, que incluyen el aumento de BDNF y el IGF-1. En nuestro estudio, ratones de entre 9-12 meses de edad sometidos a DAI muestran una facilitación en el aprendizaje de nuevas tareas cuando se les compara con sus controles con dieta ad libitum (AL). Para profundizar en las bases celulares y moleculares de este efecto de la DAI, se analizó la expresión de las distintas subunidades del receptor de NMDA en distintas áreas cerebrales de animales sometidos a DAI o AL. Por RT-PCR e inmunohistoquímica, se detectó un aumento de la expresión de la subunidad 2B del NMDA-R (NR2B) en hipocampus, concretamente en la capa CA1, de animales sometidos a DAI con respecto a los animales controles. Además, la inhibición selectiva de la subunidad NR2B, con Ro25-6981, restaura la mejora del aprendizaje de los animales sometidos a DAI, volviéndola similar a la de los animales controles. Estos resultados muestran que la DAI retrasa la pérdida de las funciones cognitivas que produce el envejecimiento en ratones a través del aumento de la subunidad NR2B.

P177. PAPEL DEL RECEPTOR D1 EN EL APRENDIZAJE ESPACIAL Y EN LA POTENCIACIÓN SINÁPTICA DURADERA

N. GRANADO MARTÍNEZ^A, Ó. ORTIZ SÁNCHEZ^A, I. RODRÍGUEZ MARTÍN^A, L. M. SUÁREZ GONZÁLEZ^B, J. M. SOLÍS TORRALBA^B, R. MORATALLA VILLALBA^A

^A PLASTICIDAD NEURAL. INSTITUTO CAJAL, CSIC. MADRID. ^B NEUROBIOLOGÍA- INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL, MADRID, ESPAÑA

La dopamina es un neurotransmisor que se une a cinco tipos de receptores dopaminérgicos, divididos farmacológicamente en dos grandes familias, la familia D1 (D1 y D5) y la D2 (D2, D3 y D4). La dopamina juega un papel importante en procesos de aprendizaje y memoria, sin embargo, se desconoce el papel que juega cada uno de estos receptores en los distintos aspectos del aprendizaje y la memoria, así como los mecanismos moleculares que subyacen al proceso cognitivo. Para estudiar el papel del receptor dopaminérgico D1 en la memoria y en el aprendizaje espacial, utilizamos el laberinto acuático de Morris y la potenciación sináptica duradera (LTP) sobre rodajas de hipocampo en animales genéticamente modificados para la inactivación del receptor D1 (D1-KO) en comparación con animales salvajes de la misma camada (WT). Los animales D1-KO presentan déficit en el aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris que no aparece en los ratones salvajes. En la región CA1 del hipocampo, los D1-KO no muestran alteraciones en la transmisión sináptica basal ni en el fenómeno de facilitación sináptica inducida mediante pares de pulsos homosinápticos. Sin embargo, la magnitud de las fases temprana y tardía de la LTP en los animales D1-KO es inferior a la obtenida en los individuos WT. Nuestros resultados indican que el receptor D1 es crítico para el aprendizaje y la consolidación de la memoria espacial y para la plasticidad neural involucrada en el mantenimiento de la actividad sináptica a largo plazo.

P178. LA INTERFERENCIA SENSORIAL DE LAS NEURONAS DE LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL PRIMARIA DE LA RATA ES MODULADA COLINÉRGICAMENTE DESDE EL PROSENCÉFALO BASAL

A. ALENDA, A. NÚÑEZ MOLINA

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y NEUROCIENCIA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MICYT (BFU2003-00809)

Para estudiar los mecanismos básicos de la interacción sensorial en la corteza cerebral, se realizaron 249 registros extracelulares en la corteza somatosensorial primaria (SI) en ratas anestesiadas con pentobarbital. Se utilizaron estímulos táctiles en su campo receptivo (situado en la pata trasera) usando un émbolo accionado mecánicamente (estímulo test). La respuesta de las neuronas de SI al estímulo test disminuyó al aplicar simultáneamente otro estímulo táctil fuera del campo receptivo, tanto en el miembro ipsilateral como en el contralateral ('distracción' ipsi y contralateral). La disminución de la respuesta neuronal bajo estas condiciones fue denominada 'interferencia sensorial'. La interferencia sensorial se observó en el 66% y en el 61% de las neuronas registradas (distracción ipsilateral y contralateral respectivamente). Tras seccionar el cuerpo calloso, el 59% de las neuronas mostró distracción contralateral, sugiriendo que las conexiones corticocorticales no son cruciales para generar interferencia sensorial. Se inyectó bilateralmente IgG-saporina (0,25 mg/mL; 1 mL) en el prosencéfalo basal para lesionar específicamente las neuronas colinérgicas que proyectan a la corteza cerebral. En estos animales sólo se observó distracción ipsilateral en el 51% de las neuronas y distracción contralateral en el 32% de las neuronas, indicando que las aferentes colinérgicas desde el prosencéfalo basal están implicadas en la generación de la interferencia sensorial. Nuestros resultados

indican que la interferencia sensorial en SI tiene una influencia colinérgica, que quizás se pueda extrapolar a procesos atencionales puesto que se aumenta la eficacia del procesamiento sensorial.

MOTIVACIÓN Y EMOCIÓN

P179. COMUNICACIÓN INTRAESPECÍFICA EN HEMBRAS DE RATÓN: PROPIEDADES REFORZANTES DE LAS FEROMONAS SEXUALES

J. MARTÍNEZ RICÓS^A, M. AGUSTÍN PAVÓN^B, E. LANUZA NAVARRO^C, F. MARTÍNEZ GARCÍA^D

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA FUNCIONAL Y ANTROPOLOGÍA FÍSICA. FACULTAD DE BIOLOGÍA. UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT (VALÈNCIA). ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA FUNCIONAL Y ANTROPOLOGÍA FÍSICA. FACULTAD DE BIOLOGÍA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT (VALÈNCIA). ^C DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR. ^D DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA FUNCIONAL Y ANTROPOLOGÍA FÍSICA. FACULTAD DE BIOLOGÍA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT. VALENCIA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MEC/FONDOS FEDER (BFU2004-04272/BFI)

Los roedores reconocen género y estatus social de sus conespecíficos mediante estímulos químicos. Cuando pueden escoger entre viruta limpia y viruta previamente utilizada por conespecíficos (hembras de su camada, hembras de diferente camada, machos o machos castrados), las hembras de ratón exploran más intensamente ésta última (Experimento 1). Este comportamiento podría estar indicando propiedades reforzantes de las feromonas allí contenidas, sobretodo de las sexuales, pues las hembras exploran más intensamente la viruta de macho que la de hembra cuando pueden elegir entre ambas en un mismo test. Comprobamos esta hipótesis mediante el paradigma de *place preference* (Experimento 2), empleando tres grupos de hembras que tenían acceso a dos recipientes: viruta limpia en un lado de la caja experimental y en el otro viruta de hembra, de macho o de macho castrado, respectivamente. Después del test control (viruta limpia en ambos recipientes, C/C), las hembras fueron expuestas a viruta con feromonas (cuatro exposiciones). Posteriormente, testamos la preferencia por el lugar dónde las feromonas habían sido localizadas, mediante otro test C/C (test de *place preference*). Analizamos la extinción de este aprendizaje los días siguientes (Experimento 3). Los análisis estadísticos demostraron que las feromonas de macho son atractivas e inducen *place preference*. Dicho aprendizaje se extingue rápidamente. Sin embargo, ni las feromonas de hembra (muy atractivas) ni las de macho castrado lo generan. La intensa exploración de la viruta de hembra se trataría de un comportamiento de *countermarking* que como otros comportamientos agonísticos no parece reforzante.

P180. ¿LA ATRACCIÓN INNATA DE LAS FEROMONAS SEXUALES DEPENDE DE LA DOPAMINA? EFECTO DE LESIONES DEL ÁREA VENTRAL TEGMENTAL

J. MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ^A, E. LANUZA NAVARRO^B, F. MARTÍNEZ-GARCÍA^A

^A DEPT. BIOLOGIA FUNCIONAL. ^B DEPT. BIOLOGIA CELULAR. UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT. VALENCIA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC Y FEDER (BFU2004-04272)

Dado que las feromonas sexuales son estímulos reforzantes, nos planteamos si su valor atractivo, como el de otros estímulos apetitivos, depende de la vía dopaminérgica tegmento-estriatal, clásicamente asociada con el refuerzo. Para ello utilizamos hembras de ratón sin experiencia con estímulos químicos de machos adultos, que sometimos a inyecciones de 6-OHDA, neurotóxico exclusivo para neuronas dopaminérgicas, en el área ventral tegmental (grupo lesionado: $n = 16$) o a inyecciones de vehículo (grupo control: $n = 8$). Los animales fueron sometidos a tests de movilidad, de preferencia de feromonas y de preferencia de sacarosa. Los animales con deficiencias motoras fueron eliminados. Como esperábamos, el grupo control mostró preferencia por ambos estímulos reforzantes. Por el contrario, el grupo lesionado mostró una clara reducción de la preferencia por sacarosa ($F_{1,12} = 5,93; p < 0,05$), mientras que la preferencia por feromonas de macho fue similar a la del grupo control ($F_{1,12} = 0,36; p > 0,5$). Así pues la atracción innata por feromonas sexuales no depende del sistema dopaminérgico tegmento-estriatal, mientras la preferencia por sacarosa sí parece dopamina-dependiente. Esto puede indicar que diferentes estímulos (gustativo/vomeronasal) usan diferentes sistemas neurales del refuerzo. Alternativamente, nuestros resultados indicarían un papel de la dopamina en la asociación refuerzo-estímulos relacionados, que se daría en el test de preferencia de sacarosa (48 horas durante las que el animal aprende a asociar el sabor dulce con la botella que lo contiene) y no en el de feromonas (test de 5 minutos).

P181. SUSTRATO ANATÓMICO DEL CONTROL AMIGDALINO DE LAS RESPUESTAS DE MIEDO/ANSIEDAD Y REFUERZO/ATRACCIÓNA. NOVEJARQUE GADEA^A, E. LANUZA NAVARRO^B, F. MARTÍNEZ GARCÍA^C^ADPT. BIOLOGIA FUNCIONAL I ANTRPOLOGIA FÍSICA. FACULTAD DE CC. BIOLÒGICQUES / UNIVERSIDAD DE VALÈNCIA. BURJASSOT. VALÈNCIA. ^BDPT. BIOLOGIA CEL·LULAR. ^CDPT. BIOLOGIA FUNCIONAL I ANTRPOLOGIA FÍSICA. FACULTAD DE CC. BIOLÒGICQUES / UNIVERSIDAD VALÈNCIA. BURJASSOT. VALENCIA, ESPAÑA

La amígdala modula, entre otras, dos tipos de respuestas antagonicas: la expresión de miedo/ansiedad, mediante sus proyecciones sobre la amígdala central extendida (CEA) y el refuerzo/atracción, mediante sus proyecciones sobre el núcleo *accumbens* (Acb). Para estudiar la base anatómica de estas respuestas trazamos retrógrada y anterógradamente las proyecciones amigdalinas a la CEA (amígdala central, Ce; núcleo de la stria terminalis, BST) y el Acb. Los resultados revelaron que el núcleo basal (B), basal accesorio (AB) y (en menor medida) la transición amigdalohipocámpica (AHA) proyectan masivamente al continuo CEA-Acb. Por el contrario, el núcleo lateral, área anterior amigdalina, córtex amigdalino y la transición amigdalopiriforme proyectan a la CEA y, en menor medida, al Acb. La transición corticoamigdalina y la amígdala medial proyectan solamente a la CEA. Además el BST presenta conexiones recíprocas con el Acb y la Ce (no conectados entre sí). Así pues, los centros amigdalinos que controlan ambas respuestas emocionales (mediante sus proyecciones a los dos polos antagonicos del estriado ventral, CEA-Acb) están segregados, aunque el BST podría coordinar ambos sistemas funcionales. Todas las estructuras amigdalinas podrían dar lugar a respuestas de miedo/ansiedad, pero sólo algunas (B/AB/AHA y BST) podrían mediar respuestas de refuerzo/atracción. Los estímulos con valor biológico innato pueden generar respuestas de miedo/ansiedad o refuerzo/atracción a través de proyecciones sobre el continuo CEA-Acb. Además, vías indirectas a la amígdala basolateral permiten asociar estos estímulos con cualquier otro, generando así respuestas condicionadas (aprendidas) mediante las proyecciones de la amígdala basolateral al continuo CEA-Acb. Financiado por el MEC/FEDER (BFU2004-04272/BFI).

NEUROETOLOGÍA

P182. DIMORFISMO SEXUAL EN EL TAMAÑO DEL CEREBRO Y DE LOS BULBOS OLFATIVOS DE LA LAGARTIJA IBÉRICA (*PODARCIS HISPANICA*)C. SAMPEDRO SIGALAT^A, E. FONT BISIER^B, E. DESFILIS BARCELÓ^B, J. M. GARCÍA VERDUGO^B^AINST. CAVANILLES BIODIVERS. YBIOL. EVOL. (UNIVERSIDAD VALENCIA). PATERNA (VALENCIA). ^B-. INSTITUTO CAVANILLES BBE. PATERNA (VALENCIA), ESPAÑA

Los reptiles han sido utilizados como modelos para el estudio del dimorfismo sexual. Por regla general, los machos tienen cuerpos de mayores dimensiones que las hembras, coloraciones más vistosas y cabezas más grandes. Sin embargo, a diferencia de otros grupos de vertebrados, se conoce poco sobre la existencia de dimorfismo sexual en el cerebro de los reptiles. En este trabajo estudiamos el dimorfismo sexual en el tamaño del cerebro y de los bulbos olfativos en la lagartija ibérica *Podarcis hispanica*. Capturamos 50 machos y 50 hembras en los que tomamos distintas medidas de las dimensiones del cerebro y de los bulbos olfativos. Dado que el tamaño del cerebro aumenta con el tamaño corporal y el tamaño de la cabeza, tuvimos en cuenta estos parámetros en las comparaciones entre sexos (ANCOVA). Nuestros resultados indican que los machos poseen cerebros y bulbos olfativos más grandes que los de hembras del mismo tamaño corporal; sin embargo, estas diferencias no se observan si comparamos ejemplares con cabezas del mismo tamaño. Estos resultados nos conducen a dos explicaciones posibles: i) el dimorfismo sexual en el tamaño del cerebro y los bulbos olfativos es consecuencia de un efecto de escala morfogenético ligado al dimorfismo sexual en el tamaño de la cabeza; ii) existen presiones de selección divergentes que conducen a un dimorfismo sexual en el tamaño del cerebro y de los bulbos olfativos, el cual determinaría las diferencias en el tamaño de la cabeza.

AGRESIÓN

P183. BEHAVIOURAL PROFILE OF CL 218872 IN AGONISTIC ENCOUNTERS BETWEEN MALE MICE

E. BURON, L. ARANDA, M. MARTÍN Y J.F. NAVARRO

DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA Y METODOLOGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

Objective. GABA-A receptor is a transmembrane hetero-oligomeric protein which consists of five subunits, the combination of which confers unique pharmacological properties to the receptor. It is well-known that the GABAergic system is involved in the modulation of aggression. Recent studies have suggested a possible implication of alpha5 and alpha1/GABA-A receptors in the regulation of aggressive behaviour [1,2]. In this study, we examined the effect of CL 218872 (1.25, 2.5, 3.75 and 5 mg/kg, ip), a benzodiazepine partial agonist displaying selectivity for alpha1 subunit-containing GABA-A receptors, on agonistic behaviour elicited by isolation in male mice. **Methodology.** Animals were randomly allocated to one vehicle group receiving physiological saline (90%) plus DMSO (10%) and four experimental groups receiving CL 218872. Ten min of diadic interactions were staged between a singly housed and an anomic mouse in a neutral area. These encounters were videotaped, allowing us to estimate the accumulated time which subjects allocated to ten broad behavioural categories. Besides other behaviours, the aggressive (threat and attack) and motor behaviours were evaluated 30 min after injection using an ethologically based analysis. As statistical analysis, nonparametric Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests were used. **Results and conclusion.** CL 218872 (3.75 and 5 mg/kg) produced a significant increase of threat behaviours, as compared with the control group ($p < 0.05$). These findings indicate that alpha1/GABA-A receptors may be involved in the modulation of aggression. [1] Martín M, Navarro JF, Aggr Behav 2002; 28: 416-25. [2] Navarro JF, Buron E, Martín M, Aggr Behav 2004; 30:319-25.

FARMACOLOGÍA DE LA CONDUCTA

P184. EXPRESIÓN DE cFOS EN EL ESTRIADO TRAS LA ESTIMULACIÓN QUÍMICA DEL HIPOCAMPO VENTRAL DE LA RATA: PAPEL DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS DEL HIPOCAMPOT. ZORNOCHA SABINA^A, M. J. CANO CEBRIÁN^A, F. MARTÍNEZ GARCÍA^B, A. POLACHE VENGUT^C, L. GRANERO MACIÁ^A^ADEP. FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. ^BBIOLOGÍA FUNCIONAL Y ANTRPOLOGÍA FÍSICA. UNIVERSIDAD DE VALENCIA. BURJASSOT. ^CDEP. FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. UNIVERSITAT DE VALENCIA. BURJASSOT. VALENCIA, ESPAÑA

Trabajos recientes indican que los receptores dopaminérgicos ubicados en el hipocampo ventral (VH) pueden modular las respuestas neuroquímicas y comportamentales inducidas por la estimulación química (mediante el empleo de n-metil-D-aspartato (NMDA)) del VH en la rata. En el presente trabajo se analiza, mediante técnicas inmunohistoquímicas, la capacidad moduladora de los receptores D1/D5 y D2 ubicados en VH sobre la expresión inducida por el NMDA de la proteína cFos en tres regiones diferentes del estriado: núcleo *accumbens* (NAc) en las subregiones *shell* (NAcs) y *core* (NAcc), así como en la zona dorsal del estriado (CPu) de la rata. El NMDA (50 mM) se administró mediante retrodiálisis en VH en ausencia o en presencia de SCH 23390 (100 uM o 250 uM) o de raclopride (100 uM o 250 uM). El NMDA indujo un incremento robusto y significativo (25-30 veces) en la expresión de cFos en NAcs tanto en el hemisferio ipsilateral a la estimulación, como en el contralateral. Los incrementos detectados en NAcc y CPu (en torno a 5 veces) no fueron significativos. La co-perfusión de SCH 23390 (ambas concentraciones) redujo prácticamente a la mitad (entre 40-60%) la expresión de cFos en NAcs. El raclopride, sin embargo, fue incapaz de atenuar su expresión. Nuestros resultados confirman que los receptores D1 ejercen una acción potenciadora tónica a nivel de los receptores NMDA del VH; su bloqueo mediante antagonistas selectivos es capaz de modular las respuestas biológicas, neuroquímicas y comportamentales derivadas de la estimulación de los receptores NMDA del VH.

P185. EL BLOQUEO SELECTIVO DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS PRODUCE DESCENSOS INTRA-SESIÓN EN LA AUTOESTIMULACIÓN DE LA CORTEZA PREFRONTAL

R. MONTES RAMÍREZ^A, E.H. CHAATOUF^B, I. TOVAR MARTÍN^B, J.M. GARCÍA LEIVA^C, J.M. RODRÍGUEZ FERRER^A

^AINSTITUTO DENEUROCIENCIAS Y DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. ^BDEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. ^CINSTITUTO DENEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA, ESPAÑA

La administración aguda de antipsicóticos con potente acción antagonista sobre los receptores dopaminérgicos D2 o D1/D2, induce de forma característica descensos intra-sesión en conductas operantes, incluida la autoestimulación (ICS) obtenida en la corteza prefrontal medial (CPFm). Con el objeto de dilucidar la participación de estos receptores dopaminérgicos en el efecto intra-sesión producido por los antipsicóticos en esta conducta, se estudió el patrón temporal de la ICS en la CPFm tras la administración sistémica de SCH 23390 y de sulpiride, antagonistas selectivos de los receptores D1 y D2, respectivamente. Se implantaron electrodos monopolares en la CPFm de ratas Wistar. Tras finalizar el proceso de aprendizaje, se llevaron a cabo sesiones experimentales de 15 min, donde se midió la tasa de autoestimulación en 5 periodos consecutivos de 3 min. Todas las dosis de SCH 23390 estudiadas (0,02, 0,04, 0,08 y 0,16 mg/kg i.p.) produjeron descensos intra-sesión significativos, así como las dos dosis mayores de sulpiride (50 y 75 mg/kg i.p.). Estos resultados muestran por primera vez que el bloqueo selectivo de receptores dopaminérgicos D1 o D2 produce descensos intra-sesión en la ICS de la CPFm y que ambos subtipos de receptores dopaminérgicos están implicados en dicho efecto. Por otra parte, los presentes resultados sugieren que los descensos intra-sesión en la ICS de la CPFm descritos previamente con fármacos antipsicóticos, pueden deberse, al menos en parte, a su capacidad de antagonismo de los receptores dopaminérgicos D1 y/o D2.

P186. IMPLICACIÓN DEL RECEPTOR DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO LPA1. EN LA INDUCCIÓN DEL DOLOR

C. PEDRAZA BENÍTEZ^A, L. SANTÍN^B, I. DEL ARCO^C, J. CHUN^D, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA^C, G. ESTIVILL TORRÚS^C

^ADEPT. DE PSICOBIOLÓGIA Y METODOLÓGIA DE CC. ^BDEPT. DE PSICOBIOLÓGIA Y METODOLÓGIA DE LAS CC. FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^CUNIDAD DE INVESTIGACIÓN, FUNDACIÓN IMABIS, MÁLAGA, ESPAÑA. ^DDEPT. MOLECULAR BIOLOGY. THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE. LA JOLLA, ESTADOS UNIDOS

El ácido lisofosfatídico (LPA) es un fosfolípido de señalización a través de receptores específicos (LPA1-3) unidos a proteínas-G. La delección del receptor LPA1 ha demostrado su implicación en el crecimiento cerebral. Aunque se conoce poco sobre su papel en neurotransmisión, se ha sugerido que puede estar mediatizando la nocicepción inducida por el LPA. Hemos analizado la función del receptor LPA1 en la nocicepción mediante a) la valoración del umbral de dolor mediante el test de la placa caliente (*hot plate*) y un test neurológico de la somestesia, en animales *knockout* carentes del receptor LPA1; y b) el efecto de la administración icv de LPA en la expresión c-fos de la región dorsal de sustancia gris periacueductal, componente importante de la vía descendente inhibitoria del dolor. Para ello se ha utilizado ratas macho Wistar, distribuidas en tres grupos experimentales: control, vehículo y LPA 18:1 (2 µg/5 µL/5 min). Los resultados ponen de manifiesto la existencia de un aumento de analgesia en los animales *knockout* para LPA1 en el test de la placa caliente y en conducta de somestesia ($p < 0,05$). Por otro lado, la administración icv de LPA induce un aumento en la expresión de c-fos en la sustancia gris periacueductal. Estos resultados parecen indicar que la vía de señalización mediada por el receptor LPA1 estaría implicado en la inducción dolor, lo que podría constituir un blanco terapéutico para la modulación de la nocicepción.

P187. EFFECT OF ZOLPIDEM ON ANXIETY OF ISOLATED AND GROUP-HOUSED MALE MICE IN THE ELEVATED PLUS-MAZE TEST

E. BURON, L. ARANDA, M. MARTÍN Y J.F. NAVARRO
DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLÓGIA Y METODOLÓGIA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

Objective. It is well-known that GABAergic system is involved in the modulation of anxiety. Recent studies have suggested that housing conditions may modulate the anxiolytic/anxiogenic activity of different drugs. This study examined the effects of zolpidem (0.75, 1.25, 1.75 and 2.25 mg/kg, ip), a benzodiazepine agonist with high selectivity for alpha-1 subunit containing GABA-A receptors and very high intrinsic activity, administered to isolated (30 days) and group-

housed male mice on anxiety tested in the elevated plus-maze. *Methodology.* Animals were randomly allocated to one vehicle group receiving physiological saline and four experimental groups receiving zolpidem. A number of classical parameters were collected: (a) Open arm duration; (b) Closed arm duration; (c) Central platform duration; (d) Open arm frequency; (e) Closed arm frequency; and (f) Total number of entries in the arms. Likewise, different ethological measures were also obtained (rears, head-dipping [HD], stretched attend posture [SAP] and immobility). *Results.* Isolated mice treated with saline showed a significant decrease in the frequency and time spent in open arms as well as an increase in the number of SAP protected and time spent in closed arms, as compared with grouped mice ($p < 0.01$). Zolpidem-induced immobility was significantly greater in isolated vs grouped mice ($p < 0.001$). Drug also affected differentially classical and ethological parameters in isolated vs grouped mice. *Conclusions.* Isolation in mice is related with an increase of anxiety. Likewise, zolpidem produces different actions on anxiety in isolated and grouped mice, probably due to functional changes in alpha1/GABA-A receptors induced by isolation.

P188. EFECTO DE AGONISTAS Y ANTAGONISTAS DE LA DOPAMINA EN LA ATRACCIÓN INNATA DE LAS HEMBRAS DE RATÓN POR FEROMONAS DE MACHO

M. C. AGUSTÍN NAVÓN^A, J. MARTÍNEZ RÍCOS^B, F. MARTÍNEZ GARCÍA^C, E. LANUZA NAVARRO^D

^ADEPT. BIOLOGIA CEL-LULAR. FACULTAT BIOLOGIA. ^DDEPT. BIOLOGIA CEL-LULAR, FACULTAT BIOLOGIA. UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT (VALENCIA). ^BDEPT. BIOLOGIA FUNCIONAL, FACULTAT BIOLOGIA. UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT (VALENCIA). ^CDEPT. BIOLOGIA FUNCIONAL, FACULTAT BIOLOGIA. UNIVERSITAT DE VALÈNCIA. BURJASSOT (VALENCIA), ESPAÑA

Las hembras de ratón sin experiencia previa con señales químicas derivadas de machos adultos exploran intensamente la viruta usada por machos, y la prefieren frente a la de hembras. De hecho, las feromonas de macho constituyen un estímulo reforzante para ellas (Martínez-Ricos et al, FENS Abstr 2004; 2: A152.19). El objetivo del presente trabajo es caracterizar la base neuroquímica de este comportamiento. Dado el conocido papel de la dopamina en el refuerzo (específicamente en el núcleo *accumbens*), hemos investigado la función de la transmisión dopaminérgica en el refuerzo mediado por feromonas de macho. Para ello, analizamos el efecto de inyecciones intraperitoneales de agonistas genéricos de la dopamina (D-anfetamina: 0,5 y 2 mg/kg) y de antagonistas de los receptores D1 (SCH 23390, 0,02 mg/kg) y D2 (sulpiride, 20 mg/kg) en la preferencia por feromonas de macho. Sorprendentemente, los antagonistas no disminuyeron la preferencia por la viruta de macho. De hecho, el sulpiride aumentó significativamente el tiempo de exploración de esta viruta. Por el contrario, la administración de las dos dosis de anfetamina eliminó esta preferencia. Un test de habituación-deshabitación a olores reveló que la dosis alta de anfetamina disminuía la sensibilidad olfativa, no así la dosis baja. Los datos histológicos sugieren que este efecto se da en el bulbo olfativo. En conclusión, los resultados sugieren que la activación de receptores D2 reduce el refuerzo mediado por feromonas. Además, la anfetamina podría disminuir la sensibilidad del sistema vomeronasal, aunque nuestros datos histológicos no refuerzan esta hipótesis. Financiado por fondos MEC-FEDER (BFU2004-04272/BFI).

P189. CORTEZA PREFRONTAL Y EFECTOS INTRA-SESIÓN DE LOS ANTIPSICÓTICOS

J.M. RODRÍGUEZ FERRER, E.H. CHAATOUF, R. MONTES RAMÍREZ
INSTITUTO DENEUROCIENCIAS Y DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA, ESPAÑA

En estudios previos hemos mostrado que la administración sistémica de haloperidol y de diversos antipsicóticos atípicos, como la risperidona, la olanzapina y el sertindol, producen descensos intra-sesión en la conducta de autoestimulación (ICS) obtenida en la corteza prefrontal medial (CPFm) de la rata. Estos descensos intrasesión (DIS) se caracterizan por una inhibición progresiva de la tasa de autoestimulación durante la sesión experimental, y parecen estar mediados por la actividad antagonista dopaminérgica de dichos fármacos, ya que la administración intraperitoneal de antagonistas selectivos de los receptores dopaminérgicos D1 (SCH 23390) o D2 (sulpiride) producen efectos similares a los antipsicóticos en la ICS de la CPFm. Con el objeto de investigar la implicación de la CPFm en la inducción de DIS por antipsicóticos y/o antagonistas dopaminérgicos administrados periféricamente, se estudiaron los efectos sobre la ICS de la CPFm de la inyección (1 µl) en esta área cortical de haloperidol (5,10 µg), risperidona (4,8 µg) y SCH 23390 (1,875, 5 µg). Los resultados muestran que: 1) la administración local de haloperidol y SCH 23390, pero no de risperidona, produce una inhibición dosis-dependiente

17.09.05

de la tasa de ICS y 2) que sólo el SCH 23390 induce DIS. Estos resultados demuestran por primera vez que la CPFm participa directamente en la producción de DIS, a través del antagonismo de los receptores D1 dopaminérgicos y que los efectos tras la administración periférica del haloperidol y risperidona sobre la ICS de la CPFm no se deben a una acción directa sobre esta área cortical.

P190. BENEFICIOS DEL DONEPECILO EN LA AFASIA TRAS ICTUS: ESTUDIO DOBLE-CIEGO, ALEATORIZADO, PARALELO Y CONTROLADO CON PLACEBO

M. L. BERTHIER^A, J. HINOJOSA^B, M. D. C. MARTÍN^C, I. FERNÁNDEZ^C, C. GREEN^D, C. HIGUERAS^D

^ANEUROLOGÍA COGNITIVA. CENTRO DE INVESTIGACIONES SANITARIAS (CIMES) UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^BHOSPITAL MARÍTIMO DE TORREMOLINOS. SERVICIO ANDALUZ DE SALUD. MÁLAGA. ^CCENTRO DE REHABILITACIÓN DEL LENGUAJE. CIMPER. MÁLAGA. ^DNEUROLOGÍA COGNITIVA. CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO-SANITARIAS (CIMES), UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

Un estudio abierto ha demostrado que el donepecilo (DP) es eficaz y seguro en el tratamiento de la afasia tras ictus y que los beneficios se mantienen a largo plazo (Berthier ML, *Drugs Aging* 2005; 22: 163-182). Sin embargo, estos hallazgos son preliminares y requieren ser replicados en ensayos controlados con placebo. Se presentan los resultados de un estudio de 20 semanas doble-ciego, aleatorizado, paralelo y controlado con placebo de DP en las afasia crónica tras ictus. Se incluyeron 26 pacientes con afasia crónica (> de 1 año de evolución) tras ictus. Las variables primarias de eficacia fueron el cambio de la media en el Cociente de Afasia (CA) de la Western Aphasia Battery y en el Communicative Activity Log (CAL). Trece pacientes recibieron placebo (Grupo PL) y 13 pacientes DP (grupo DP). No hubo diferencias significativas basales entre los grupos en los datos demográficos, CA y CAL. Ambos grupos mejoraron de forma significativa (visita 1 vs. visitas 2 [DP o PL, 5 mg/día] y 3 [DP o PL, 10 mg/día]) ($p < 0,0001$) en el CA aunque la mejoría fue más evidente en el grupo DP ($p = 0,02$). En el CAL el grupo DP mostró una mejoría significativa al comparar la visita 2 (DP: 5 mg/día) con la visita 3 (DP: 10 mg/día) ($p = 0,007$), mientras que el grupo PL mostró dicha mejoría al comparar la visita 2 (PL: 5 mg/día) con la visita 4 (lavado) ($p = 0,02$). Nuestros hallazgos demuestran que el DP es eficaz en el tratamiento de la afasia tras ictus.

P191. ALTERACIONES ESPECÍFICAS DEL METABOLISMO OXIDATIVO CEREBRAL INDUCIDAS POR FÁRMACOS ANSIOLÍTICOS E HIPNÓTICOS

H. GONZÁLEZ PARDO, N. CONEJO JIMÉNEZ, J. L. ARIAS PÉREZ
LABORATORIO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE OVIEDO. OVIEDO, ESPAÑA

Para conocer los efectos sobre la actividad cerebral de psicofármacos ansiolíticos e hipnóticos de uso habitual, empleamos la histoquímica del enzima citocromo c oxidasa (CO) como un índice de la actividad metabólica neuronal. Se formaron cuatro grupos de ocho ratas macho cada uno, que recibieron respectivamente una sola inyección intraperitoneal de diazepam (5 mg/kg), alprazolam (0,5 mg/kg), zolpidem (2 mg/kg) y vehículo (tween-80 al 10% en solución salina). Seis horas después, los animales fueron decapitados y sus encéfalos extraídos, congelados y almacenados a -80 °C. En secciones obtenidas mediante un criostato, se realizó la tinción histoquímica para la CO siguiendo el método de Wong-Riley (1979). Posteriormente, se cuantificó la intensidad de tinción por densitometría óptica en distintas regiones cerebrales mediante un sistema de análisis de imagen (Leica Q-550). Los resultados indican una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de la actividad CO en los grupos tratados frente al grupo que recibió el vehículo en la mayoría de las regiones límbicas analizadas (cuerpos mamilares, tálamo anterior, hipocampo y amígdala). El grupo que recibió zolpidem mostró las mayores disminuciones de actividad CO en todas las regiones. Sin embargo, las ratas tratadas con alprazolam mostraron una activación de la corteza prefrontal, probablemente relacionada con el efecto activador o antidepressivo de esta benzodiazepina. Por tanto, esta técnica puede ser útil no sólo para detectar el lugar de acción de los psicofármacos en el cerebro, sino también para discriminar los efectos conductuales de éstos.

P192. MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN LA PREVENCIÓN POR UN ANTAGONISTA 5-HT1A DE LOS DÉFICIT DE APRENDIZAJE INDUCIDOS POR BLOQUEO DE RECEPTORES AMPA EN DOS MODELOS ANIMALES

A. M. SIMÓN, L. SCHIAPPARELLI, J. DEL RÍO, D. FRECHILLA
DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS. CIMA, UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA, ESPAÑA

Los antagonistas de receptores serotoninérgicos 5-HT1A pueden prevenir déficit cognitivos inducidos por distintas manipulaciones farmacológicas o quirúrgicas. Puesto que estudios previos de este laboratorio han puesto de manifiesto que los antagonistas 5-HT1A aumentan la expresión de receptores AMPA en membranas de hipocampo, hemos analizado la capacidad del antagonista 5-HT1A selectivo WAY-100635 de prevenir déficit cognitivos en rata derivados del bloqueo de receptores AMPA, así como los mecanismos implicados. Utilizando los tests de reconocimiento de objetos y aprendizaje de evitación pasiva, se observó que la administración previa al entrenamiento del antagonista AMPA, NBQX (5-10 mg/kg), produjo un claro déficit 3-24 h más tarde en la retención del aprendizaje en ambos tests, y que el pretratamiento con WAY-100635 (0,5 mg/kg) previno el déficit cognitivo ocasionado. Tras la sesión de retención, los animales fueron sacrificados y se midieron los niveles de subunidades del receptor AMPA en extractos de membranas de hipocampo. El proceso de aprendizaje en los dos modelos considerados aumentó la actividad Ca²⁺-independiente de CaMKII, así como los niveles de las subunidades GluR2/3, GluR1 y de sus formas fosforiladas pGluR1 (Ser831) y pGluR1 (Ser845), no produciéndose este aumento en las ratas tratadas con NBQX antes del entrenamiento. Por otro lado, en las ratas tratadas con WAY-100635+NBQX se observaron incrementos asociados al aprendizaje en actividad CaMKII y subunidades AMPA similares a los del grupo control. Los datos obtenidos contribuyen a explicar los mecanismos determinantes de la capacidad de los antagonistas 5-HT1A para prevenir déficit cognitivos.

2. ALTERACIONES NEUROLÓGICAS Y PSIQUIÁTRICAS

ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

P193. BILATERAL DISTRIBUTION OF AMINOPEPTIDASE M IN STRIATUM OF NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE 6-HYDROXYDOPAMINE LESIONED RATS

I. BANEGAS FONT^A, I. PRIETO GÓMEZ^B, A. B. SEGARRA ROBLES^A, R. DURÁN^C, F. ALBA ARAGÜEZ^C, F. VIVES MONTERO^C, M. RAMÍREZ SÁNCHEZ^B

^AÁREA DE FISIOLÓGIA/DEPARTAMENTO C.C. DE LA SALUD/FACULTAD DE C.C. EXPERIMENTALES. ^BÁREA DE FISIOLÓGIA/DEPARTAMENTO C.C. DE LA SALUD/FACULTAD DE C.C. EXPERIMENTALES. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN. ^CINSTITUTO DE NEUROCIENCIAS FEDERICO OLORIZ. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA, ESPAÑA

Angiotensin peptides coexist in striatum where may participate in blood-pressure (BP) control. Ang III, generated from Ang II by means of aminopeptidase M (AP M), is the main effector's peptide in brain. The striatal function is asymmetrically organized. Changes in this pattern may suggest and/or lead to disorders in brain function. Parkinson's disease (PD) is characterized by degeneration of dopaminergic neurons in the nigrostriatal system. PD is also accompanied by cardiovascular disorders. To evaluate the bilateral response of APM in the ST of normotensive and hypertensive rats (SHR), we studied the effect of the administration of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) or saline into the left and right ST. APM was measured fluorimetrically, using an arylamide as substrate. Results demonstrated that in normotensive rats there was asymmetry, with left predominance, after injection of 6-OHDA or saline into the left or right ST. In contrast, in hypertensive rats there was asymmetry with right predominance after injection of 6-OHDA into the left and right ST and after saline administration into the left ST. Comparing lesioned and sham groups, there was an increase of APM in lesioned rats. Changes in the bilateral pattern of AP M in ST of normotensive or hypertensive rats may reflect changes in the distribution of their substrates and consequently, the functions they are involved in.

17.09.05

P194. EL CANNABINOIDE OLEILETANOLAMIDA (OEA) POSEE EFICACIA NEUROPROTECTORA EN UN MODELO RETRÓGRADO DE PARKINSONISMO ANIMAL

E. FERNÁNDEZ-ESPEJO^A, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA^B, S. RAMIRO^A, J. A. FLORES^C, B. GALÁN-RODRÍGUEZ^A

^ADEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA MÉDICA. ^CDEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA MÉDICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^BFUNDACIÓN IMABIS. HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA, ESPAÑA

Hay evidencias que indican que los cannabinoides endógenos como la oleiletanolamida (OEA) podrían actuar como neuroprotectores. De hecho la OEA se acumula a nivel cerebral tras isquemia o la administración de neurotoxinas. Este cannabinoide podría ser neuroprotector en modelos animales de parkinsonismo (PD). Se ha empleado el modelo retrógrado de PD por medio de la inyección intraestriatal de 6-OHDA, donde la sustancia negra degenera progresivamente. Las ratas se pretrataron con OEA (0, 0,5, 1 µM) inyectado en el estriado derecho y vehículo en el izquierdo, 30 min antes de 6-OHDA bilateral (5 µg/µL, 2 µL). La neurodegeneración y la apoptosis se evaluaron en ambos estriados y sustancias negras (SN) 48 h (corto plazo) y 30 días (largo plazo) tras la lesión. A corto plazo, la señal de hemoxigenasa-1 (marcador de estrés oxidativo) y de GFAP (marcador de activación glial) eran significativamente menores en el estriado pretratado con 1 µM OEA ($p < 0,05$). A largo plazo, la densidad TH+ en el estriado pretratado con 1 µM OEA era mayor que en el contralateral ($p < 0,05$). El porcentaje de muerte neuronal en la SN homolateral al estriado con OEA era 23,9%, y del 33,2% en la contralateral ($p < 0,05$). La densidad de fluorujade-B (marcador de apoptosis) en la SN homolateral a OEA era significativamente menor que en el otro lado ($p < 0,01$). La OEA parece tener capacidad neuroprotectora y antiapoptótica en un modelo de PD. Ayudas a EFE de PND, y a EFE y FRF de Junta de Andalucía y RED de trastornos adictivos (Instituto Carlos III).

P195. EXPRESIÓN ESTRIATAL DE GDNF Y VULNERABILIDAD DIFERENCIAL DE LAS NEURONAS DOPAMINÉRGICAS MESENFÁLICAS

I. CRUZ-MUROS^A, P. BARROSO-CHINEA^B, M. S. AYMERICH^C, D. AFONSO-ORAMAS^B, J. L. LANCIAGO^D, M. RODRÍGUEZ-DÍAZ^B, T. GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ^B

^ADEPARTAMENTO DE ANATOMÍA. FACULTAD DE MEDICINA. ^BDEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA. LALAGUNA, TENERIFE. ^CDEPARTAMENTO DE ANATOMÍA. UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA. LALAGUNA, TENERIFE. ^DDEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, CIMA. ^DDEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, CIMA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA, ESPAÑA

El factor neurotrófico derivado de una línea celular glial (GDNF) administrado exógenamente ejerce un potente efecto trófico sobre las neuronas dopaminérgicas (daérgicas). Sin embargo, desconocemos si el GDNF constitutivamente expresado en el cerebro adulto juega un papel neuroprotector. Utilizando técnicas morfológicas y moleculares, y un modelo de enfermedad de Parkinson en ratas, hemos observado que: 1) Aunque todas las neuronas daérgicas expresan ambos componentes del receptor de GDNF (GFRa1 y Ret), las localizadas en el área tegmental ventral (VTA) y la región dorsomedial de sustancia negra compacta (SNrm) también contienen GDNF pero no su mensajero. 2) Los niveles de GDNFmRNA son significativamente mayores en el estriado ventral (vSt), región diana de las neuronas de VTA y SNrm, que en el estriado dorsal (dSt), región diana de las neuronas de la SN caudovernal (SNcv). 3) Tras inyectar fluoro-gold en el estriado, las neuronas DAérgicas de VTA y SNrm muestran triple marcaje (TH, GDNF y fluoro-gold), y tras inyectar colchicina en el ventrículo lateral, pierden la inmunorreactividad para GDNF, sugiriendo que el GDNF de los somas de las neuronas mesencefálicas procede del estriado. 4) Las neuronas daérgicas de VTA y SNrm (que transportan GDNF) son más resistentes que las de SNcv a la inyección intraventricular de 6-OHDA, como ocurre en la enfermedad de Parkinson. Por tanto, podemos sugerir que el hecho de proyectar a vSt, donde la expresión de GDNF es mayor que en el dSt, es un factor de protección implicado en la vulnerabilidad diferencial de las neuronas daérgicas mesencefálicas.

P196. MECANISMOS DE TOXICIDAD DE LA DOPAMINA EN CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA HUMANO

P. GIMÉNEZ-XAVIER^A, C. GÓMEZ-SANTOS^B, M. BARRACHINA CASTILLO^C, I. FERRER ABIZANDA^C, S. AMBROSIO VIALE^D

^AUNIDAD DE BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE BARCELONA. HOSPITALET DEL LLOBREGAT. ^BUNITAT DE BIOQUÍMICA. CIEN. HOSPITALET DEL LLOBREGAT. ^CUNITAT DE NEUROPATOLOGIA. ^DUNITAT DE BIOQUÍMICA. UNIVERSITAT DE BARCELONA. HOSPITALET DEL LLOBREGAT. BARCELONA, ESPAÑA

La dopamina (DA) puede tener un papel paradójico en la degeneración de la neurona dopaminérgica en la enfermedad de Parkinson y otras enfermedades neurodegenerativas. Los mecanismos implicados en la toxicidad de la dopamina no se conocen exactamente. En el presente trabajo se han utilizado células de neuroblastoma SH-SY5Y, sensibles a DA, con el objetivo de profundizar en los mecanismos por los cuales la DA podría dañar las células. La DA entra en la célula por un mecanismo dosis-dependiente y saturable. Una vez dentro, dispara un ciclo redox que causa un moderado incremento en la peroxidación (DCFH) y una reducción del poder reductor de la célula, que puede ser analizado por MTT, concentración de NADH y la relación GSH/GSSG. Tal efecto queda reflejado en: una disminución de la viabilidad celular y un descenso del consumo de oxígeno. p38 y JNK son activadas de forma transitoria. Los factores de transcripción C/EBP GADD153/CHOP incrementan su expresión. La alfa-sinucleína incrementa también su expresión, de forma probablemente inducida por el factor de transcripción C/EBP parámetros de estrés de retículo endoplasmático (grp78) y se observa autofagia utilizando marcadores lisosomales y microscopia electrónica. Según los resultados hallados en esta línea de neuroblastoma, la DA podría disparar un programa de muerte celular cuando se acumula en el citoplasma de la célula. Esto podría ocurrir en las neuronas dopaminérgicas al desestabilizarse el equilibrio entre el almacenamiento en vesículas, el metabolismo intramitocondrial y la recaptación citoplasmática de DA, produciéndose en consecuencia un aumento de la concentración de DA en el citoplasma.

P197. COEXPRESIÓN DE TAU HUMANO CON MUTACIONES TIPO FTDP-17 Y GSK-3BETA EN RATONES TRANSÉNICOS INDUCE DE FORMA SINÉRGICA POLIMERIZACIÓN DE TAU Y NEURODEGENERACIÓN

T. ENGEL^A, P. GOÑI OLIVER^A, J. J. LUCAS^B, P. GÓMEZ-RAMOS^C, M. A. MORAN^C, J. ÁVILA^B, F. HERNÁNDEZ^A

^ACENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR. ^CDEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^BCENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR. CSIC. MADRID, ESPAÑA

Las principales marcas neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer son la presencias de placas seniles, formadas por el péptido beta-amiloide, y los ovillos neurofibrilares, formados por la proteína tau hiperfosforilada. GSK-3 es la principal cinasa responsable de la hiperfosforilación de tau en la enfermedad de Alzheimer; por otro lado, la hiperfosforilación de tau y la neurodegeneración consiguiente no son exclusivas de esta enfermedad, sino que constituyen el nexo común que agrupa a una serie de enfermedades denominadas tauopatías. Entre estas se encuentra la demencia frontotemporal ligada al cromosoma 17 (FTDP-17), en la que distintas mutaciones en el gen que codifica para tau son responsables de la neurodegeneración. Para estudiar si ambos tipos de modificaciones de la proteína tau, esto es fosforilación y mutación, pueden actuar sinérgicamente, hemos cruzado ratones Tet/GSK-3beta que sobreexpresan GSK-3beta (EMBO J. 20: 27, 2001) con ratones transgénicos que sobreexpresan la proteína tau con tres mutaciones tipo FTDP-17 (Mol Cell Neurosci 2001; 18: 702). En los ratones Tet/GSK-3beta/VLW resultantes se observó una fosforilación sinérgica de tau únicamente en el hipocampo, área donde ambas proteínas transgénicas se sobreexpresan. Además, se obtuvieron filamentos de tau, así como neuronas tioflavina-S positivas únicamente en los ratones Tet/GSK-3beta/VLW. En el giro dentado la sobreexpresión de tau mutante acelera la neurodegeneración observada en los animales Tet/GSK-3beta. Todos estos datos morfológicos y bioquímicos demuestran que existe un sinergismo entre ambas proteínas para inducir una neurodegeneración similar a la encontrada en la enfermedad de Alzheimer y tauopatías relacionadas.

P198. LA MAQUINARIA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN EL DELFÍN

M. SARASA, C. GALLEGO

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. ZARAGOZA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MECAL PROYECTO SAF2003-08444

La enfermedad de Alzheimer es la principal causa de demencia relacionada con el envejecimiento. Dada la longevidad de los cetáceos, hemos considerado la hipótesis de que algunos de sus varamientos podrían deberse a causas neurodegenerativas,

17.09.05

asociadas a la edad, que provocarían un trastorno en la ecolocalización llevando al animal a una completa desorientación. Hemos analizado la presencia de placas amiloides en cerebros con anticuerpos específicos frente al péptido β -amiloide humano y hemos visto que algunos ejemplares las presentan. Hemos clonado y secuenciado la región codificante de los péptidos β -amiloides de los delfines *Tursiops truncatus* (delfín mular), *Grampus griseus* (calderón gris) y *Stenella coeruleoalba* (delfín listado) y hemos comprobado que su secuencia aminoacídica es igual a la del hombre. Hemos clonado y secuenciado la proteína precursora del amiloide (APP) en *Stenella coeruleoalba* y hemos visto que presenta una nueva isoforma de 749 aminoácidos, con una similitud de un 95% con la isoforma APP-770 humana. También hemos visto (tras clonación y secuenciación de fragmentos de cDNA) que el delfín expresa las proteínas más directamente involucradas en el procesamiento de la APP para producir el péptido amiloide, como son la β -secretasa BACE, y las presenilinas 1 y 2, componentes principales de la gamma-secretasa. Los resultados de nuestro estudio revelan que el delfín presenta la misma maquinaria molecular de procesamiento de APP que el hombre y que el varamiento de algunos delfines podría ser consecuencia de su neurodegeneración y demencia.

P199. ACTIVIDAD NEURONAL Y SENSIBILIDAD A FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS EN RATA PARKINSONIZADA

C. MIGUÉLEZ PALOMO, L. GRANDOSO FERRERAS, L. UGEDO URRUELA FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA. VIZCAYA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: UPV/EHU 9/UPV /00026-327-13590/2001 Y FIS P1021600 C. MIGUÉLEZES BECARIA DEL GOBIERNO VASCO

En la enfermedad de Parkinson, además de la sintomatología motora, una alta proporción de pacientes presenta cuadros depresivos (46%). Dado que el *locus coeruleus* tiene un importante papel en la etiopatogenia de la depresión, el objetivo de este estudio fue evaluar los posibles cambios en este núcleo. Para ello se realizaron registros uni-extracelulares en animales control y lesionados con 6-OHdopamina (modelo animal de parkinsonismo) y se estudiaron las propiedades electrofisiológicas, así como los posibles cambios en la sensibilidad de los adrenoceptores α_2 y la respuesta a los fármacos antidepresivos en las neuronas noradrenérgicas. Si bien el número de neuronas activas encontrado en ratas parkinsonizadas fue similar al del grupo control ($2,56 \pm 0,69$ y $3,76 \pm 0,65$ neuronas/trayecto, respectivamente) su frecuencia de disparo fue menor ($1,60 \pm 0,13$ Hz y $2,17 \pm 0,16$ Hz $p < 0,01$, respectivamente). Tanto la sensibilidad al fármaco agonista de los adrenoceptores α_2 , clonidina, como al fármaco antidepresivo inhibidor de la recaptación de la noradrenalina, reboxetina, no se modificó ($ED_{50} = 2,93 \pm 0,39$ μ g/kg y $2,24 \pm 0,35$ μ g/kg para la clonidina y ($ED_{50} = 0,07 \pm 0,02$ μ g/kg y $0,11 \pm 0,02$ μ g/kg para la reboxetina, respectivamente). Sin embargo, la sensibilidad al fármaco antidepresivo inhibidor de la serotonina, fluoxetina, fue menor en el grupo de animales lesionados ($E_{max} = 23,7\%$ y $49,7\%$ $p < 0,05$, respectivamente). Estos resultados sugieren que la degeneración de la vía nigroestriatal está asociada a una disminución en la sensibilidad a los fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina.

P200. PRENSIÓN Y SUPINACIÓN EN ENFERMOS CON ENFERMEDAD DE PARKINSON. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN EL ÁMBITO DE LA REALIDAD VIRTUAL

C. NOMBELA OTERO ^A, J. L. PEDREÑO MOLINA ^B, J. MOLINA VILAPLANA ^C, F. ROS BERNAL ^D, M. GÓMEZ GALLEGU ^D, M. T. HERRERO EZQUERRO ^D, J. LÓPEZ-CORONADO ^E

^A NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL (NYNE). DEPARTAMENTO ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. MURCIA. ^B DEPARTAMENTO INGENIERÍA DE SISTEMAS Y AUTOMÁTICA. ^C DEPARTAMENTO DE SISTEMAS Y AUTOMÁTICA. ESCUELA DE INGENIERÍA. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA. CARTAGENA (MURCIA).

^D NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL (NYNE). DEPARTAMENTO ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^E ESCUELA DE INGENIERÍA. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA. CARTAGENA (MURCIA), ESPAÑA

Objetivos. Análisis de precisión de diferentes aspectos del movimiento: alcance/prensión (fuerza de agarre, *grip force*, GF), supinación (fuerza de carga, *load force*, LF), pronación/liberación en pacientes con enfermedad de Parkinson (EP) en *on* y *off*. **Material y métodos.** Sujetos 20,7 años, y 27 experimentales: 27 controles (16 mujeres, 11 varones, 61,2 10,4 años) en *on* y *off*. Pacientes con EP (17 mujeres, 10 varones, 62.7). Se utilizó un guante de realidad virtual (mide la inclinación de cada falange y la separación entre las mismas) con un acelerómetro a nivel carpal y un sensor de fuerza sobre la yema del dedo índice. Tarea experimental: alcanzar y agarrar con los dedos pulgar e índice 4 objetos (de diferentes pesos y texturas), alzarlos hasta una altura fijada y bajarlos a la posición inicial. **Resultados.** Los

pacientes con EP (*on/off*) respecto a controles, significativamente: i) necesitan más tiempo para completar la tarea; ii) alcanzan datos menores en aceleración, en GF, en velocidad de aplicación de la GF y en LF; iii) muestran descoordinación GF/LF y iv) presentan retraso en los movimientos de descenso del objeto. **Conclusiones.** El tratamiento no mejora el movimiento fino en ningún parámetro. Los retrasos encontrados en EP serían un fenómeno *freezing* que tenga lugar al inicio de las diferentes fases de agarre de la tarea experimental. Esta aproximación indica nuevas formas de explorar el movimiento y sus alteraciones.

P201. ALTERACIONES EN EL PROTEOMA DEL HIPOCAMPO EN UN MODELO TEMPRANO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

J. F. CABODEVILLA ARETA ^A, M. CUADRADO-TEJEDOR ^B, F. J. GIL-BEA ^C, T. GÓMEZ-ISLA ^D, J. DEL RÍO ^E, A. PÉREZ-MEDIAVILLA ^B

^A NEUROCIENCIAS. CENTRO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA/FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA. PAMPLONA. ^B LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DEL ALZHEIMER. ^C LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA. CENTRO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA. PAMPLONA. ^D DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. ^E NEUROLOGÍA. HOSPITAL SANTA CREU I SANT PAU. BARCELONA, ESPAÑA

Introducción. A la edad de 7 meses el modelo de enfermedad de Alzheimer (EA) APPsw Tg2576 basado en la sobreexpresión de APP no presenta un incremento significativo de placas seniles, pero los niveles de A-beta(1-42) son 14 veces superiores a los presentes en los animales no transgénicos. Ello convierte a estos animales en un modelo para estudiar las alteraciones moleculares inducidas por la sobreproducción del péptido A-beta y que son previas al fenotipo histopatológico característico de edades avanzadas. **Objetivos.** Analizar e identificar los cambios en el patrón de expresión de proteínas que subyacen a la sobreproducción del péptido A-beta(1-42). **Metodología:** la expresión diferencial se estudió mediante electroforesis bidimensional a partir de homogenizados de hipocampo procedentes de ratones Tg2576 a la edad de 7 meses comparándolos con sus correspondientes controles no transgénicos. La identificación de las proteínas diferenciales se hizo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF). **Resultados.** Hemos encontrado 88 diferencias en el patrón de expresión de proteínas en el hipocampo de ratones Tg2576 comparados con animales no transgénicos del mismo sexo y edad. De todas ellas se han identificado un total de 58. Tras clasificarlas y agruparlas siguiendo el criterio del Gene Ontology Consortium se comprueba que la mayoría están implicadas en procesos de estrés, homeostasis mitocondrial, apoptosis y organización intracelular. Además se comprueba que los patrones son diferentes en función del sexo. **Conclusiones.** este análisis proteómico, realizado en un modelo *in vivo* de EA previo a la aparición de depósitos, proporciona una aproximación a las alteraciones moleculares más incipientes provocadas por la sobreproducción del péptido A-beta(1-42).

P202. DEGENERACIÓN RETINIANA ASOCIADA A HIDROCEFALIA CONGÉNITA DEBIDA A MUTACIÓN EN EL GEN QUE CODIFICA ALFA-SNAP

A.J. JIMÉNEZ ^A, D.S. BOOMGAARD ^B, P. RIVERO ^B, R.C. REDING ^B, J.M. PÉREZ-FIGARES ^B

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS, P1030756 Y RED CIEN C/0306, INSTITUTO DE SALUD CARLOS III, Y SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

En el ratón mutante *hyh* existen bajos niveles funcionales de la proteína alfa-SNAP para interactuar con el complejo SNARE implicado en el tráfico vesicular intracelular, afectándose el proceso de secreción y adhesión celular durante el desarrollo del sistema nervioso central. Consecuentemente, los ratones mutantes manifiestan hidrocefalia congénita por desprendimiento del neuroepitelio, probablemente debido a alteraciones en la adhesión. Algunos síndromes humanos presentan hidrocefalia asociada a defectos retinianos, como el síndrome de Walker-Waburg, con displasia retiniana. La hidrocefalia del ratón *hyh* ha demostrado ser un modelo representativo de la humana, y por eso el estudio de su degeneración retiniana asociada puede arrojar luz sobre defectos parecidos en la hidrocefalia humana. Se han estudiado las retinas de ratones mutantes con la enfermedad crónica que han podido sobrevivir hasta edades avanzadas. Las retinas de ratones normales y mutantes, desde el nacimiento hasta 180 días postnatales, se procesaron para reconocer sus distintos tipos celulares e identificar los que mueren. Se estudió la expresión de alfa-SNAP y la implicación del citoesqueleto y moléculas de adhesión en la degeneración, así como el papel que desempeña en el proceso degenerativo la

17.09.05

microglía/macrófagos y los astrocitos. Se encontraron diversos defectos en las retinas de los animales hidrocefálicos, consistentes en muertes de fotorreceptores y otros tipos celulares, destacando la ausencia casi total de conos y bastones y de la capa plexiforme externa.

P203 COMPLETA PROTECCIÓN DE LA VÍA DOPAMINÉRGICA NIGROESTRIATAL TRAS EL TRATAMIENTO CON UN INHIBIDOR DE LA COX-2 EN EL MODELO EXPERIMENTAL DE PARKINSONISMO DEL MPTP EN RATONES

J.A. AGUIRRE^A, S. FERNÁNDEZ^B, R. CUETO^A, F.J. MIÑANO^C, R. RUIZ-CRUCES^D, A.D. MEDHURST^E, K. FUXE^F

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA HUMANA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA. MÁLAGA. ^C DEPARTAMENTO DE FARMACOLÓGIA. H.U. DE VALME. SEVILLA. ^D CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO-SANITARIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA. ^E NEURODEGENERATION RESEARCH. NEUROLOGY-GI CENTRE OF EXCELLENCE FOR DRUG DISCOVERY. GLAXOSMITHKLINE. ESSEX, REINO UNIDO. ^F DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. INSTITUTO KAROLINSKA. ESTOCOLMO, SUECIA

Se ha sugerido recientemente que la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) protege las neuronas dopaminérgicas (DA) de la sustancia negra compacta (SNc) afectadas por la neurotoxicidad del 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Hemos estudiado el efecto del inhibidor de la COX-2 (iCOX-2: GW637185X) sobre el número total de neuronas DA de la SNc y sobre las terminaciones DA del estriado dorsal en dicho modelo. Se utilizó la técnica inmunohistoquímica antitiroxina hidroxilasa (THIR) combinada con estudio estereológico y evaluación microdensitométrica. Se hicieron 6 grupos ($n = 6$) de ratones (C57bl/6, 10 semanas, 25 ± 2 g): 1) solventes; 2) iCOX-2 (3 mg/kg i.p., 30 min antes del MPTP); 3) iCOX-2 (10 mg/kg i.p., 30 min antes del MPTP); 4) solvente + MPTP (40 mg/Kg, s.c.); 5) iCOX-2 (3 mg/kg) + MPTP; 6) iCOX-2 (10 mg/Kg) + MPTP. Tras 10 días de supervivencia se procesaron los cerebros siguiendo el protocolo para el estudio estereológico o microdensitométrico. Los resultados muestran que el MPTP redujo el número total de somas DA THIR de 17.647 ± 859 a 8.391 ± 540 (47%). Esta diferencia fue reducida significativamente ($p < 0,001$) en los grupos tratados previamente con iCOX-2 tanto con 3 mg/kg (16.026 ± 1.176) como con 10 mg/kg (16.410 ± 807). En el estriado dorsal sólo la dosis de 10 mg/kg fue efectiva para proteger del MPTP. Sugerimos que los inhibidores de la COX-2 podrían tener un papel neuroprotector en la degeneración de las neuronas DA y terminales estriatales originada por MPTP y probablemente también en los procesos neurodegenerativos de la enfermedad de Parkinson. Subvencionado por Neurology-GI CEDD Glaxo-SmithKline (UK) y por la DGICYT (PM99-0159).

P204 ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ESPECÍFICA PIRROLIDÓN CARBOXIL PEPTIDASA EN EL SUERO DE ENFERMOS DE ALZHEIMER

J.M. MARTÍNEZ MARTOS^A, M. COBO ACEITUNO^B, B. CAMACHO MUÑOZ^B, S. DELA CHICA RODRÍGUEZ^A, P. CORTÉS DENIA^A, M.J. RAMÍREZ EXPÓSITO^A

^A DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD/FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN. ^B NEUROLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE JAÉN. JAÉN, ESPAÑA

La demencia tipo Alzheimer (DTA) es un conjunto de desórdenes neurodegenerativos caracterizados por el depósito progresivo de péptidos β -amiloides (A β) en el cerebro, para formar placas seniles. Algunas formas de A β más cortas comienzan con un residuo que se cicla dando lugar a péptidos neurotóxicos piroglutamilo-terminales, sustratos específicos del enzima pirrolidón carboxil peptidasa (Pcp), detectable en suero, y que podría representar un método bioquímico para el diagnóstico precoz y no invasivo de la DTA. Se ha analizado la actividad Pcp en suero de individuos diagnosticados de DTA (criterios NINCDS-ADRDA y escalas cognitivas Minimental, Blessed y FAST para estratificar a los pacientes según los estadios evolutivos) y en controles. La actividad Pcp sérica se encuentra aumentada ($p < 0,05$) en los individuos con DTA. Además, existe una buena correlación entre los niveles de Pcp sérica, el tiempo de evolución de la enfermedad y los valores obtenidos con la escala cognitiva FAST. Aunque se desconoce el origen de la Pcp sérica, esta podría derivar de la escisión de la forma unida a membrana. El incremento encontrado indicaría pérdida de actividad Pcp a nivel de las membranas celulares de las células cerebrales, con lo que disminuiría la capacidad de degradar las formas piroglutamilo-terminales de A β , favoreciendo la fibrillogénesis y la formación de placas seniles. Por tanto, alteraciones de la actividad Pcp explicarían el depósito de A β característico de la DTA. Además, la actividad Pcp sería un método diagnóstico bioquímico rápido y podría considerarse como diana farmacológica específica en el tratamiento de la DTA.

P205. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD PIRROLIDÓN CARBOXIL PEPTIDASA EN NEURONAS Y ASTROCITOS EN CULTIVO: EFECTO DE LA DESPOLARIZACIÓN Y CALCIO-DEPENDENCIA

S. DE LA CHICA RODRÍGUEZ^A, M. COBO ACEITUNO^B, M.J. RAMÍREZ EXPÓSITO^A, B. CAMACHO MUÑOZ^B, P. CORTÉS DENIA^A, J.M. MARTÍNEZ MARTOS^A

^A DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD/FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN. ^B NEUROLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE JAÉN. JAÉN, ESPAÑA

El depósito de péptidos b-amiloides en el cerebro, que da lugar a la formación de las placas seniles, es uno de los fenómenos más característicos de la enfermedad de Alzheimer. Entre estos péptidos destacan unas formas más cortas que presentan residuos glutamilo en su extremo amino-terminal, los cuales pueden ciclarse para dar lugar a residuos piroglutamilo. Estos péptidos piroglutamilo-terminales, que presentan una capacidad de agregación muy superior a otras formas de b-amiloides, son susceptibles de ser hidrolizados por el enzima pirrolidón carboxil peptidasa (Pcp), cuya actividad podría evitar su agregación. En el presente trabajo analizamos la actividad específica Pcp de neuronas y astrocitos en cultivo, utilizando las líneas celulares humanas de neuroblastoma NB69 y astrocitoma U373, en condiciones basales y despolarizantes y en presencia o ausencia de calcio en el medio de cultivo. El ensayo se ha llevado a cabo mediante técnicas fluorimétricas, utilizando piroglutamilo-b-naftilamida como sustrato. Los resultados obtenidos muestran un comportamiento similar de la actividad específica Pcp en neuronas y astrocitos, observándose un importante incremento de dicha actividad en condiciones despolarizantes y en ausencia de calcio en el medio de cultivo, siendo este incremento más significativo en astrocitos. Por tanto, no solo las neuronas, sino también las células de la glía, podrían tener un papel importante en los mecanismos, bien de deposición, bien de eliminación, de los depósitos de péptidos b-amiloides piroglutamilo-terminales, a través de la Pcp y de forma calcio-dependiente.

P206. INCREMENTO DE LA EXPRESIÓN DE COX-2 EN LA SUSTANCIA NEGRA DE PRIMATES NO-HUMANOS TRAS ADMINISTRACIÓN AGUDA Y CRÓNICA DE MPTP

M. VÁZQUEZ CLAVERIE^A, L. SALDISE ELIZONDO^B, P. GARRIDO GIL^A, I. MARCILLA GARCÍA^A, W. SAN SEBASTIÁN RAMÍREZ^A, S. BELZUNEGUI RONCAL^A, A. IZAL AZCÁRATE^A, M. R. LUQUIN PIUDO^A

^A LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DEL PARKINSON. ^B LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DEL PARKINSON. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. CIMA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

Introducción. Hallazgos recientes sugieren la implicación de mecanismos inmunes en la patogénesis de la neurodegeneración dopaminérgica en la enfermedad de Parkinson. Una producción excesiva de enzimas proinflamatorias como la ciclooxigenasa tipo-2 (Cox-2) podría contribuir a la muerte progresiva de las neuronas dopaminérgicas. **Objetivo.** Investigar el patrón de distribución de la Cox-2 en la sustancia negra (SN) de primates no-humanos y su modificación tras administración aguda y crónica de MPTP. **Material y métodos.** 5 macacos tratados con 4 dosis de MPTP (0,25 mg/kg), 5 animales tratados crónicamente con MPTP (0,25-0,6 mg/kg) y 2 animales sanos. Se procesaron 5-7 secciones que contenían SN con técnicas inmunocitoquímicas dobles para Cox-2 y TH. La intensidad de inmunofluorescencia (IF) para Cox-2 en las neuronas dopaminérgicas de la SN y del área tegmental ventral (ATV) se cuantificó mediante densitometría. **Resultados.** En los animales control, la expresión de Cox-2 en las neuronas dopaminérgicas de la SN fue heterogénea, con niveles más altos en ATV y SNdorsal. En el grupo agudo, la IF para Cox-2 se incrementó en todas las zonas de la SN y ATV. En los animales crónicos, esa expresión se mantuvo elevada en el ATV y SNdorsal, mientras que en la SNventral y SNlateral los valores de expresión de Cox-2 fueron similares a los animales control. **Conclusión.** La inflamación puede desempeñar un papel importante en la degeneración aguda y crónica de las neuronas dopaminérgicas inducida por MPTP en macacos.

P207. FILAMENTOS Y INCLUSIONES PURIFICADOS DE UN MODELO TRANSGÉNICO CONDICIONAL DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON EVIDENCIAN QUE LA INHIBICIÓN DEL PROTEASOMA ES DEPENDIENTE DEL GRADO DE AGREGACIÓN DE LA HUNTINGTINAA. G. VALERA^A, M. DÍAZ-HERNÁNDEZ^B, Z. ORTEGA^C, F. HERNÁNDEZ^D, J. J. LUCAS^E^A CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR, CSIC/UAM. ^B CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR. ^C CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS. MADRID. ^D CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS. CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA, CSIC/UAM. MADRID. ^E CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR. CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS. MADRID, ESPAÑA

El marcador histopatológico de la enfermedad de Huntington (EH) son los cuerpos de inclusión (CI) formados por huntingtina con una poliglutamina expandida (poliQ). Los CI también contienen componentes del sistema ubiquitina-proteasoma (SUP). Esto llevó a postular una inhibición del SUP como causante de la EH. Sin embargo, no está claro si el SUP se inhibe en la EH, ni cuál sería la forma tóxica de huntingtina según grado de agregación. Estudios *in vitro* demuestran que el proteasoma es incapaz de proteolizar poliQ sintética en solución (Mol Cell 2004; 14: 95-104), que quedaría retenida inhibiendo al proteasoma. Curiosamente, ensayos similares con poliQ agregada *in vitro* no detectaron inhibición (Mol Cell 2005; 17: 351-65). Estas formas de poliQ sintéticas carecen del contexto y de modificaciones postraduccionales que presenta la huntingtina en las neuronas afectadas. Recientemente describimos la purificación de filamentos de huntingtina (J Neurosci 2004; 24: 9361-71) de cerebros de nuestro modelo condicional de EH (Cell 2000; 101: 57-66). Aquí reportamos que estos filamentos no inhibieron al proteasoma 20S *in vitro*, pero sí al 26S. Esto contrasta con nuestros datos previos de no inhibición en homogenados de cerebro con CI (J Neurosci 2003; 23: 11653-61). Los CI, por tanto, podrían ser una respuesta protectora contra la toxicidad de formas agregadas intermedias. Mediante un novedoso protocolo de purificación de CI, aquí mostramos que éstos no interfieren con la actividad del proteasoma. Concluimos que los filamentos de huntingtina pueden inhibir el SUP, que la inhibición requiere la subunidad 19S y que desaparece cuando los filamentos son atrapados en CI.

P208. EFECTO PROTECTOR DE LA SULFADIACINA SOBRE EL SISTEMA SOMATOSTATINÉRGICO CORTICAL DE LA RATA FRENTE AL PÉPTIDO BETA-AMILOIDE (25-35)E. BURGOS RAMOS^A, L. PUEBLA JIMÉNEZ^A, D. AGUADO LLERA^A, A. M. HERNÁNDEZ PINTO^B, E. ARILLA FERREIRO^A^A DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. ^B DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

La sulfadiacina es una sulfamida con actividad antibacteriana y antiinflamatoria. El péptido beta-amiloide (bA) promueve y mantiene la respuesta inflamatoria. El objetivo del presente estudio fue evaluar si la sulfadiazina puede prevenir el efecto del bA (25-35) sobre el sistema somatostatinérgico presente en la corteza temporal de la rata. Ratas Wistar macho recibieron una inyección intraperitoneal (i.p.) de salino o de sulfadiazina (160mg/kg). Dos días después, se les implantó una cánula en el ventrículo lateral derecho conectada a una minibomba osmótica a través de la cual se les administró el bA (25-35) (300 pmoles/día) o salino durante 14 días. A los 12 días de recibir el bA, las ratas tratadas con sulfadiacina recibieron una segunda inyección i.p. de sulfamida (80mg/kg). Los animales se sacrificaron a los 14 días de la infusión del bA (25-35) o un periodo similar en los grupos controles. La administración de sulfadiacina previno la disminución del número de receptores de SRIF y la depleción de SRIF inmunorreactiva inducida por el bA (25-35) descrita por nuestro grupo. Este efecto sobre el número total de receptores de SRIF se puede deber parcialmente a que dicha sulfamida también impidió la disminución de los niveles de sst2 inducido por bA (25-35). Asimismo, la sulfadiacina impidió la reducción del efecto inhibitor de la SRIF sobre la actividad adenilil ciclasa provocada por el bA (25-35). En conclusión, este estudio indica que la sulfadiacina previene el efecto del bA (25-35) sobre el sistema somatostatinérgico en la corteza temporal de la rata.

P209. ALTERACIÓN DEL SISTEMA GABABÉRGICO CORTICAL EN FASES TEMPRANAS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATONES TRANSGÉNICOS.I. MORENO GONZÁLEZ^A, I. MORENO GONZÁLEZ^B, J. C. DEL RIO^C, D. BAGLIETTO VARGAS^D, J. F. LÓPEZ TÉLLEZ^A, B. RAMOS^E, S. JIMÉNEZ^E, C. CABALLERO^E, D. RUANO^F, Z. KHAN^G, J. VITORICA^E, A. GUTIÉRREZ^A
^A DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^B DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS (UNIVERSIDAD DE MÁLAGA). MÁLAGA. ^C DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. ^E DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA (UNIVERSIDAD DE SEVILLA). SEVILLA. ^D DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS (UNIVERSIDAD DE MÁLAGA). MÁLAGA. ^F DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA (UNIVERSIDAD DE SEVILLA). SEVILLA. ^G CIMES/DEPT. MEDICINA. FACULTAD DE MEDICINA (UNIVERSIDAD DE MÁLAGA). MÁLAGA, ESPAÑA

Las lesiones cerebrales en la enfermedad de Alzheimer (AD) empiezan en la corteza entorrinal y en el hipocampo, estructuras que tienen un papel crucial en los procesos de memoria. La AD se caracteriza por la presencia de placas amiloides extracelulares, agregados fibrilares intracelulares y por una pérdida neuronal extensa. Los ratones transgénicos (tg) para uno o varios genes humanos implicados en AD constituyen modelos muy valiosos para estudiar cambios neurodegenerativos y evaluar *in vivo* posibles moléculas con valor terapéutico. Nuestro principal objetivo es identificar marcadores moleculares tempranos de neurodegeneración en modelos transgénicos de AD. Recientemente, hemos determinado que los neuropéptidos SOM y NPY son excelentes marcadores tempranos en el hipocampo de ratones PS1xAPP, y que afecta selectivamente a las interneuronas OLM y HIPP. En este trabajo, hemos analizado mediante RT-PCR, inmunocitoquímica y técnicas estereológicas poblaciones de interneuronas corticales en función de su contenido en neuropéptidos (SOM, NPY) y proteínas ligadoras de calcio (CR y PV) en ratones PS1 y PS1xAPP de 2 a 18 meses de edad. Los resultados muestran una disminución acusada del mRNA para SOM, así como una pérdida significativa de neuronas SOM positivas en la corteza entorrinal a edades tempranas en los ratones PS1xAPP. Estas interneuronas están implicadas en la formación de la memoria y el almacenamiento de información, por lo tanto una pérdida de estas células podría estar directamente relacionada con los déficits de memoria/aprendizaje de las fases tempranas de AD. Financiado por FIS PI030214 (AG), SAF2002-03448 (JV), FIS PI030177 (DR) y Sanofi-Aventis (AG y JV).

P210. PARÁLISIS SUPRANUCLEAR PROGRESIVA: COMPLEJIDAD EN EL PATRÓN DE TAU HIPERFOSFORILADAB. PUIG MARTORELL^A, G. SANTPERE BARÓ^B, I. FERRER ABIZANDA^B
^A INSTITUT DE NEUROLOGIA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BELLVITGE. HOSPITAL DE LLOBREGAT (BARCELONA). ^B INSTITUT DE NEUROLOGIA. HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE. HOSPITAL DE LLOBREGAT (BARCELONA), ESPAÑA

El propósito del siguiente estudio es determinar la posible variabilidad en los perfiles de tau en cinco casos de parálisis supranuclear progresiva (PSP) con demencia y patología cortical probada. Mediante electroforesis y *western blot* en fracciones sarkosil-insolubles, y cinco anticuerpos fosfoespecíficos dirigidos contra diferentes sitios de fosforilación de tau (Thr181, Ser202, Ser214, Ser396 y Ser422) se han estudiado cuatro regiones que incluyen corteza frontal (área 8), sustancia blanca subcortical del lóbulo frontal, caudado/putamen: estriado y bulbo. Aunque el clásico patrón de 2 bandas de tau hiperfosforilada de 68 y 64/62 kDa se observan en casi todas las regiones, la intensidad relativa entre la banda alta y la banda baja dependen del anticuerpo fosfoespecífico utilizado. Además bandas de 72, 50/55 y 37 kDa se encuentran comúnmente en PSP mientras que otras bandas de aproximadamente 60, 42, 33 y 29 kDa no aparecen de forma constante. El patrón de bandas difiere ligeramente de un caso a otro, de una región a otra y según el anticuerpo fosfoespecífico utilizado. Estos resultados sugieren que diferentes especies de tau están variablemente fosforiladas en un determinado momento en una determinada región, y que los agregados en esta enfermedad se componen tanto de isoformas completas fosforiladas como de formas truncadas de proteína tau.

P211. ALTERACIONES EN LA HOMEOSTASIS DE GLUTATIÓN EN RATONES MUTANTES PARA EL GEN DE LA PARKINA. EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO

J.A. RODRÍGUEZ NAVARRO^A, J. MENÉNDEZ-CUERVO HURLÉ^B, R.M. SOLANO HARO^C, M.J. CASAREJOS FERNÁNDEZ^C, M.A. MENA GÓMEZ^C
^ANEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. ^CNEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL, MADRID. ^BNEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL, MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS 2002/PI20265, FIS 2004/PI 040306, RED CIEN 03/06

Las mutaciones que causan falta de función del gen de parkina son la causa mayoritaria de Parkinson juvenil autosómico recesivo. Los ratones a los que se ha inactivado este gen (parkina -/-) tienen deficiencias cognitivas, motoras y en la neurotransmisión dopaminérgica, aunque no se ha observado pérdida de neuronas dopaminérgicas, posiblemente debido a que los niveles de GSH están incrementados (Itier et al 2003; Serrano et al 2005). El objetivo de este trabajo es estudiar si el envejecimiento afecta a la homeostasis del glutatión y a la capacidad detoxificante en estos ratones. Los niveles de glutatión y las actividades enzimáticas glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa se miden espectrofotométricamente en homogeneizados de las regiones más ricas en dopamina (estriado, mesencéfalo y sistema límbico) de cerebros de ratones parkina -/- y controles de dos meses y dos años de edad. Los ratones parkina -/- tienen una menor esperanza de vida y su actividad motora espontánea es significativamente menor que la de los ratones controles tanto en los ratones jóvenes como en los viejos. Los ratones jóvenes parkina -/- tienen mayores niveles de glutatión reducido (GSH) que los ratones controles, lo que se ha propuesto como mecanismo compensatorio del estrés oxidativo producido por las disfunciones en la liberación de dopamina y el aumento de actividad MAO-B. Con el envejecimiento este mecanismo compensatorio del estrés oxidativo se altera, en los ratones PK-KO disminuyen los niveles de GSH y aumenta la actividad GPx.

P212. IDENTIFICACIÓN DE DOS NUEVAS PROTEÍNAS MEDIANTE EL SISTEMA DOBLE HÍBRIDO EN LEVADURA, QUE INTERACCIONAN CON DJ-1, IMPLICADA EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

D. SÁNCHEZ CENTELLAS^A, A.J. MIÑANO MOLINA^B, J. GONZÁLEZ CASTAÑO^C, J. RODRÍGUEZ ÁLVAREZ^D

^AINSTITUTO DE NEUROCIENCIAS Y DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. ^BINSTITUTO DE NEUROCIENCIAS Y DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. ^CINSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA-CERDANYOLA DEL VALLÉS (BARCELONA). ^DDEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza por rigidez, bradiquinesia, temblor, e inestabilidad postural y es causada por degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la *substancia nigra*. Hoy en día se conocen algunos genes implicados en formas precoces de EP. A este respecto, estudios genéticos en el locus PARK7 asignaron las mutaciones del gen de DJ-1 a una forma de EP precoz. Con el fin de dilucidar las funciones de DJ-1 en EP, buscamos interacciones proteína-proteína que puedan suscitar mayor relevancia sobre dicha función. El abordaje metodológico de las interacciones se realiza mediante el ensayo Doble Híbrido. En este sistema en *Saccharomyces cerevisiae*, conseguimos coexpresar por una parte nuestra proteína de interés y por otra parte, cualquier proteína proveniente de una genoteca de cerebro de ratón. Cada una de estas partes está fusionada a cada uno de los dominios complementarios de GAL4: si existe interacción, GAL4 queda complementada induciendo la activación de genes reporteros. Hemos obtenido varios positivos en este ensayo y por el momento hemos identificado dos nuevas proteínas de interacción con DJ-1: una denominada LUC-7 like (LUC7l), implicada en el metabolismo y *splicing* del mRNA (interacción similar a otras ya descritas de DJ-1 con proteínas de unión a RNA); y por otra parte citocromo C oxidasa, proteína que responde a la toxicidad por dopamina y de la que ya se ha encontrado interacción con otras proteínas implicadas en EP.

P213. EFECTOS DE DROGAS HIPOTENSORAS SOBRE NEURONAS DE LA CAPA GANGLIONAR DE LA RETINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE PRESIÓN INTRAOCULAR

F. DÍAZ SOTO^A, A. VILLEN A GARCÍA-CABRERA^A, M. MORENO VILLEN A^B, L. VIDAL MIRALLES^A, C. PARRADO ROMERO^A, J. GARCÍA CAMPOS^B, I. PÉREZ DE VARGAS FERRONI^A

^ADEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. ^BDEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: PROYECTO FIS PI021295

Se valoran los efectos de drogas hipotensoras sobre la capa ganglionar de la retina (CGR) en un modelo experimental de presión intraocular (PIO) elevada. Se han utilizado 28 ratas albinas divididas en cuatro grupos: (1) control; (2) experimental sometido a cauterización de tres venas episclerales que provocaba inmediata elevación de la PIO; (3) y (4) con PIO elevada tratados tópicamente durante tres meses con un b-bloqueante, timolol y una prostaglandina, latanoprost, respectivamente. Los globos oculares se incluyeron en parafina y se realizaron secciones horizontales de 6 µm que fueron incubadas con un anticuerpo anti Neu-N (Chemicon, USA; dilución 1:500) como marcador neuronal. En el grupo control obtuvimos una PIO de 14,85 ± 0,65 mmHg mientras que en el grupo experimental es 1,25 veces superior (33,5 ± 1,06 mmHg). En los grupos tratados las PIO estaban elevadas inmediatamente tras la operación (34,91 ± 1,12 mmHg y 32,22 ± 0,99 mmHg, respectivamente) retornando a valores normales una vez comenzados los tratamientos. El número medio de neuronas de la CGR/mm² en los grupos control y experimental fue de 423 ± 11 neuronas/mm² y 283 ± 10 neuronas/mm², lo que sugiere una pérdida neuronal del 33%. Tras los tratamientos con timolol y latanoprost la pérdida es menor (331 ± 10 neuronas/mm² y 360 ± 15 neuronas/mm², respectivamente), aunque no se recuperan los valores normales. Por tanto, el modelo experimental utilizado provoca una elevación de la PIO y demuestra que la aplicación de drogas hipotensoras minimiza la pérdida de neuronas de la CGR.

P214. REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN DE OLIGODENDROCITOS EN CULTIVOS CELULARES. IMPLICACIONES EN LA REMIELINIZACIÓN

C. CID SÁNCHEZ^A, J.C. ÁLVAREZ CERMEÑO^B, M. GÓMEZ CALCE-RRADA^C, M. SALINAS^A, A. ALCÁZAR^C

^ADEPARTAMENTO INVESTIGACIÓN. ^BNEUROLOGÍA. ^CDEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL, MADRID, ESPAÑA

Las deficiencias en la remielinización de lesiones del SNC son una de las causas de disfunción neurológica en pacientes con esclerosis múltiple (EM). En este proceso, la incapacidad de las células precursoras de oligodendrocitos (OPC) para llevar a cabo la remielinización parece ser un factor clave en este proceso. Recientemente hemos descrito en pacientes con EM la existencia de anticuerpos contra la proteína Hsp (*heat shock protein*) 90b que reconocen a su antígeno en la superficie de las OPC. Estos anticuerpos inducen la muerte de las OPC en cultivo por un mecanismo que es totalmente dependiente de complemento. La muerte celular mediada por complemento e inducida por anticuerpos anti-Hsp90b solo tiene lugar en estas células y causa una importante reducción del número de oligodendrocitos O4 positivos (preoligodendrocitos). Los cultivos de OPC adultas también expresaron Hsp90b en su superficie celular y fueron atacados por los anticuerpos anti-Hsp90b dando lugar a una significativa reducción de la población de preoligodendrocitos. En presencia de bajos niveles de anticuerpos anti-Hsp90b, la concentración de complemento fue crítica para que la población de oligodendrocitos disminuyera (como consecuencia del ataque a las células precursoras). Así, la población de preoligodendrocitos llegó a extinguirse en presencia de altas concentraciones de complemento y de anticuerpos anti-Hsp90b. El inhibidor C1-EI (*complement 1-esterase inhibitor*) del componente c1 del complemento previno estos efectos sobre la población de preoligodendrocitos. Estos resultados demuestran un posible mecanismo por el cual disminuye la producción de nuevos oligodendrocitos, limitando la capacidad de remielinización.

17.09.05

P215. ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LOS FOSFOLÍPIDOS DE LÍNEAS CELULARES NEURONALES

M. V. MARTÍN MARTÍN^A, N. FABELO PULIDO^B, E. ALMANSA BERRO^C, R. MARÍN CRUZADO^D, R. ALONSO SOLÍS^E, M. DÍAZ GONZÁLEZ^F

^A INVESTIGADORA POSTDOCTORAL. ^B ALUMNA PREDOCTORAL. ^C DOCTOR. ^F PROFESOR TITULAR. DEP. BIOLOGÍA ANIMAL UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA. LA LAGUNA. ^D INVESTIGADOR RAMÓN Y CAJAL. ^E CATEDRÁTICO DE FISIOLÓGIA. DEP. FISIOLÓGIA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA. LA LAGUNA. TENERIFE, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF-3614-C03-01/02, FUNCIS-P184/04, FIS-PI042460 Y RED CIEN

Objetivos. Hemos determinado el perfil lipídico de dos líneas neuronales con el objeto de investigar el efecto que el cultivo a largo plazo tiene sobre los niveles de ácidos grasos poliinsaturados en la fracción de fosfolípidos celulares. **Material y métodos.** Para el estudio se emplearon células SN56, derivadas de septum de ratón, y células HT22, derivadas de hipocampo. El medio de cultivo fue suplementado con los ácidos grasos 22:6n-3 y 20:4n-6 (70%/30%) a diferentes concentraciones durante 48 horas. **Resultados.** En comparación con el cerebro o el hipocampo de ratón, las líneas celulares presentan contenidos inferiores de ácidos grasos saturados y poliinsaturados (20:4n-6 y especialmente 22:6n-3), así como un mayor contenido de monoinsaturados (principalmente 18:1n-9). La suplementación del medio de cultivo con 22:6n-3 y 20:4n-6 incrementó los contenidos de saturados y poliinsaturados, y disminuyó los monoinsaturados, en los fosfolípidos de las líneas celulares. **Conclusiones.** Hemos encontrado que el enriquecimiento del medio de cultivo con 22:6n-3 y 20:4n-6 en células SN56 y HT22, a concentraciones de 50 µM y 25 µM, respectivamente, modificó no solo los títulos de 22:6n-3 y 20:4n-6, sino que paralelamente alteró los de otros ácidos grasos, incluyendo saturados y monoeno. El enriquecimiento acercó los porcentajes de la mayoría de los ácidos grasos en los fosfolípidos a valores comparables a los de cerebro e hipocampo. Claramente, los procedimientos descritos son relevantes para una mejor adaptación de los modelos celulares a la fisiología de la membrana neuronal *in vivo*.

P216. POSIBLE PAPEL DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN LA NITRACIÓN DE PROTEÍNAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER: COMPARACIÓN CON UN MODELO EXPERIMENTAL POR INYECCIÓN DE b-AMILOIDE EN LA RATA

B. G. RAMÍREZ^A, J. A. GONZÁLEZ-CORREA^B, M. L. DE CEBALLOS^A
^A GRUPO DE NEURODEGENERACIÓN. INSTITUTO CAJAL, CSIC, MADRID. ^B DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UMA, MÁLAGA, ESPAÑA

Un exceso en la generación del radical superóxido podría dar lugar a incrementos en los niveles de peroxinitrito y a la nitración de proteínas. Las alteraciones en la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) descritas en la enfermedad de Alzheimer (EA) son contradictorias aunque existe consenso en que ocurre un aumento de proteínas nitradas en tirosina. Poco se sabe en los modelos de esa enfermedad *in vivo*. Hemos valorado la actividad de la SOD, niveles de nitritos+nitratos (NOx) y la expresión de proteínas nitradas (WB con anticuerpos frente a nitro-Tir) en corteza frontal de pacientes de EA (y sujetos control) y de ratas inyectadas con b-amiloide (bA, 20 µg/rata/día *icv* durante 7 días) cuando muestran déficit cognitivo (2 meses iniciado el tratamiento) o con un péptido control. En la EA encontramos una disminución en la actividad de las dos isoformas de la SOD, que fue significativa en el caso de la Mn-SOD (aprox 40%), un aumento en proteínas nitradas y los niveles de NOx no cambiaron respecto a los controles. En cambio en las ratas tratadas con bA el único cambio fue un marcado aumento en la actividad de la Cu/Zn-SOD (c²). Los resultados sugieren que en ausencia de cambios en la generación de NO, a juzgar por los niveles de NOx, la actividad de la SOD es determinante en desencadenar nitración de proteínas.

P217. REGULACIÓN MEDIADA POR PRESENILINAS DE LA SEÑALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE EGF

V. ROCHER^A, C. SAURA ANTOLÍN^B
^A ROS. INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES, DEPT BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR, BELLATERRA. ^B PH.D. INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES, BELLATERRA, BARCELONA, ESPAÑA

Mutaciones en los genes de las *Presenilinas* (PS) son la principal causa del Alzheimer familiar hereditario. Las PS (PS1 y PS2) forman parte del complejo enzimático g-secretasa, cuya actividad es responsable de la proteólisis de la APP para formar el péptido b-amiloide (Ab). La acumulación y deposición del péptido Ab en placas amiloides es un proceso clave en la neurodegeneración y la pérdida de memoria en esa enfermedad. Para estudiar las vías de señalización reguladas por las PS, utilizamos fibroblastos deficientes en PS1 y PS2 (PS^{-/-}) y fibroblastos control.

De este modo, hemos observado que deficiencias en PS causan cambios drásticos en la proliferación, adhesión y morfología celular. Debido al importante papel del factor de crecimiento epidérmico (EGF) en estos eventos celulares, analizamos la vía de señalización del receptor de EGF (EGFR) en esas células. Experimentos de estimulación con EGF recombinante a distintos tiempos y análisis mediante *western blot* de lisados celulares han puesto de manifiesto un incremento sostenido en la fosforilación del EGFR en las células PS^{-/-}. Además, observamos una mayor fosforilación de Raf, MEK y ERK en las células PS^{-/-}, lo que indica una sobreactivación de la vía de señalización de EGFR en estas células. En condiciones normales, las células deficientes en PS muestran un incremento en la expresión del EGFR, lo que sugiere que las PS pueden estar implicadas en la regulación de la expresión de este receptor. Actualmente, estamos evaluando como las presenilinas regulan la transcripción, estabilidad o degradación del EGFR.

P218. BDNF MODULA LAS ALTERACIONES GLUTAMATÉRGICAS CORTICOSTRIATALES DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

J. F. TORRES-PERAZA, J. M. CANALS, J. ALBERCH
DPT. DE BIOLOGIA CEL-LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. DPT. DE BIOLOGIA CEL-LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. FACULTAT DE MEDICINA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

Estudios previos demuestran que el BDNF modula la severidad y el inicio de los síntomas motores de la enfermedad de Huntington (EH) relacionados con la degeneración selectiva de las neuronas de proyección del núcleo estriado. Sin embargo, se desconocen los mecanismos que regulan la mayor vulnerabilidad de estas neuronas en la EH. El presente estudio tiene como objetivo analizar el efecto del BDNF sobre las alteraciones de los receptores NMDA (NMDAr) y las PSD-95 y SAP-102, proteínas que regulan la actividad de los NMDAr. Para ello se cuantificaron los niveles de NMDAr, no NMDAr, PSD-95 y SAP-102, en el estriado de ratones transgénicos de la EH (R6/1) con niveles normales de BDNF y R6/1 con niveles reducidos de BDNF (dobles mutantes: DM). Aunque a las 12 semanas de edad, tanto los R6/1 (presintomáticos) como los DM (sintomáticos) presentan una reducción similar de PSD-95, dicha disminución se acentúa en los DM a las 30 semanas (R6/1: 75 ± 12% y DM: 46 ± 9% respecto al control). Además, los DM de 12 y 30 semanas presentaron niveles reducidos de SAP-102 (76 ± 5% y 69 ± 6% respecto al control, respectivamente) y de la subunidad NR2b de los NMDAr a las 30 semanas (65 ± 7% del control). Interessantemente, estas alteraciones están acorde con la mayor resistencia de los DM a la lesión excitotóxica producida por la inyección intra-estriatal de un agonista NMDA. Nuestros resultados sugieren que el incremento de las alteraciones glutamatérgicas es un posible mecanismo por el cual la disminución de BDNF modula la severidad de la EH.

P219. TAUPATÍAS VS SINUCLEINOPATÍAS: AGREGACIÓN DE ALFA-SINUCLEÍNA EN LA ENFERMEDAD DE PICK (PID)

E. DALFÓ CAPELLA^A, A. MARTÍNEZ CASALS^B, I. FERRER ABIZANDA^C
^A CONTRATADO. FACULTAD DE MEDICINA, CAMPUS BELLVITGE, L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA. ^B BECARIA PRE-DOCTORAL. FACULTAD DE MEDICINA, CAMPUS BELLVITGE, L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA. ^C CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE NEUROPATOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, INSTITUT DE NEUROPATOLOGIA, L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA, ESPAÑA

La proteína presináptica alfa-sinucleína caracteriza a un amplio grupo de enfermedades neurodegenerativas llamadas sinucleinopatías. Forman parte de las sinucleinopatías la enfermedad de Parkinson, la demencia con cuerpos de Lewy o la atrofia multisistémica, encontrándose en estas tres patologías la interacción anómala de alfa-sinucleína con la proteína sináptica Rab3a. Así mismo también se ha hallado esta interacción en un modelo de ratón transgénico para la forma mutada humana de alfa-sinucleína (A30P), que caracteriza una forma familiar de la enfermedad de Parkinson. Esta interacción anómala, junto con la acumulación y posterior agregación de alfa-sinucleína podría tener sus consecuencias en la transmisión sináptica, tan afectada en este grupo de patologías. La proteína tau, de asociación a microtúbulos, está implicada en la patofisiología de un grupo de enfermedades neurodegenerativas llamadas tauopatías. La enfermedad de Pick (PiD) es una tauopatía caracterizada por una atrofia severa de los lóbulos temporal y frontal, que se acompaña de pérdida neuronal además de inclusiones intraneuronales inmunoreactivas para la proteína tau fosforilada, llamados cuerpos de Pick, presentes sobretodo en el hipocampo, amígdala, núcleo septal y capas superiores de la corteza entorrinal e isocorteca. En el siguiente trabajo demostramos la acumulación de alfa-sinucleína, así como el aislamiento bioquímico de oligómeros en la enfermedad de Pick. También demostramos que esta neurode-

17.09.05

generación, igual que otras sinucleinopatías presenta la interacción anómala de alfa-sinucleína con la proteína rab. Se establece así una relación entre taupatías y sinucleinopatías, hasta ahora muy separadas entre sí pero que podrían compartir mecanismos de neurodegeneración comunes.

P220. FACTOR DE CRECIMIENTO DEL HÍGADO COMO FACTOR DE PROLIFERACIÓN, MIGRACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE NEURALES Y SU POSIBLE UTILIDAD EN ENFERMEDAD DE PARKINSON

E. BAZÁN IZQUIERDO^A, D. REIMERS CERDÁ^A, A. SÁNCHEZ HERRANZ^A, J. J. DÍAZ GIL^B, R. GONZALO-GOBERNADO^A, R. ALONSO CABANILLAS^A, M. J. ASENSIO VEGA^A

^ANEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. ^BBIOQUÍMICA EXPERIMENTAL. CLÍNICA PUERTA DE HIERRO. MADRID, ESPAÑA

El factor de crecimiento de hígado (LGF) es un factor de proliferación y regeneración en distintos tipos celulares, y estudios preliminares fundamentan su posible uso en terapias neuroregenerativas. El objetivo del trabajo ha sido comprobar si el LGF estimula la proliferación celular y la neurogénesis en el modelo experimental en rata de enfermedad de Parkinson (EP) de lesión con 6-OHDA. La administración intraventricular de LGF incrementó la incorporación de bromodeoxiuridina (BrdU) y la expresión de los marcadores de células madre neurales (CMN) nestina y proteína ácida de la glía, observándose células doblemente marcadas para BrdU y nestina en la zona subventricular y el parénquima estriatal. Sin embargo, no se encontraron células BrdU-positivas/b tubulina III-positivas, sugiriendo que el LGF no es un factor neurogénico para las CMN de la zona subventricular. La infusión intraestriatal de LGF no afectó a la proliferación celular, pero aumentó significativamente el número de terminales tirosina hidroxilasa positivos en el estriado denervado y mejoró la conducta rotacional provocada por apomorfina. Las conclusiones son: 1) la infusión intraventricular de LGF estimula la proliferación y migración de las CMN; y 2) la infusión intraestriatal de LGF estimula la regeneración de los terminales dopaminérgicos dañados, lo que podría explicar la discreta mejoría conductual observada en estos animales.

P221. EXPRESIÓN DE MARCADORES MONOAMINÉRGICOS EN LA ENFERMEDAD DE LOS GRANOS ARGIRÓFILOS

A. MAZÓ RIERA^A, G. MENGOD^B, E. MARTÍNEZ^A, M. TOLNAY^C, P. ALPHONSE^C, R. CORTÉS^D

^ADEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA. ^DDEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA. BARCELONA.

^BDEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA. BARCELONA. ^CDEPT. NEUROPATHOLOGIE. INSTITUT FÜR PATHOLOGIE. UNIVERSITÄT BASEL. BASEL, SUIZA

FINANCIACIÓN: CICYT, SAF 2000-0212 Y SAF 2003- 02083

La enfermedad de los granos argirófilos (EGA) es una demencia de aparición tardía del tipo de las taupatías. Neuropatológicamente se caracteriza por la presencia en el neurópio de pequeños granos fusiformes de material argirófilo. Estos granos son abundantes en hipocampo, amígdala, corteza entorrinal e hipotálamo, y ocasionalmente se encuentran también en algunos núcleos del tronco encefálico como el rafe o el *locus coeruleus*. Existen pocos datos sobre cambios bioquímicos en la EGA. Nuestro objetivo ha sido analizar si en la EGA se producen alteraciones en los sistemas de neurotransmisores aminérgicos que pudieran sugerir dianas terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad. Como método, hemos utilizado la técnica de hibridación in situ para detectar los mRNAs del transportador de serotonina y de diversos enzimas que participan en la síntesis de monoaminas, en *substantia nigra*, *locus coeruleus* y *rafe* dorsal, en una muestra de tejidos procedentes de 9 pacientes con EGA, 11 pacientes con Alzheimer y 11 controles. Nuestros resultados no revelan mayores cambios en la expresión de tirosina hidroxilasa (TH) o aminoácido decarboxilasa (AADC) en las células dopaminérgicas de la *substantia nigra*, ni en TH, AADC y dopamina- β -hidroxilasa en las células noradrenergicas del *locus coeruleus*. En cambio observamos importantes disminuciones en la expresión de triptófano hidroxilasa, AADC, y transportador de serotonina en células serotoninérgicas del rafe dorsal, en comparación con los grupos control y Alzheimer. En conclusión, estos datos sugieren una disfunción del sistema serotoninérgico en la EGA.

P222. MODIFICACIONES EN LA RETINA INTERNA DE UN MODELO MURINO DE RETINOSIS PIGMENTARIA

M. MARCHENA FERNÁNDEZ^A, E. HERNÁNDEZ GALILEA^B, J. AIJÓN NOGUERA^A, J. LARA PRADAS^A, A. VELASCO ARRANZ^A

^ADEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA. INSTITUTO DENEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA. ^BDEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA. HOSPITAL CLÍNICO DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: JCYL, MEC, FUNDALUCE Y FUNDACIÓN MEMORIA DE D. SAMUEL SOLÓRZANO BARRUSO

Los ratones con la mutación PCD (*purkinje cell degeneration*) sufren una lenta y progresiva degeneración de los fotorreceptores, comparable a la retinosis pigmentaria humana. El objetivo es analizar las modificaciones estructurales y neuroquímicas de las poblaciones neuronales y gliales de la retina interna durante la pérdida de los fotorreceptores ya que su estado es un factor determinante en la aplicación de estrategias terapéuticas. Se han usado ratones de la línea C57/BL6 portadores de la mutación PCD en homocigosis y ratones sin mutación como controles. Los animales fueron sacrificados con 60, 90, 180 y 270 días postnatales. Para el análisis de la glía se han utilizado anticuerpos contra la calbindina, glutamina sintetasa, GFAP y el MHCII y para las poblaciones neuronales contra PKC RT97, syntaxina y sinapsina. Las poblaciones de células gliales reaccionan intensamente. Tanto las células de Müller como los astrocitos se vuelven reactivos y cambian su patrón de expresión de GFAP y GS. La microglía experimenta un aumento notable de su número y aparecen entre los núcleos y los segmentos de los fotorreceptores. En cuanto a las neuronas, las bipolares pierden paulatinamente la expresión de PKC en sus penachos dendríticos. En el resto de poblaciones neuronales no se han encontrado diferencias significativas en el patrón de expresión de los marcadores proteicos usados. Concluimos que las neuronas de las capas internas presentan escasas modificaciones, mientras que las células gliales responden intensamente a la degeneración de los fotorreceptores.

P223. EFECTOS DEL PÉPTIDO BETA-AMILOIDE EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES COLINÉRGICOS Y DE GLUTAMATO EN EL HIPOCAMPO DE LA RATA

A. GONZALO-RUIZ^A, J. L. PÉREZ PÉREZ^B, J.M. SANZ^C, J. ARÉVALO^D

^ALABORATORIO NEUROANATOMÍA. INSTITUTO DENEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN, UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. SORIA. ^BLABORATORIO NEUROANATOMÍA. UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. CAMPUS DE SORIA (SORIA). ^CANATOMÍA PATOLÓGICA. ^DMEDICINA INTERNA. HOSPITAL PRÍNCIPE DE ASTURIAS. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

En los últimos años, en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer (EA) se ha implicado el sistema glutamatérgico, además de la reconocida disfunción colinérgica. En este trabajo se han analizado las modificaciones inducidas por el péptido beta-amiloide (bA) en la expresión de receptores de glutamato y nicotínicos en el hipocampo de la rata. Bajo anestesia general se realizaron microinyecciones de bA en la corteza cingular en el hemisferio izquierdo. Como control, se realizaron inyecciones de PBS en la corteza cingular en el hemisferio derecho. Tras periodos de supervivencia entre 4 y 14 días, los animales se sacrificaron y los cerebros se procesaron inmunocitoquímicamente para la visualización de las subunidades a7 del receptor nAChR, GluR1 y GluR2/3 del receptor AMPA y NR1 y NR2a/b del receptor NMDA. La lesión inducida por el depósito de bA determinó una marcada reducción en la inmunoreactividad ante la subunidad a7 en la región CA1 y en *subiculum*, y ante GluR2/3 en las regiones CA1-CA2, particularmente en la región CA2. Asimismo, se observó una ligera disminución en las subunidades GluR1 y NR2a/b, tanto en CA1 como en *subiculum*. Estudios de doble marcaje muestran que los receptores analizados se expresan principalmente en interneuronas, putativamente gabérgicas y parvalbúmina positivas, mientras que no se apreciaron en interneuronas inmunopositivas ante calbindina. Estos resultados sugieren un efecto del péptido bA en el patrón de secreción de receptores colinérgicos y de glutamato, que pueden tener un papel esencial en los cambios sinápticos asociados a la EA. Subvencionado por la JCYL 03/01.

17.09.05

P224. EXPRESIÓN DE HEMO OXIGENASA-1 COMO UN MARCADOR HISTOQUÍMICO PARA ESTADIOS TEMPRANOS DE LESIÓN ESTRIATAL

A. MUÑOZ PATIÑO, P. REY LÓPEZ, J. PARGA MARTÍN, J. RODRÍGUEZ PALLARES, M. J. GUERRA, J.L. LABANDEIRA GARCÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. LA CORUÑA, ESPAÑA

En el estriado normal, los niveles de hemooxigenasa-1 (HO-1) están por debajo de los límites de inmunodetección. En el estriado de ratas con diferentes tipos de lesiones que afectan a las células estriatales o a sus principales sistemas aferentes se realizó inmunohistoquímica para HO-1, tirosina hidroxilasa, serotonina, NeuN, marcadores gliales (GFAP, OX-6, OX-42) y FluoroJade (marcador de degeneración neuronal), para investigar si la sobreexpresión de HO-1 podría ser un marcador histoquímico útil para el daño estriatal. Inyecciones intraestriatales o intraventriculares de excitotoxinas que afectan a las neuronas estriatales (ácido iboténico) o de neurotoxinas que afectan las terminales estriatales aferentes dopaminérgicas (6-hidrodopamina) o serotoninérgicas (5,7-dihidroxitriptamina), o lesiones quirúrgicas de las proyecciones corticoestriatales indujeron inmunorreactividad (ir) para HO-1 en la glía 36 horas postlesión. Tras inyecciones intraestriatales de ácido iboténico, se observó una zona central de degeneración neuronal positiva para FluoroJade, con numerosas células redondas y pseudopódicas HO-1-ir que colocalizaban con OX-6 y OX-42, rodeada de un anillo de astrocitos HO-1-ir. Inyecciones intraventriculares de neurotoxinas indujeron HO-1-ir en astrocitos en áreas lesionadas o denervadas y células microgliales HO-1-ir en zonas sometidas a daño mecánico. De 1 a 3 semanas tras lesión, se reducía o desaparecía la HO-1-ir, aunque todavía se observaban algunas células después de las inyecciones intraestriatales de ácido iboténico o después de la deaferentización quirúrgica corticoestriatal. Estos resultados indican que la determinación de la HO-1-ir en la glía representa un marcador útil para estadios tempranos de lesión estriatal.

P225. CARACTERIZACIÓN NEUROQUÍMICA DE LAS NEURONAS DOPAMINÉRGICAS DEL ESTRIADO EN MACACOS INTACTOS, PARKINSONIANOS E IMPLANTADOS CON AGREGADOS CELULARES DE CUERPO CAROTÍDEO

W. SAN SEBASTIÁN RAMÍREZ^A, L. SALDISE ELIZONDO^A, J. GUILLÉN IZCO^A, M. MANRIQUE SMELA^B, I. MARCILLA GARCÍA^A, S. BELZUNEGUI RONCAL^A, A. IZAL AZCÁRATE^A, P. GARRIDO GIL^A, M. VÁZQUEZ CLAVERIE^A, M.R. LUQUIN PIUDO^A

^A LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DEL PARKINSON. CIMA-UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA-NAVARRA. ^B DEPARTAMENTO DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA. CLÍNICA UNIVERSITARIA DE NAVARRA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

Estudios recientes en macaco y humano, han demostrado la existencia de neuronas dopaminérgicas (DA) intrínsecas del estriado cuya funcionalidad se desconoce. Nuestro grupo ha descrito que el implante de agregados celulares de cuerpo carotídeo (ACCC) en estriado de macacos parkinsonianos induce un aumento del número de estas células. El objetivo de este estudio es caracterizar neuroquímicamente estas neuronas dopaminérgicas en diferentes condiciones experimentales. Se cuantificaron las neuronas DA del estriado en macacos intactos (I), macacos parkinsonianos (II) y macacos parkinsonianos con implante unilateral de ACCC (III). Mediante inmunofluorescencia doble se estudió la colocalización de TH con diversos marcadores estriatales (GAD67, nNOS, CaBP, CR, PV), DAT y GDNF. En todos los grupos de animales, el 80% de las neuronas resultaron ser TH/GAD67. Para el resto de marcadores, la proporción de colocalización se vio modificada de diferente manera en los grupos tratados (II y III), respecto a la obtenida en el grupo intacto (Tabla). Estos resultados sugieren que, la administración de MPTP y el implante de ACCC inducen un aumento del número de neuronas dopaminérgicas intrínsecas del estriado. Además, las características neuroquímicas de estas neuronas son diferentes entre sí y con relación al grupo control.

P226. LA INHALACIÓN CRÓNICA DE MPTP INDUCE PARKINSONISMO EN RATONES

A. I. ROJO SANCHÍS^A, C. MONTERO ÁLVAREZ^B, M. SALINAS LA ROSA^C, M. SALAZAR ROA^C, C. CAVADA MARTÍNEZ^D, A. CUADRADO PASTOR^C, R. DE SAGARRA CONDE^C

^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA, ^D DEPARTAMENTO MORFOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^B DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UAM. MADRID. ^C DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ESPAÑA

Estudios epidemiológicos sugieren que las toxinas medioambientales son un factor de riesgo en la adquisición de Parkinson idiopático. Sin embargo, esta hipótesis

Tabla P225. Porcentajes de colocalización de las neuronas dopaminérgicas del estriado con distintos marcadores.

	Intacto	MPTP	MPTP + implante	
			Contralateral	Homolateral
GAD ₆₇	75	79	74	82
nNOS	0	5,3	16,6	36,8
CaBP	0	40	31	21
CR	71	57	33	25
PV	20	23	25	30
DAT	62,5	50	18,2	22
GDNF	33,3	25	37,5	64

no está formalmente demostrada porque los modelos animales de laboratorio se basan en el desarrollo de un cuadro agudo mediante administración de la toxina por vía intraperitoneal o intravenosa. Este estudio pretende determinar si una toxina bien caracterizada, la 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), induce enfermedad de Parkinson cuando se administra crónicamente por una vía de entrada natural, como es la cavidad nasal. Ratones C57BL/6, inoculados intranasalmente con MPTP durante 30 días, desarrollaron deficiencias motoras similares a las que se producen mediante inyección intraperitoneal de MPTP. Estos animales presentaron una severa disminución en los niveles estriatales de dopamina, tirosina hidroxilasa y transportador de dopamina, consistente con la pérdida de neuronas dopaminérgicas en sustancia negra. Además, mostraron una fuerte reacción astrogliar, pero no se apreciaron agregados de alfa-sinucleína. Sin embargo, se observó una respuesta antioxidante en los somas de las neuronas dopaminérgicas en sustancia negra, caracterizada por una mayor inmunoreactividad para Mn-superóxido dismutasa, y en astrocitos con incremento en Nrf2 y hemooxigenasa-1. Este estudio presenta tres hallazgos importantes: 1) demuestra formalmente que la exposición ambiental crónica a toxinas parkinsonianas induce esta enfermedad mediante inhalación; 2) se ha generado un nuevo modelo crónico de desarrollo lento de la enfermedad de Parkinson en ratones, y 3) la inoculación intranasal de plaguicidas puede constituir un nuevo test de riesgo para evaluar su uso industrial.

P227. EFECTO PROTECTOR DE LOS PRODUCTOS FINALES DE GLICOSILACIÓN (AGES) Y SULFATO DE CONDROITINA SOBRE LA TOXICIDAD INDUCIDA POR EL PÉPTIDO Aβ1-42 EN CÉLULAS SH-SY5Y

J. PONCE TORRENT^A, S. REGOT RODRÍGUEZ DE MIER^A, J. CLOTET^A, N. CASALS^A, X. FERNÁNDEZ-BUSQUETS^B, N. DURANY PICH^C

^A ÁREA DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR. ^C ÁREA DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR. FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD. UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE CATALUÑA. SANT CUGAT DEL VALLÈS (BARCELONA). ^B CENTRE DE RECERCA EN BIOELECTRÓNICA I NANOCIÈNCIA. PARC CIENTÍFIC, UNIVERSITAT DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

La enfermedad de Alzheimer es una demencia que afecta aproximadamente 8-10 millones de personas en el mundo, principalmente, mayores de 65 años. A nivel molecular, se observa muerte neuronal localizada, asociada a la presencia de placas seniles extracelulares, constituidas fundamentalmente por agregaciones del péptido b-amiloide 1-42 (Ab1-42), y de estructuras neurofibrilares intracelulares, formadas por proteína tau hiperfosforilada. El presente estudio pretende determinar la toxicidad del Ab1-42 y el efecto de los productos finales de glicosilación (AGE) y sulfato de condroitina (SC) sobre dicha toxicidad. Como modelo experimental se ha utilizado la línea celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y. La viabilidad celular se ha valorado utilizando el ensayo de MTT. El estado de agregación del Ab1-42 en el medio de cultivo, en presencia de AGE y SC se ha detectado mediante *western blot*. Los resultados obtenidos demuestran que Ab1-42 (10 iM) es tóxico para las células (viabilidad = 60 ± 6,5%). No obstante, en presencia de AGE y SC, esta toxicidad se reduce. AGE (BSA (3 iM) + glucosa (1 mM)) protege en un 13,8 ± 8,5% la toxicidad del Ab1-42; AGE (BSA (3 iM) + fructosa (1 mM)) protege en un 9,6 ± 6,2%; y el sulfato de condroitina (0,5 mg/mL) protege en un 13,0 ± 6,8%. Así mismo, demostramos que la presencia de AGE en el medio de cultivo, favorece la agregación del Ab1-42 y reduce la forma monomérica. La disminución de toxicidad de Ab1-42 observada en presencia de AGEs y sulfato de condroitina, sustancias que favorecen la agregación del péptido, sugiere que el Ab1-42 monomérico es más neurotóxico que en estado agregado.

17.09.05

P228. LA ACUMULACIÓN DE PROTEÍNAS EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO INDUCIDA POR EXCITOTOXICIDAD CRÓNICA CON NMDA PRODUCE UNA NEURODEGENERACIÓN AUTOFÁGICA ESPECÍFICA DE LAS MNS

O. TARABAL-MOSTAZO, J. CALDERÓ-PARDO, C. CASAS-HERRANZ, J. ESQUERDA-COLELL

DEPARTAMENT DE CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES. UNIVERSITAT DE LLEIDA. LLEIDA, ESPAÑA

Resultados previos de nuestro laboratorio demostraron que el tratamiento crónico con NMDA (E5-E9) en embriones de pollo rescata las motoneuronas (MN) de la médula espinal de la muerte celular programada. Además, después del tratamiento crónico, las MN están protegidas de la muerte excitotóxica. Posteriormente observamos que esas MN desarrollan cambios que incluyen alteraciones en el tráfico de membranas y otras patologías similares a las descritas en algunas enfermedades degenerativas como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En este estudio ampliamos los resultados previos mostrando que la agregación de proteínas en el retículo endoplasmático (RE) no induce de forma apreciable la muerte celular de las MN, pero si una respuesta autofágica que conduce a la degeneración de la MN a largo plazo, produciendo disfunción celular aunque no la muerte inmediata de las células. El tratamiento crónico con NMDA determina, además, una resistencia a la muerte celular provocada por diversos estímulos, sugiriendo, que el bloqueo de la traducción de proteínas en el RE sometido a estrés, podría inhibir la apoptosis en las MN tratadas con NMDA. Estos resultados representan un nuevo modelo de neurotoxicidad mediada por el receptor de glutamato que selectivamente afecta a las MN de la médula espinal. Mostramos un sistema experimental útil para comprender los mecanismos involucrados en la degeneración crónica de las MN y en algunas alteraciones citoplasmáticas propias de la MN en la enfermedad de la ELA, como son los cuerpos de inclusión.

P229. FRECUENCIA Y GRAVEDAD DE LOS SÍNTOMAS CONDUCTUALES Y PSICOLÓGICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

J.M. GARCÍA-ALBERCA^A, M. BERTHIER TORRES^B, S. GONZÁLEZ BARÓN^C, J.P. LARA MUÑOZ^D

^A DEPARTAMENTO DE PSIQUIATRÍA. CENTRO CLÍNICO LOS NARANJOS. MÁLAGA.

^B CONSULTA DE REHABILITACIÓN DEL LENGUAJE. ^D UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA HUMANA. CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO-SANITARIAS (CIMES), UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^C UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA HUMANA. CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO-SANITARIAS (CIMES), UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

Los síntomas psicológicos y conductuales son muy frecuentes en la enfermedad de Alzheimer (EA). Son escasos los trabajos orientados a su estudio en población española. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la frecuencia y gravedad de estos síntomas en un grupo de 125 pacientes diagnosticados con EA (criterios NINCDS-ADRDA) procedentes de diferentes centros asistenciales de Málaga y evaluados en la Unidad de Demencias del Centro Clínico Los Naranjos. La evaluación del deterioro funcional se realizó mediante la Funcional Assessment Staging (FAST, Reisberg, 1988); los sujetos pertenecían a los estadios 4 (42 sujetos, 34%), 5 (33 sujetos, 26%) y 6 (50 sujetos, 40%). La evaluación de los síntomas psicológicos y conductuales se realizó mediante el Neuropsychiatric Inventory (NPI, Cummings et al, 1994). 122 pacientes (98%) presentaron síntomas psicológicos y conductuales. La frecuencia de su presentación fue la siguiente: apatía (75%), irritabilidad (66%), depresión (60%), agitación (55%), ansiedad (54%), actividad motora aberrante (47%), delirios (38%), alteraciones del sueño (36%), desinhibición (29%), alteraciones del apetito (28%), alucinaciones (20%) y euforia (4%). La frecuencia e intensidad en la gravedad de los síntomas conductuales y psicológicos resultó significativamente mayor cuanto más alto era el estadio de la FAST en que los pacientes se encontraban ($p < 0,01$ en todos los casos, ANOVA). Estos resultados demuestran la alta incidencia de los síntomas conductuales en los pacientes con EA y muestran la necesidad de tratar adecuadamente estas alteraciones.

P230. LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DEL ENZIMA HIDROLASA UBIQUITINA CARBOXITERMINAL 1 (UCHL-1) ESTÁN DISMINUIDOS EN LA DEMENCIA DE CUERPOS DE LEWY: IMPLICACIÓN EN LAS α -SINUCLEOPATÍAS

M. BARRACHINA^A, E. CASTAÑO^B, E. DALFÓ^A, T. MAES^C, C. BUESA^D, I. FERRER^E

^A DOCTORA. ^E DOCTOR. INSTITUT DE NEUROPATOLOGIA-HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE. L'HOSPITALET DE LLOBREGAT. ^B DOCTORA. SERVEIS CIENTÍFICOTÈCNICS-UNITAT DE BIOLOGIA-CAMPUS BELLVITGE-UNIVERSITAT DE BARCELONA. L'HOSPITALET DE LLOBREGAT. ^C DOCTORA. ORYZOGENOMICS-PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA. BARCELONA. ^D DOCTOR. DEPT. BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR-FACULTAT DE FARMACIA-UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

La enfermedad de Parkinson (PD) y la demencia de cuerpos de Lewy (DLB) se caracterizan por la acumulación de la α -sinucleína y ubiquitina en los agregados proteicos llamados cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy. El enzima hidrolasa ubiquitina carboxiterminal 1 (UCHL-1) participa en el sistema de degradación proteica del proteosoma (UPS) donde las proteínas marcadas con colas de ubiquitina son degradadas. Este enzima hidroliza las cadenas de ubiquitina resultantes permitiendo así la disponibilidad de ubiquitina monomérica libre y favoreciendo la degradación proteica. Estudios de ADN *microarrays*, confirmados mediante PCR TaqMan y Western Blot, muestran una disminución de los niveles de expresión de UCHL-1 en muestras *post mortem* de córtex frontal de pacientes con DLB (tanto en la forma pura, DLBp, como en la forma común, DLBc, asociada a cambios de Alzheimer) respecto al grupo control. En el córtex frontal de pacientes con PD no se observa cambios en los niveles de expresión de este enzima. Sin embargo, en el bulbo de estos pacientes los niveles de UCHL-1 también están disminuidos. La disminución en los niveles de expresión de UCHL-1 no está asociada a la disminución de varias proteínas relacionadas con el UPS, como las subunidades 20SX, 20SY, 19S y 11Sa. Estos resultados nos muestran una reducción de los niveles de UCHL-1 en las regiones cerebrales con presencia de cuerpos de Lewy. Por tanto, una expresión reducida de UCHL-1 podría contribuir a una agregación proteica anormal, siendo UCHL-1 una diana terapéutica potencial en el tratamiento de las α -sinucleinopatías.

P231. TRANSGENESIS CONDICIONAL CON UNA FORMA DOMINANTE NEGATIVA DE GSK-3BETA COMO HERRAMIENTA PARA ESTUDIO DE LA INHIBICIÓN SOSTENIDA DE GSK-3

R. GÓMEZ SINTES^A, F. HERNANDEZ PEREZ^B, J. AVILA DE GRADO^C, J. P. GOTTELAND^D, P. ZARATIN^E, J. J. LUCAS LOZANO^F

^A CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR. ^C CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID/CSIC. CANTOBLANCO. ^B CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID/CSIC. CANTOBLANCO, MADRID. ^D SERONO PHARMACEUTICAL RESEARCH INSTITUTE. SERONO. GENEVA, SWITZERLAND. ^E ISTITUTO DI RICERCA BIOMEDICA 'A. MARXER'. LCG-RBM/SERONO DISCOVERY. COLLERETTO GIACOSA, ITALIA. ^F CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. CSIC/UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. CANTOBLANCO, MADRID, ESPAÑA

Hay evidencias de que la glucógeno sintasa cinasa-3beta (GSK-3beta) participa en la etiología de la enfermedad de Alzheimer (EA): a) GSK-3beta fosforila tau en la mayoría de los sitios hiperfosforilados en la EA. b) La toxicidad del beta-amiloide (Abeta) sobre neuronas en cultivo es mediada por GSK-3beta. c) GSK-3beta interacciona directamente con Presenilina-1 (PS-1) y las mutaciones en PS-1 aumentan esta asociación. d) La actividad GSK-3 modula la producción de Abeta desde su proteína precursora APP. Se ha propuesto, por tanto, que la inhibición farmacológica de GSK-3 podría ser de utilidad terapéutica en la EA así como en otras patologías que también se asocian a una elevada actividad GSK-3 tales como la diabetes tipo 2. El estudio mediante abordaje genético de la inhibición sostenida de la actividad GSK-3 se ha visto dificultado por la letalidad embrionaria de los ratones *knock-out* carentes de GSK-3beta. Como abordaje alternativo para evitar esta letalidad embrionaria, y además poder restringir la inhibición sostenida de GSK-3 a determinados tejidos, hemos generado ratones transgénicos con la secuencia GSK-3beta (K85R) bajo el control del promotor inducible por tetraciclina. La mutación K85R resulta en una forma dominante negativa de GSK-3beta (DN-GSK-3). El cruce de estos ratones con distintas cepas de ratones que expresan el transactivador de tetraciclina (TA = Tet-Off), permitirá explorar el efecto de la inhibición sostenida de GSK-3 en aquellos tejidos que expresen el transactivador. Además, frenando la expresión del transgen mediante la administración de tetraciclinas, será posible analizar si los potenciales efectos de la inhibición sostenida son reversibles.

17.09.05

P232. PAPEL DE LA INFLAMACIÓN EN EL DAÑO AXONAL EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: EFECTO DE LOS CANALES DE SODIO Y MARCADORES DE INTEGRIDAD AXONAL

B. MORENO BRUNA ^A, Z. GONZÁLEZ ^B, B. FERNÁNDEZ DIEZ ^C, T. TUÑÓN ^D, P. VILLOSLADA DÍAZ ^E

^A BECARIA PREDOCTORAL. CENTRO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA (CIMA)-UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA (NAVARRA). ^B ESTUDIANTE EN PRÁCTICAS. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. ^C TÉCNICO LABORATORIO. CENTRO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA-UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. ^D DOCTORA. HOSPITAL DE NAVARRA. PAMPLONA. ^E DOCTOR NEUROLOGÍA. CIMA-CLÍNICA UNIVERSITARIA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

Objetivos. Identificar los mecanismos implicados en el daño axonal secundario a la inflamación crónica para estudiar las dianas terapéuticas que nos sirvan como tratamientos preventivos de muerte neuronal y daño axonal en enfermedades neurodegenerativas. **Material y métodos.** Muestras de cerebro de pacientes con esclerosis múltiple. Las lesiones de EM fueron clasificadas mediante Luxol en, agudas, crónicas-activas y crónicas-inactivas. Para estudiar la integridad axonal, distribución de canales de sodio y actividad inflamatoria, se realizaron inmunohistoquímicas en muestras parañinadas con: anti-CD3, anti-CD20, anti-CD68, anti-GFAP, anti-APP, anti-Nav 1.2 y anti-Nav 1.6, y anti-iNOS. **Resultados y conclusiones.** Se identificaron lesiones crónicas-activas e inactivas. En las activas se observaron infiltrados linfocitarios CD3+ y escasos CD20, mayor expresión de marcadores de activación microglial (CD68) y mediadores inflamatorios (iNOS). Las inactivas eran hipocelulares, con escasa densidad de axones, desmielinizadas y con astrogliosis. Incremento de canales Nav 1.2 y Nav 1.6 en axones desmielinizados en placas crónicas-activas y en menor grado en las inactivas. La expresión Nav 1.2 era difusa en el área desmielinizada y la de Nav 1.6 asociada con expresión de APP en axones. En conclusión, la presencia de infiltrados inflamatorios se asocia con la expresión de mediadores inflamatorios, desmielinización y pérdida axonal parcial. La desmielinización crónica se asocia con redistribución de los canales de sodio y la expresión de canales Nav 1.6 se asocia a mayor transacción axonal. Esto sugiere que existen mecanismos compensadores del daño inducido por mediadores inflamatorios para restablecer la conducción axonal, pero a largo plazo dicha estrategia fracasa y lleva a pérdida axonal.

P233. PERMEABILIDAD A LA PEROXIDASA EN EL EPÉNDIMO DE ANIMALES HIDROCEFÁLICOS MUTANTES HYH

R. ROALES-BUJAN ^A, P. PÁEZ ^B, A. J. JIMÉNEZ ^B, E. M. RODRÍGUEZ ^C, J. PÉREZ-FIGARES ^B

^A DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^C INSTITUTO DE HISTOLOGÍA Y PATOLOGÍA. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. VALDIVIA, CHILE.

FINANCIACIÓN: FIS PI 030756 Y RED CIEN C/0306 INSTITUTO DE SALUD CARLOS III Y SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

El epéndimo del cerebro adulto regula el transporte de iones, pequeñas moléculas y agua entre el líquido cefalorraquídeo (LCR) y el parénquima neural, constituyendo la barrera encéfalo-LCR. En diversos modelos animales se ha observado que la desaparición del epéndimo en adultos o del neuroepitelio en fetos, es clave en el origen de la hidrocefalia, tanto espontánea como experimental. Los ratones mutantes *hyh* presentan una hidrocefalia congénita causada por la pérdida de la capa endimaria en amplias zonas de la superficie ventricular. La pérdida del epéndimo o del neuroepitelio induce la aparición de una cicatriz astrogliar que origina una nueva barrera en sustitución de la barrera endimaria. La permeabilidad de estas barreras es poco conocida, y su estudio es importante ya que puede contribuir al desarrollo de la hidrocefalia. La permeabilidad se ha estudiado usando inyecciones intraventriculares de peroxidasa, al 3%, en ratones postnatales (P3, P8, P14 y P30) normales e hidrocefálicos. Los resultados muestran: a) El neuroepitelio y la cicatriz astrogliar son prácticamente impermeables a la peroxidasa, mientras que el epéndimo maduro es muy permeable, esto sugiere la existencia de diferencias en las uniones celulares. b) La pérdida del neuroepitelio implica la pérdida del aislamiento entre el parénquima neural y el LCR. c) Persisten zonas de epéndimo maduro que no se pierden y que presentan la misma permeabilidad que el neuroepitelio, por lo que podrían constituir poblaciones endimarias singulares.

P234. EFECTO DE LA MELATONINA, SU METABOLITO Y ANÁLOGOS SINTÉTICOS SOBRE LA ACTIVIDAD nNOS/iNOS NI-GROESTRIAL EN EL MODELO DE PARKINSON INDUCIDO POR MPTP EN RATONES

V. TAPIAS MOLINA ^A, G. ESCAMES ^B, J. LEÓN LÓPEZ ^C, D. ACUNA-CASTROVIEJO ^B

^A DEPARTAMENTO FISIOLÓGIA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. GRANADA. ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. GRANADA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: PI04/1447, GO3/137 Y SAF01/3191

Objetivos. Evaluar el potencial neuroprotector de la melatonina, su metabolito, n-acetil-5-metoxikinurenamina (AMK) y algunos compuestos estructuralmente relacionados con ambos sobre la actividad nNOS/iNOS en estriado (ST) y sustancia negra (SN), en el modelo de parkinson inducido por MPTP. **Métodos.** Se emplearon ratones C57/BL/6 normales y *knockout* para iNOS (8-12 semanas), que se inyectaron con vehículo, MPTP y MPTP más compuesto a analizar. Los animales se sacrificaron a las 24h y se extrajeron ST y SN, los cuales se homogeneizaron para preparar fracciones citosólicas y mitocondriales. Las actividades nNOS e iNOS se midieron en citosol, y en mitocondria se determinaron la actividad MTNOS, niveles de NO, peroxidación lipídica (LPO) y actividad del complejo I (CI). **Resultados.** El MPTP aumenta la actividad iNOS y MTNOS en SN, pero no en ST, junto con un aumento de NO y LPO, y un descenso del CI. la melatonina y el AMK contrarrestan la actividad iNOS, MTNOS y estrés oxidativo en SN, restaurando la función mitocondrial. Algunos compuestos muestran mayor actividad que la melatonina en este modelo experimental. Los ratones deficientes para iNOS son resistentes al MPTP. **Conclusiones.** El MPTP induce un aumento de la actividad MTNOS y producción de NO, conduciendo a estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. La melatonina y el AMK se comportan como agentes neuroprotectores endógenos y son susceptibles de ser usados como herramientas farmacológicas. El análisis estructura-función de los compuestos sintéticos estudiados nos permiten asimismo identificar la estructura activa y su farmacóforo.

P235. POSIBLE IMPLICACIÓN DE LA NEUROINFLAMACIÓN EN LOS PROCESOS NEURODEGENERATIVOS OBSERVADOS DURANTE EL PROCESO NORMAL DE ENVEJECIMIENTO Y EN MODELOS DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

S. JIMÉNEZ MUÑOZ ^A, E. REVILLA ^B, M. GAVILAN ^C, C. CABALLERO ^C, B. RAMOS ^C, J.C. DEL RÍO ^C, M. VIZUETE ^C, A. CASTAÑO ^C, D. BAGLIETTO-VARGAS ^D, I. MORENO-GONZÁLEZ ^E, J.F. LÓPEZ-TÉLLEZ ^F, C. SANTAMARÍA ^C, Z. KHAN ^G, A. GUTIÉRREZ ^H, D. RUANO ^C, J. VITORICA ^A

^A DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y MED. LEGAL. ^B DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y MED. LEGAL. ^C DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y MED. LEGAL. FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^D DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^E DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^F DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^G CIMES/DEPT. MEDICINA. ^H DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

La degeneración de las neuronas gabérgicas que expresan somatostatina constituye uno de los procesos neurodegenerativos comunes observados durante el envejecimiento normal y en modelos tg de la enfermedad de Alzheimer (AD). Entre las posibles causas implicadas en este proceso neurodegenerativo se encuentra la neuroinflamación. En este trabajo hemos analizado la expresión de proteínas marcadoras de los procesos neuroinflamatorios en hipocampo de ratas adultas (6 y 12 meses) y viejas (24 meses de edad), así como en ratones dobles *tg*s PS1xAPP de 2, 4 y 6 meses de edad. Los resultados obtenidos demuestran la existencia de un proceso neuroinflamatorio dependiente de la edad, en ambos modelos. En concreto, hemos observado una inducción en la expresión de proteínas marcadoras de la activación de la microglía (Mac-1, Mac-2 e Iba-1), indicando la existencia de activación microglial. En paralelo, también hemos observado un aumento en la expresión de citocinas (III-beta, TNF-alfa), así como un aumento en la expresión de iNOS. Además, existe una buena relación entre la expresión de citocinas y/o la expresión de iNOS y la disminución en la expresión de somatostatina, en los diferentes modelos estudiados. Por otra parte, estudios de inmunocitoquímica demuestran que la localización de la microglía activada coincide morfológicamente con la localización de las neuronas somatostatina positivas, indicando la posible existencia de una relación causa-efecto entre ambos procesos.

17.09.05

P236. INMUNOLocalización de la proteína precursora del β -amiloide (APP) en neuronas de hipocampo N. ANABITARTE GONZÁLEZ^A, V. ALONSO ESPINACO^A, X. MECKLER^B, A. HÉMAR^B, P. GRANDES MORENO^A

^ADEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLÓGIA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA, BIZKAIA, ESPAÑA. ^BPHYSIOLOGIE CELLULAIRE DE LA SYNAPSE. INSTITUT FRANÇOIS MAGENDIE. UNIVERSITÉ VICTOR SEGALÉN-BORDEAUX 2. BURDEOS, FRANCIA

FINANCIACIÓN: FONDO PARA LA COOPERACIÓN AQUITANIA-EUSKADI 2004; MCYT, BF12002-01474; UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO, 9/UPV12.327- 14442/2002

El proceso proteolítico de la proteína precursora del beta-amiloide (APP) conlleva a la producción de beta-amiloide, el cual se acumula en el cerebro de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, se conoce poco sobre la función normal del APP. Estudios recientes han demostrado la interacción de APP con proteínas motoras para el transporte axonal de beta-secretasa y presenilina-1. Un buen conocimiento de la distribución de APP sería de especial interés para entender su función en tejido cerebral normal. En este estudio usamos hipocampos de ratas fijadas por perfusión, procesados posteriormente con métodos inmunocitoquímicos de inmunoro en combinación con un anticuerpo policlonal específico frente al terminal carboxilo de APP (Synaptic Systems, Göttingen, Alemania). También usamos sinaptosomas y fracciones sinápticas con el fin de identificar los compartimentos subsinápticos que acumulan APP. Nuestros resultados preliminares muestran una distribución de APP en el citoesqueleto de axones y dendritas en la región CA3 del hipocampo. No aparece marcado en las mitocondrias. También hay inmunopartículas en membranas de dendritas y terminales sinápticos. Estos hallazgos ultraestructurales coinciden con el enriquecimiento de APP observado en fracciones presinápticas y postsinápticas de sinapsis de hipocampo adulto. La distribución preferencial de APP en determinados compartimentos neuronales puede ser clave en la función de esta proteína en el hipocampo.

P237. ESTUDIO CITOLÓGICO COMPARATIVO DEL ÓRGANO EXTRAADRENAL DE ZUCKERKANDL Y MÉDULA ADRENAL: TRASPLANTE DE CÉLULAS EXTRAADRENAL EN RATAS VIEJAS PARKINSONIANAS

B. GALÁN-RODRÍGUEZ, S. RAMIRO, F. EL BANOUA, A. DEL MARCO, J. A. FLORES, E. FERNÁNDEZ-ESPEJO

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA MÉDICA Y BIOFÍSICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA, ESPAÑA

En nuestro laboratorio se ha desarrollado una novedosa técnica basada en trasplante de células cromafines extraadrenales del órgano de Zuckerkandl (OZ), que ejercen un efecto neurorestaurativo en parkinsonismo animal (liberan GDNF). Con el fin de caracterizar dichas células extraadrenales y diferenciarlas de las células cromafines de la médula adrenal (MA), se han realizado estudios citológicos de ambos órganos. Además, se ha ensayado el trasplante de agregados celulares de OZ viejo en ratas viejas (18 meses) para comprobar si la eficacia antiparkinsoniana se mantiene con la vejez. El OZ de la rata contiene células cromafines noradrenérgicas que ocupan el 20% del órgano aunque, como tejido ectópico, un porcentaje del 22% de OZ extirpados no poseen células TH+. Las cromafines de MA (adrenérgicas y noradrenérgicas) ocupan >90% del tejido. Numerosas cromafines extraadrenales expresan los factores GDNF y TGF-beta1, mientras que las cromafines de MA no los expresan. Este hecho podría ser decisivo respecto a la mayor eficacia neurorestaurativa de las cromafines extraadrenales del OZ, pues el GDNF es un factor neurotrófico con capacidad protectora de neuronas dopaminérgicas. Los trasplantes con células viejas no son eficaces, pues la sintomatología de ratas viejas parkinsonianas (modelo unilateral de la 6-OHDA) no disminuye tras el trasplante. El estudio citológico de las células extraadrenales viejas revela que mantienen la expresión de GDNF y TGF-beta1, y la única diferencia detectada es una menor cantidad de tejido cromafín (5%), más disperso, y una mayor fibrosis. Estos hechos podría influir en la baja eficacia del trasplante de OZ viejo.

P238. PLASMA SEMICARBAZIDE SENSITIVE AMINE OXIDASE (SSAO) IS ELEVATED IN ALZHEIMER DEMENTIA: CORRELATION WITH THE NEUROLOGICAL DISORDER SEVERITY

M.M. HERNÁNDEZ GUILLAMÓN^A, M. UNZETA^A

^ADEPT. BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES. UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

Introduction. Semicarbazide sensitive amine oxidase (SSAO) metabolizes oxidative deamination of primary aromatic and aliphatic amines. The final products of its catalysis, ammonia, hydrogen peroxide and the corresponding aldehyde, may contribute to diseases involving vascular degeneration. SSAO is selectively

expressed in blood vessels in the brain, but is also present in blood plasma. We have previously reported that membrane bound SSAO is overexpressed in the cerebrovascular tissue of Alzheimer's disease (AD) patients. The aim of the present work is to study whether the circulating SSAO is also altered in this neurodegenerative disease. *Methods.* All patients were suffering sporadic Alzheimer dementia, distributed according to the Global Deterioration Scale (GDS): Age-matched control cases ($n=23$), mild ($n=33$), moderate ($n=14$), moderate-severe ($n=15$) and severe dementia ($n=19$). SSAO activity was determined radiochemically towards [14C]-benzylamine as substrate. Beta-amyloid (Abeta) (40-42) immunoreactivity in plasma samples was also assessed. *Results.* The experimental data showed a clear increase of plasma SSAO activity ($p < 0.001$) in moderate-severe and severe AD patients, with patient age being an independent correlative factor. However, plasma SSAO activity was not altered in AD patients with mild or moderate dementia compared to controls. No correlation was observed between beta-Amyloid (Abeta) (40-42) levels and the dementia severity or plasma SSAO activity. *Conclusion.* Our results suggest that an increase in circulating SSAO activity could contribute to oxidative stress and vascular damage in advanced Alzheimer's disease.

P239. LA OXIDACIÓN DE LA METILAMINA INDUCE CITOTOXICIDAD EN CÉLULAS A7r5 TRANSFECCIONADAS DE FORMA ESTABLE CON LA VAP-1/SSAO HUMANA

M. SOLE PIÑOL^A, M. HERNÁNDEZ GUILLAMÓN^A, M. UNZETA LÓPEZ^A

^ADEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES. UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivos. Este trabajo pretende estudiar si la forma humana del enzima VAP-1/SSAO es capaz de producir un efecto tóxico en células de músculo liso mediante la oxidación de su sustrato fisiológico, la metilamina. La actividad SSAO plasmática se encuentra incrementada en enfermedades que cursan con complicaciones vasculares (angiopatía amiloidea cerebral asociada a la enfermedad de Alzheimer) y se ha postulado la hipótesis de que dicho enzima pudiera estar implicado en el daño vascular a través de sus productos de catálisis: H₂O₂ i formaldehído. *Materiales y métodos.* Para la transfección estable de la línea celular A7r5 (células de músculo liso de aorta de rata) se utilizó el cDNA de la proteína humana VAP-1/SSAO insertada en el vector pcDNA3.1, con el método de transfección FuGene6 y selección con el antibiótico geneticina. Para la caracterización de las células hVAP-1/A7r5 se determinó la presencia de VAP-1 mediante Western Blot y su actividad por el método radiométrico frente a benzilamina como sustrato. Se determinó la viabilidad celular mediante reducción de MTT en tratamientos con sustratos e inhibidores del enzima. *RESULTADOS:* Las células hVAP-1/A7r5 mantienen la expresión y actividad de la proteína sobreexpresada. Cuando las células hVAP-1/A7r5 son incubadas en presencia de su sustrato fisiológico, la metilamina, observamos una citotoxicidad que se revierte pretratando las células con inhibidores específicos de la VAP-1: la semicarbazida y el MDL72974A. *CONCLUSIÓN:* Los resultados obtenidos nos sugieren que en patologías donde la actividad VAP-1/SSAO está incrementada, dicho enzima podría contribuir al daño vascular a través de su propia acción catalítica.

P240. EL TRATAMIENTO CON PF9601N ATENUA LA TOXICIDAD INDUCIDA POR MPP+, TUNICAMICINA Y BREFELDINA A EN CÉLULAS DOPAMINÉRGICAS TIPO SH-SY5Y

E. SANZ IGLESIAS, M. UNZETA LÓPEZ

DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES. UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

La patogénesis de la enfermedad de Parkinson (EP) se encuentra vinculada a la muerte celular inducida por disfunciones en la cadena de transporte mitocondrial y estrés del retículo endoplasmático (RE) en células dopaminérgicas. Es por este motivo que estrategias que protejan las células de agentes que induzcan disfunciones mitocondriales o estrés reticular pueden tener un potencial uso terapéutico en el tratamiento de esta enfermedad. El PF9601N [N-(2-propinil)-5-(benziloxiindol) metilamina] es un inhibidor de la MAO-B que ha demostrado capacidad neuroprotectora frente a diferentes modelos de toxicidad dopaminérgica *in vivo* (Prat et al 2000, Cutillas et al 2002, Pérez et al 2003). En este estudio presentamos como el PF9601N es capaz de atenuar la muerte inducida por MPP+, un potente inhibidor del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, y tunicamicina y brefeldina A, dos agentes capaces de generar estrés del RE, en células dopaminérgicas tipo SH-SY5Y. La capacidad neuroprotectora del PF9601N se ha evaluado mediante ensayos de viabilidad (MTT), estudio de la expresión/activación de proteínas implicadas en la muerte apoptótica (caspasa-3, PARP) y proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas de la familia Bcl-2) y proteínas implicadas en la respuesta al mal plegamiento de proteínas (UPR), tales como eIF-2alfa, GRP78 o GADD153, indicadoras de estrés

reticular. Los resultados obtenidos sugieren que el PF9601N es capaz de interferir en el proceso de muerte inducido en células dopaminérgicas por disfunciones mitocondriales y acumulación de proteínas mal plegadas en el RE.

P241. LA ACTIVACIÓN DE P53 Y SU GEN DIANA PROAPOPTÓTICO, PUMA, DURANTE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR DESPOLARIZACIÓN EN CÉLULAS CROMAFINES

M.F. GALINDO, M. GÓMEZ-LÁZARO, F.J. FERNÁNDEZ-GÓMEZ, J. JORDÁN
CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF2002-04721 DE CICYT, 04005-00 DE JUNTA DE COMUNIDADES DE CASTILLA LA MANCHA, CONSEJERÍA DE SANIDAD AND SEF-ALMIRALL. M.F.G., M.G.-LYF.J. F.-G. SON BECARIOS DE JCCM

La patogénesis de la muerte celular no glutamatérgica inducida por despolarización permanece todavía sin dilucidar. Recientemente, hemos mostrado que veratridina induce apoptosis en células cromafines, así como los efectos protectores de fármacos antioxidantes en este modelo. p53 mantiene la integridad del genoma por dos mecanismos, el primero implica la parada de la progresión del ciclo celular y el segundo la inducción de la muerte de celular. En este trabajo examinamos la contribución de p53 y la ruta apoptótica mitocondrial en la muerte celular inducida por veratridina en cultivos de células cromafines bovinas. La exposición a veratridina 30 microM durante 60 minutos indujo cambios nucleares como condensación y fragmentación de la cromatina. Estos procesos apoptóticos se asociaron con un aumento transitorio en los niveles proteicos de p53. Veratridina indujo la transcripción de una diana proapoptótica de p53, PUMA, pero no de bax o pig3. Experimentos de trasfección transitoria revelaron que la expresión de p53, pero no de otros genes reguladores del ciclo celular, es suficiente para inducir muerte celular en células cromafines, mediante mecanismos de señalización mediados por caspasa-9. La anulación tanto de p53 como de caspasa-9 protegió a las células cromafines frente a veratridina. Nuestros datos muestran la importancia de p53 y de la activación de la ruta mitocondrial apoptótica en la apoptosis inducida por despolarización.

P242. ENSAYO TERAPÉUTICO EN EL MODELO DE RATÓN FMRI KNOCKOUT

S. ROMERO-ZERBO, R. EL BEKAY, I. DEL ARCO, F.J. BERMÚDEZ-SILVA, J.M. DECARA, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA, Y. DE DIEGO OTERO
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN IMABIS. MÁLAGA, ESPAÑA

El síndrome X Frágil es la discapacidad mental hereditaria más frecuente. La mutación por expansión de trinucleótidos CGG del gen FMRI, es la causa en 1/2.500 varones y 1/4.000 mujeres, por ausencia de la proteína FMRP. Las características más frecuentes del síndrome son discapacidad mental, anomalías faciales, macroorquidismo, displasia del tejido conjuntivo, otitis recurrentes, autismo, hiperactividad y convulsiones. El exceso de cortisol y la falta de integración del eje HPA se observa implicado en la aparición del fenotipo. Niveles altos de hormonas suprarrenales se sabe que conduce a un estado de daño celular, induciendo alteraciones en comportamiento, aprendizaje. En este estudio utilizamos el ratón nulo del gen Fmr1 (FMRI-KO) como modelo para determinar posibles alteraciones fisiopatológicas y para realizar ensayos con tratamientos neuroprotectores por vía intraperitoneal. Se han realizado estudios de comportamiento, del estado oxidativo tisular y de los niveles de glucocorticoides en suero. En el ratón FMRI-KO el ciclo redox del glutatión, la peroxidación lipídica (TBARS) y el nivel de corticosterona se encuentran alterados. Los tratamientos con tocoferol, melatonina y tocoferolcisteína normalizan los distintos parámetros estudiados, así como la locomoción y la ansiedad. Las conclusiones de este estudio se apoyarían en una respuesta adaptativa inadecuada y patológica al estrés, con una elevada respuesta corticoadrenal, causando manifestaciones patológicas como hiperactividad y ansiedad en el ratón modelo. Estas alteraciones pueden normalizarse utilizando un tratamiento neuroprotector. Los resultados positivos de este ensayo abren una puerta de tratamiento para paliar el síndrome X frágil.

P243. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD NEUROPROTECTORA DE DIFERENTES I-ACHE EN UN MODELO CELULAR NEURODEGENERATIVO

E. ARIAS PÉREZ, R. LEÓN MARTÍNEZ, M. VILLARROYA SÁNCHEZ, A. GARCÍA GARCÍA, M. GARCÍA LÓPEZ
DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA. FACULTAD DE MEDICINA. UAM. MADRID, ESPAÑA

Objetivos. Sabemos que los I-AChE (fármacos más utilizados en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer) mejoran la neurotransmisión colinérgica; pero conocemos poco sobre su actividad protectora para prevenir la progresión de la

enfermedad. Nuestro grupo demostró recientemente que la galantamina es capaz de activar mecanismos de protección celular (Arias et al. 2004); en este estudio analizamos el posible efecto neuroprotector de otros I-AChE. *Métodos.* Utilizamos células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) expuestas a beta-amiloide. Evaluamos la actividad LDHasa como medida indirecta de la viabilidad celular. La muerte celular por apoptosis se determinó mediante citometría de flujo analizando el ciclo celular. También determinamos la CI50 para la inhibición de la AChE y la BuChE. *Resultados.* Los I-AChE estudiados presentan diferentes grados de protección frente a la toxicidad inducida por beta-amiloide: galantamina, donepecilo y rivastigmina muestran un efecto neuroprotector estadísticamente significativo, no así tacrina y fisostigmina. En el caso de galantamina y donepecilo el efecto está asociado a receptores nicotínicos, en concreto del subtipo alfa7, ya que dicha actividad es revertida en presencia de MLA, pero no en presencia de DH-beta-eritroidina. Es necesario un pretratamiento anterior al insulto tóxico para observar el efecto neuroprotector, esto sugiere que los fármacos activan la inducción de proteínas relacionadas con la supervivencia celular, de forma semejante a lo que ocurre con nicotina. *Conclusiones.* Los resultados del estudio indican que las propiedades neuroprotectoras de los I-AChE no tienen concordancia con su potencial para bloquear esta enzima, utilizando otra vía de acción no relacionada con dicha enzima.

P244. ESTUDIO DE LA DEGENERACIÓN NEURONAL DOPAMINÉRGICA EN UN MODELO AGUDO Y CRÓNICO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON INDUCIDA POR MPTP EN MACACOS

P. GARRIDO-GIL, L. SALDISE-ELIZONDO, M. VÁZQUEZ-CLAVERIE, S. BELZUNEGUI-RONCAL, A. IZAL-AZCÁRATE, I. MARCILLA-GARCÍA, W. SAN SEBASTIÁN-RAMÍREZ, M.R. LUQUIN-PIUDO
LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DEL PARKINSON. FACULTAD DE MEDICINA. FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA, NAVARRA, ESPAÑA

Introducción. Se ha sugerido que la apoptosis podría participar en la degeneración neuronal dopaminérgica de la enfermedad de Parkinson (EP). *Objetivo.* Estudiar el patrón de muerte celular en la sustancia negra compacta (SNc) y área tegmental ventral (ATV) de macacos con una administración aguda y crónica de MPTP. *Material y métodos.* 12 macacos: 2 intactos, 5 con una administración aguda y 5 con una administración crónica de MPTP. Se procesaron secciones de SNc mediante Fluoro-Jade B (FJB), inmunohistoquímica con citocromo-c (cit-c) y dobles inmunofluorescencias de FJB con TH, GAD67 y GFAP, y de cit-c con TH. Se cuantificó el número de células FJB+ en la SN de forma manual y la intensidad de inmunorreactividad para TH y cit-c por densitometría. *Resultados.* En los monos control las células FJB+ correspondieron a astrocitos. En la SNc y el ATV de los monos agudos y crónicos se observaron pocas células positivas para FJB. Algunas colocalizaban con TH y ninguna con GAD67. En las neuronas dopaminérgicas de la SNc y ATV de los animales agudos y crónicos el patrón de inmunorreactividad de cit-c fue difuso, mientras que en los controles era granular. En las neuronas supervivientes de los animales crónicos la expresión de cit-c y TH disminuyó respecto a los controles y agudos. *Conclusiones.* Nuestros resultados demuestran muerte neuronal dopaminérgica progresiva al cabo de 6 meses de haber interrumpido la administración de un tóxico. La presencia de un patrón difuso de inmunorreactividad para cit-c en estos animales podría ser indicativo de apoptosis.

P245. DEGENERACIÓN DEL SISTEMA COLINÉRGICO EN UN MODELO MURINO DE SOBREENSPRESIÓN DE DYRK1A, UN GEN CANDIDATO EN LA PATOLOGÍA DE SÍNDROME DE DOWN

M. MARTÍNEZ DE LAGRAN, N. FERNÁNDEZ, C. FILLAT, M. DIERSSEN
CENTRO DE REGULACIÓN GENÓMICA. BARCELONA, ESPAÑA

Las personas afectadas de síndrome de Down (SD) desarrollan de manera precoz, a partir de los 40 años, características patológicas tipo Alzheimer. Uno de los rasgos fenotípicos típicos de la enfermedad de Alzheimer (EA) es la degeneración del sistema colinérgico, sin embargo, los mecanismos que desencadenan esta disfunción y su aparición temprana en SD resultan desconocidos en la actualidad. Aunque se han adscrito a un incremento de dosis de APP, este factor no parece suficiente para provocar el fenotipo observado. Dyrk1A es un gen localizado en la región candidata del SD, y es considerado un buen candidato para explicar algunos de los fenotipos observados en pacientes con SD debido a que se encuentra sobreexpresado en esta patología y se ha relacionado con procesos de neurogénesis y diferenciación neuronal. En nuestro laboratorio se ha generado un modelo murino de sobreexpresión de este gen, el ratón TgDyrk1A. En nuestro modelo se observa mediante técnicas inmunohistoquímicas una degeneración importante del sistema colinérgico con la edad que se acompaña de afectación de la memoria reciente en estos animales. Estos resultados sugieren

17.09.05

que Dyrk1A podría estar jugando un papel relevante en los procesos de neurodegeneración presentes en los pacientes con SD.

P246. RUTAS INTRACELULARES QUE MEDIAN LA ACTIVACIÓN DE ASTROCITOS: PKCEPSILON

M. BURGOS LOZANO, S. CALVO MARTÍNEZ, J. LLOPIS BORRÁS, P. TRANQUE GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA/CRIB (UCLM). ALBACETE, ESPAÑA

Los astrocitos experimentan una transformación caracterizada por el crecimiento de procesos celulares en respuesta a un elevado número de situaciones, que incluyen lesiones nerviosas, interacción con otras células, o exposición a hormonas, citocinas y neurotransmisores. Sin embargo, aunque las funciones astrocitarias dependen de su elevada plasticidad morfológica, las rutas de señalización intracelular responsables del cambio morfológico aun no han sido resueltas. Previamente hemos descrito que la proteína cinasa C épsilon (PKCepsilon) es una molécula de señalización intracelular implicada en la plasticidad del astrocito. Hemos mostrado que la expresión de PKCepsilon constitutivamente activa induce una morfología estrellada, y que este efecto se sustenta en la reorganización de elementos del citoesqueleto. En este trabajo avanzamos en la caracterización de los mecanismos que controlan la plasticidad astrocitaria, identificando rutas intracelulares mediadoras de la acción de PKCepsilon sobre la morfología del astrocito. De acuerdo con nuestros resultados, el factor nuclear kappa-B (NF-kB), un conocido inductor de la transcripción de genes proinflamatorios, media los cambios inducidos por la PKCepsilon en astrocitos. Por otra parte, se sabe que proteínas de la familia Rho de pequeñas GTPasas participan en el mantenimiento de la forma celular redondeada, al inducir una organización de filamentos de actina en forma de fibras de estrés. Aquí describimos cómo la expresión de una forma constitutivamente activa de Rho inhibe la morfología estrellada inducida por PKCepsilon, sugiriendo que la inactivación de Rho es un posible mecanismo en el control de la plasticidad astrocitaria por PKCepsilon.

P247. EFECTO PROTECTOR DE LA MEMANTINA FRENTE A LA DEGENERACIÓN DEL SISTEMA COLINÉRGICO BASALOCORTICAL

F. ROS BERNAL^A, C. NOMBELA OTERO^B, M. GÓMEZ GALLEGU^C, C. ANTÚNEZ ALMAGRO^D, M.T. HERRERO EZQUERRO^E

^ANEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA EXPERIMENTAL. DEPARTAMENTO ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA.

^BNEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA EXPERIMENTAL. DEPARTAMENTO ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. ^CNEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA EXPERIMENTAL. DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^DUNIDAD DE DEMENCIAS. HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIZACA. MURCIA. ^ENEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA EXPERIMENTAL. DEPARTAMENTO ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

Objetivo. Memantina (1-amino-3,5-dimetiladamantano) es un antagonista no competitivo de los receptores glutamatérgicos N-metil-D-aspartato (NMDA). El objetivo de nuestro estudio fue investigar la eficacia terapéutica de la memantina en diferentes tareas de comportamiento en un modelo de devascularización cortical unilateral y bilateral la cual induce la pérdida de la red de terminales colinérgicas corticales y una degeneración retrógrada de las proyecciones colinérgicas que se originan en el núcleo basal de Meynert. **Material y métodos.** 28 ratas Sprague-Dawley fueron divididas aleatoriamente en 7 grupos: control, tres grupos de animales con lesión unilateral (sin tratamiento/salino, tratados 3 días antes de lesión, y tratados después de lesión), y tres grupos de animales con lesión bilateral (sin tratamiento/salino, tratados 3 días antes de lesión, y tratados después de la lesión). Dosis de memantina: 20 mg/kg/día. Las ratas control y tratadas fueron entrenadas en un laberinto en T elevado antes de comenzar el experimento y los efectos del comportamiento fueron determinados después de un retraso posquirúrgico de una semana y repetidos una vez por semana después de la lesión, hasta el día 28. **Resultados.** Todas las ratas tratadas con memantina: a) recuperaron las capacidades espaciales perdidas después de la devascularización cortical (unilateral y bilateral, y con tratamiento); y b) eran significativamente más capaces de hacer un uso más eficiente de sus capacidades para aprender en el laberinto. **Conclusiones.** Estos resultados sugieren una acción neuroprotectora de la memantina administrada sistemáticamente (tanto antes como después de la devascularización cortical) y atenúan la degeneración colinérgica *in vivo*.

P248. NIVELES ELEVADOS DE TNF-ALFA PERO NO DE IL-1BETA EN MONOS PARKINSONIANOS UN AÑO DESPUES DE LA ÚLTIMA INYECCIÓN DE MPTP

C. BARCIA GONZÁLEZ, V. DE PABLOS, V. BAUTISTA, A. SÁNCHEZ-BAHILLO, E. FERNÁNDEZ VILLALBA, J. MARTÍN, A. FERNÁNDEZ BARREIRO, M. HERRERO

NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

La causa de la enfermedad de Parkinson continua desconocida pero la reacción inflamatoria mediada por citocinas como TNF-alfa y IL-1beta estaría relacionada con la degeneración dopaminérgica de la sustancia negra. En este trabajo se han medido los niveles plasmáticos de TNF-alfa y de IL-1beta de 4 monos adultos (*Macaca fascicularis*) que desarrollaron un parkinsonismo de forma crónica por intoxicación con MPTP. Los estudios serológicos se realizaron 1 año después de la última intoxicación y se compararon con el análisis clínico y los estudios postmortem. Los niveles de TNF-alfa estaban significativamente aumentados en relación al síndrome clínico (grave o moderado). Sin embargo, los niveles plasmáticos de IL-1beta no presentaban cambios significativos. Estos resultados sugieren que el proceso inflamatorio inducido por MPTP (caracterizado por activación microglial y astrocítica en la sustancia negra *pars compacta*) esta relacionado con la liberación de citocinas que agravarían dicho proceso induciendo y perpetuando la muerte neuronal dopaminérgica mediada por TNF-alfa.

P249. ANÁLISIS DE UN MODELO PRESINTOMÁTICO DE PARKINSONISMO

M. HERRERO EZQUERRO, V. GARCÍA, F. ROS BERNAL, A. GÓMEZ, V. DE PABLOS VICENTE

NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

La rotenona es un pesticida que inhibe el complejo I mitocondrial y que administrada sistémica y crónicamente mimetiza la degeneración de la enfermedad de Parkinson. En el presente estudio se utilizaron 24 ratas Sprague-Dawley adultas tratadas durante 14 días y divididas en 4 grupos: grupo A, controles (tratadas con el vehículo, DMSO y PEG300, sc); grupo B, rotenona (2 mg/Kd/d, sc); grupo C, rotenona y meloxicam (2,4 mg/kg/día, sc), y grupo D, rotenona-triflusal (30 mg/kg/d, ip). El análisis cuantitativo *post mortem* reveló: a) muerte neuronal dopaminérgica (neuronas TH+) significativa en todos los grupos tratados respecto al grupo control; b) no existía alteración funcional significativa (GAD ARNm) de los núcleos de salida de los ganglios basales, ni sustancia negra *pars reticulata* ni núcleo entopeduncular; c) existía un aumento significativo de la microglía reactiva (células IBA-1+); y d) de los vasos sanguíneos (Naomenko y Feigin) en el estriado pero no en la sustancia negra *pars compacta* en el grupo B respecto al resto de los grupos. Aunque los resultados indican que en el periodo estudiado la acción de estos fármacos no es eficaz a las dosis empleadas, la pauta de tratamiento permite un modelo presintomático de parkinsonismo (homeostasis dopaminérgica a nivel estriatal) útil para ensayos de otras estrategias terapéuticas.

P250. MINOCICLINA NO PROTEGE LOS CULTIVOS DE CÉLULAS GRANO DE CEREBELO FRENTE A LA NEUROTOXIDAD INDUCIDA POR MALONATO

F.J. FERNÁNDEZ-GÓMEZ^A, M. GÓMEZ-LÁZARO^B, M.D. PASTOR^B, S. CALVO^A, N. AGUIRRE^C, M.F. GALINDO^A, J. JORDÁN^A

^ACIENCIAS MÉDICAS. ^BCIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE. ^CDPTO FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2002-04721 DE CICYT, 04005-00 DE JUNTA DE COMUNIDADES CASTILLA-LA MANCHA, CONSEJERÍA SANIDAD Y SEF-ALMIRALL M.F.G., M.G.-LYF.J. F.-G. BECARIOS DE JCCM

Existe una gran controversia acerca de los efectos de la tetraciclina semisintética minociclina en el sistema nervioso. Así, se han descrito tanto efectos beneficiosos en modelos de isquemia cerebral y esclerosis lateral amiotrófica, como negativos en modelos de enfermedad de Huntington. En éste trabajo analizamos el efecto de minociclina sobre la muerte celular inducida por malonato, un inhibidor de la succinato deshidrogenasa, en cultivos de células granulares de cerebelo de rata. Nuestros resultados muestran que malonato es neurotóxico de manera concentración dependiente, por mecanismos que incluyen un incremento en especies reactivas del oxígeno, y la consiguiente depleción de los niveles de glutatión celular que conducen a la oxidación del fosfolípido cardiolipina. El pretratamiento durante 4 h con minociclina (10-100 microM) no presentó una acción citoprotectora frente a esta neurotoxina. Tampoco evitó el edema mitocondrial, la sobre-producción de EROs,

ni la oxidación de GSH y cardiolipina inducidos por malonato en cultivos celulares. Malonato no indujo la expresión de iNOS, ni de los genes de las caspasas-3 -8 y -9, las cuales han mostrado ser sobre-reguladas en varios modelos donde la minociclina es citoprotectora. Malonato indujo una caída en los niveles de expresión de ARNm de Bcl-2 que no fue prevenida por minociclina. Podemos concluir que los efectos citoprotectores ejercidos por minociclina en modelos neurodegenerativos pueden ser selectivos, ya que están ausentes en células grano de cerebelo expuestas a malonato.

P251. ALBUMIN PREVENTS MITOCHONDRIAL DEPOLARIZATION AND APOPTOSIS ELICITED BY ENDOPLASMIC RETICULUM CA²⁺ DEPLETION OF NEUROBLASTOMA CELLS
S. GALLEGO SANDÍN, J. NOVALBOS, M. F. CANO ABAD, F. ABAD SANTOS, A. GARCÍA GARCÍA

INSTITUTO TEÓFILO HERNÁNDEZ. FARMACOLOGÍA CLÍNICA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA. MADRID, ESPAÑA

Objectives and methods. We studied the ability of serum albumin to prevent apoptosis of human neuroblastoma SH-SY5Y cells, elicited by four compounds known to release Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum (dotarizine, flunarizine, thapsigargin and cyclopiazonic acid). *Results.* After 24 h incubation in DMEM containing 10% serum, around 5% of cells underwent apoptosis. Dotarizine (30-50 microM) enhanced the number of apoptotic cells to 18-43%, flunarizine (30-50 microM) to 15%, thapsigargin (1-10 microM) to 21-35%, and cyclopiazonic acid (100 microM) to 10%. Incubation of the cells for 24 h in a DMEM deprived of serum enhanced apoptosis to 20% and dotarizine and flunarizine, at 30 microM each, drastically enhanced apoptosis to 63% and 68%, respectively; the increase was milder with 1 microM thapsigargin (37%) and with 30 microM cyclopiazonic acid (27%). At the concentrations of 2.9% or 49%, bovine serum albumin fully prevented the apoptotic effects of dotarizine, flunarizine and cyclopiazonic acid in serum withdrawal; this was not the case for thapsigargin. The four compounds increased the [Ca²⁺]_i in fluo-4 loaded cells. Albumin did not modify the kinetic parameters of such increase. In the absence of serum, dotarizine, flunarizine, thapsigargin and cyclopiazonic acid caused mitochondrial depolarization in TMRE-loaded cells; this effect was efficiently counteracted by albumin. *Conclusion.* The results suggest that albumin protects cells from entering into apoptosis by preventing mitochondrial depolarization. They also suggest the possibility that prevention of mitochondrial depolarization could be an adequate target to develop new antiapoptotic compounds with therapeutic potential in stroke, Alzheimer's and other neurodegenerative diseases.

P252. REHABILITACIÓN COGNITIVA DE LA ANOMIA EN UN CASO DE DEMENCIA SEMÁNTICA: RESULTADOS A CORTO PLAZO

C. GREEN, C. HIGUERAS, K. SAGE, M. LAMBON-RALPH, M. BERTHIER. CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO-SANITARIAS (CIMES). UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA. DEPARTMENT OF COGNITIVE NEUROSCIENCE. UNIVERSITY OF MANCHESTER. MANCHESTER, REINO UNIDO

Introducción. La demencia semántica (DS) es una variedad de degeneración frontotemporal que se caracteriza por una disolución multimodal del sistema semántico. La anomia (déficit en denominación y comprensión de palabras) es uno de los rasgos más graves de la DS. Recientemente, se han descrito casos aislados de pacientes con DS y anomia grave que re-aprendieron palabras con técnicas de rehabilitación cognitiva, aunque aún se desconoce cuáles son las terapias más efectivas y qué mecanismos de procesamiento cognitivo participan en la recuperación. *Objetivos.* Evaluar la eficacia de dos terapias cognitivas en el reaprendizaje de palabras en una paciente (CUB) con DS y anomia grave. *Material y métodos.* Diseño de caso único. Se realizó una evaluación cognitiva basal y se emplearon 2 terapias para la anomia. En las terapias se evaluó si el efecto de posición de la imagen de objetos (terapia 1) o el tipo de objetos (p. ej., diferentes tipos de sillas) (terapia 2) influía en el reaprendizaje de 30 palabras que la paciente no podía nombrar. *Resultados.* Mientras que CUB no mostró reaprendizaje de la lista control en 4 evaluaciones, se observó una mejoría significativa en el reaprendizaje en la terapia 1 (basal: 2/30; postratamiento: 30/30) y este efecto se generalizó a los ítems de la terapia 2 (166/180). Los beneficios se mantienen tras 2 meses de finalizar las terapias. *Conclusiones.* Nuestro hallazgo sugiere que el reaprendizaje del vocabulario perdido es posible en la DS.

P253. RHYTHM-SPECIFIC PHARMACOLOGICAL AND MOVEMENT-RELATED MODULATION OF SUBTHALAMIC ACTIVITY IN PARKINSON'S DISEASE

G. FOFFANI, A. PRIORI, FOR THE MILAN DBS GROUP (POLICLINICO - SAN PAOLO. POLITECNICO. DREXEL)

DEPARTMENT OF NEUROLOGICAL SCIENCES. UNIVERSITÀ DI MILANO. IRCCS OSPEDALE MAGGIORE DI MILANO. MILÁN, ITALIA

Electrodes implanted for deep brain stimulation (DBS) offer the opportunity to record local field potentials (LFPs) from the human subthalamic nucleus (STN). Here we tested the hypothesis that the pharmacological and movement-related modulation of STN activity has rhythm-specific effects. LFPs were recorded from the STN of 11 parkinsonian patients before (14 nuclei) and after (14 nuclei) levodopa administration while patients executed voluntary finger movements. Electrode localization and post-operative LFP recordings were performed using the same methods as in our previous works (Foffani et al, Brain 2003; Priori et al, Exp Neurol 2004). We used an adaptive autoregressive approach for studying the movement-related data (Foffani et al, J Neural Eng 2004). In the low-frequency rhythm (< 8 Hz), levodopa significantly increased the baseline power (unpaired Wilcoxon: $p = 0.0326$) and there were significant movement-related power increases both before (paired Wilcoxon: $p = 0.0052$) and after (paired Wilcoxon: $p < 0.001$) levodopa administration. In the low-beta rhythm (13-20 Hz), levodopa administration significantly decreased the baseline power ($p = 0.02$), and there were movement-related power decreases that were particularly consistent after levodopa administration ($p = 0.01$). In the high-beta pole (20-30 Hz), levodopa had no significant effects on the baseline power but there were significant movement-related power decreases both before ($p = 0.01$) and after ($p < 0.001$) levodopa administration. These results suggest that the modulation of STN activity is rhythm-specific both in the pharmacological domain and in the behavioral domain.

P254. THE ROLE OF SPIKE-TIMING AND NOISE-CORRELATIONS IN ENSEMBLES OF NEURONS RECORDED FROM THE RAT PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX BEFORE AND AFTER SPINAL HEMISECTION

K.A. MOXON^A, G. FOFFANI^{A, B}

^A SCHOOL OF BIOMEDICAL ENGINEERING, SCIENCE AND HEALTH SYSTEMS, DREXEL UNIVERSITY, PHILADELPHIA PA, USA. ^B FUNDACIÓN HOSPITAL NACIONAL DE PARAPLÉJICOS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA INTEGRACIÓN. TOLEDO, ESPAÑA

Objective. To investigate the role of spike-timing and noise-correlations in the ability of ensembles of cortical somatosensory neurons to code for stimulus-location. *Methods.* We recorded 9 ensembles of 14±8 neurons from 6 rats using microwire arrays chronically and bilaterally implanted in the forelimb primary somatosensory cortex in response to step-stimuli delivered to the cutaneous surface of the contralateral body. We used our PSTH-based classifier (Foffani et al, J Neurosci Methods 2004; Foffani et al, J Neurosci 2004) to evaluate how changing the binsize and shuffling the trials between neurons (which destroys noise-correlations) would affect the ability of the ensemble responses to discriminate stimulus-location on a single-trial basis. All 6 rats successively underwent partial spinal hemisection (HX) at level C3-C4 and the experiments were repeated post-HX. *Results.* Pre-HX, the ability to discriminate stimulus-location significantly increased (1) when decreasing the binsize, reaching a maximum at 4 ms, and (2) after trial-shuffling. Post-HX, the ability to discriminate stimulus-location (3) again significantly increased when decreasing the binsize and after trial-shuffling and (4) was not significantly different from pre-HX. *Conclusions.* 1) The role of spike timing is not an exclusive feature of the highly specialized rat trigeminal system, but a more general property of the rat primary somatosensory cortex. 2) Significant noise correlations are distributed in ensembles of cortical somatosensory neurons, solving the apparent paradox between the macroscopic contribution of noise correlations at the EEG level and their rather small contribution at the neuron-pair level. 3) These noise correlations have a supra-spinal anatomical origin. 4) The somatosensory system at the spinal level is remarkably robust.

17.09.05

P255. S-ADENOSYLMETHIONINE PROTECTION AGAINST b-AMYLOID 25-35 INDUCED DAMAGE IN PRIMARY CORTICAL NEURONAL RAT CULTURESE MARTÍN^A, Á.J. DOÑA^A, M.L. DE CEBALLOS^B, F SÁNCHEZ DE LA CUESTA^A, J. PAVÍA^A^A DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. ^B GRUPO DE NEURODEGENERACIÓN, INSTITUTO CAJAL, CSIC. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: PARTE DE ESTE PROYECTO HA SIDO FINANCIADO POR LA SUBVENCIÓN PB98-0111

S-Adenosylmethionine (SAM) is an important molecule in normal cell function and survival. The methyl group of SAM is donated to a large variety of acceptor substrates including DNA, phospholipids and proteins. As in many other cells, transmethylation reactions are critical for the normal functioning of the central nervous system. The main disease causing dementia is Alzheimer's disease (AD), characterized by b-amyloid (Ab) production and deposition, neurofibrillary tangle formation and cholinergic dysfunction. It's demonstrated that SAM increases the number of muscarinic receptors, prevents ischemic neuronal death and reduces Ab production. We have investigated the potential effectiveness of SAM against Ab25-35 toxicity on primary cortical neuronal rat cultures. Cultures from embryonic rats (day 18 of gestation) were maintained in minimum essential medium supplemented during 8 days. Cells were exposed 24, 48 or 72 h to SAM and 24, or 48 h to Ab. Neuronal viability and Muscarinic receptor number were measured using MTT colorimetric and radioligand binding assays respectively. A co-treatment with SAM and Ab for 24 or 48 h and a repeat SAM administration during 48 h before to Ab treatment protected cortical neurons against toxicity induced by Ab (neuronal death and a drop in muscarinic receptor number). These results suggest that SAM could have a possible effectiveness in the treatment of neurodegenerative diseases, e.g. AD via a neuroprotective effect partly related to the inhibition of Ab-induced cell death and via an improvement in cholinergic functions in cortical neurons.

ENVEJECIMIENTO

P256. DISTRIBUCIÓN DE LAS NEURONAS NITRÉRGICAS Y COLINÉRGICAS EN EL TELENCEFALO BASAL DEL PERROP. PESINI RUIZ^A, L. MENÉNDEZ GUTIÉRREZ^B, D. INSUA RODRÍGUEZ^B^A DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO, LUGO. ^B DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, FACULTAD DE VETERINARIA, USC, LUGO, ESPAÑA

El perro ha sido propuesto como un modelo natural especialmente adecuado para el estudio de determinadas enfermedades neurodegenerativas humanas. En particular, estos animales pueden sufrir un síndrome de deterioro cognitivo relacionado con la edad (SDC) que reproduce determinados aspectos de la enfermedad de Alzheimer (EA). Sin embargo, llama la atención que no se haya explorado todavía la evolución con respecto a la edad de determinadas poblaciones celulares del cerebro canino. En particular, existe muy poca o ninguna información acerca de la localización anatómica y de las modificaciones frente al envejecimiento en los perros de las neuronas colinérgicas y nitrérgicas que aparecen afectadas de modo específico en la EA. En este trabajo hemos cartografiado la distribución anatómica de esas neuronas en el telencefalo basal del perro mediante el marcaje inmunohistoquímico de la colina-acetil transferasa (ChAT) y de la isoforma neuronal de la óxido nítrico sintetasa (NOS). Las neuronas ChAT positivas se distribuyen ampliamente por el telencefalo basal incluyendo el núcleo de la banda diagonal, tubérculo olfatorio, sustancia innominada, núcleo basal magnocelular, caudado y putamen. En términos generales, esta distribución coincide con el patrón general descrito en otros mamíferos. En todas esas áreas del telencefalo basal del perro aparecen también neuronas NOS positivas, generalmente en un número menor, salvo en el núcleo de la banda diagonal y en el núcleo basal donde ambas poblaciones alcanzan densidades similares. Adicionalmente, localizamos neuronas NOS positivas en el claustrum y en el cortex piriforme, donde no aparecían células marcadas con el anticuerpo frente a la ChAT.

P257. EFECTO ANTIOXIDANTE EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS VIEJAS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO SEMEJANTE A LA INSULINA TIPO II (IGF-II)M. I. GARCÍA-FERNÁNDEZ^A, G. DELGADO^B, J. RIOJA^C, S. GONZÁLEZ-BARON^A, I. CASTILLA-CORTÁZAR^D^A FISIOLÓGIA HUMANA. ^C FISIOLÓGIA HUMANA. MEDICINA INTERNA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B FISIOLÓGIA HUMANA. F. MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^D FISIOLÓGIA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

El envejecimiento se asocia con un incremento del daño tisular oxidativo y del riesgo de enfermedades neurodegenerativas. El aumento del estrés oxidativo resulta del desequilibrio entre la producción de ROS y los mecanismos antioxidantes que los catabolizan. El objetivo de este trabajo consistió en estudiar el efecto de la administración de dosis bajas de IGF-II sobre el metabolismo redox en corteza cerebral de ratas viejas. Ratas Wistar se distribuyeron en los siguientes grupos: Controles jóvenes (J, 1,5 meses de edad, n = 10), Controles viejas (V, 24 meses de edad, n = 6) y ratas de 24 meses que recibieron IGF-II, subcutáneamente, durante 3 semanas (V+IGF-II, n = 6, 1 µg/100 g pc/día). Los marcadores de estrés oxidativo estudiados, en homogeneizados de corteza, fueron: oxidación de proteínas (PCC) y lípidos (MDA) y los enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX). El grupo V, comparado con el grupo J, mostró un incremento significativo del MDA y del PCC; y una disminución de la actividad CAT y GPX, aunque estaba incrementada la actividad SOD. La administración de IGF-II disminuyó las concentraciones de MDA, PCC y normalizó las enzimas antioxidantes. La administración de dosis bajas de IGF-II reduce el daño oxidativo en la corteza cerebral de los animales viejos. (El IGF-II fue facilitado por los laboratorios Lilly.)

P258. DISTRIBUCIÓN DEL RECEPTOR DE IGF-I EN EL TELENCEFALO DEL PERROD. INSUA RODRÍGUEZ^A, P. PESINI RUIZ^B^A DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y PRODUCCIÓN ANIMAL, FACULTAD DE VETERINARIA/UNIVERSIDAD DE SANTIAGO, LUGO. ^B DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, FACULTAD DE VETERINARIA, USC, LUGO, ESPAÑA

El IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*) es considerado el principal mediador de las acciones de la hormona del crecimiento en los tejidos periféricos. Recientemente se ha demostrado que participa también en la regulación de los niveles de beta-amiloido en el cerebro. La expresión de receptores para IGF-1 (IGF-IR) ha sido demostrada en diferentes regiones del cerebro de rata mediante hibridación in situ. El IGF-IR consta de dos subunidades alfa que son extracelulares y dos subunidades beta que forman el dominio transmembrana e intracitoplasmático. Nosotros hemos utilizado un anticuerpo frente a la cadena alfa y otro anticuerpo frente a la cadena beta del receptor humano para cartografiar su distribución en el telencefalo basal del perro; considerado un posible modelo animal para el estudio de la enfermedad de Alzheimer. Sorprendentemente, uno y otro anticuerpo marcaban poblaciones diferentes. El anticuerpo frente a la cadena alfa marcaba prácticamente todas las neuronas de los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo y esporádicamente algunas células aisladas en el septo, la amígdala y el tubérculo olfatorio; pero ninguna en el córtex ni en el hipocampo. Por el contrario el anticuerpo frente a la cadena beta presentaba una distribución más amplia marcando numerosas neuronas en el córtex, hipocampo y diversas áreas del telencefalo basal; pero ninguna en los núcleos hipotalámicos mencionados. Aparentemente, la suma de la distribución del IGF-IR obtenida en el perro con estos dos anticuerpos coincide con el patrón de distribución de este receptor en la rata.

EPILEPSIA

P259. MODELOS CRÓNICOS DE EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL EN RATA: COMPARACIÓN ENTRE PROTOCOLOS Y CEPASY. GARCÍA-UZCÁTEGUI^A, B. GAL^B, L. MENÉNDEZ DE LA PRIDA^C^A NEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMON Y CAJAL, MADRID.^B DEPARTAMENTO CIENCIAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGIA, UNIVERSIDADE EUROPEA DE MADRID, MADRID. ^C NEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMON Y CAJAL, MADRID, ESPAÑA

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) se asocia con la presencia de crisis recurrentes que aparecen años después de una causa inicial. Esto se puede modelar en rata mediante la administración aguda de convulsionantes como la pilocarpina, lo que conlleva una alta mortalidad. En este estudio, comparamos dos protocolos de inducción de ELT en ratas Wistar (W) y Sprague-Dawley (SD) utilizando inyección

i.p. de pilocarpina a dosis altas únicas y dosis bajas múltiples. Veinticuatro horas antes del inicio del protocolo de inyección se administró litio i.p. (LiCl, 127 mg/kg). Un total de 48 ratas SD y 43 W fueron evaluadas. De éstas, 37 SD y 24 W fueron inyectadas con dosis única de 25-35 mg/kg pilocarpina. El resto fueron inyectadas con dosis de 10 mg/kg cada 30 min hasta que comenzaron las crisis de nivel 5 (escala de Racine). Este protocolo mostró una mortalidad menor (20%) comparado con el de dosis única (75%) sin diferencias entre cepas. La dosis media fue de 30 mg/kg en SD (40 mg/kg en W) con variaciones de 10-40 mg/kg (30-40 mg/kg). El inicio del nivel 5 se retrasó significativamente con el protocolo de dosis múltiples (1 h 32 min frente a 17 min). La latencia media hasta la fase crónica fue de 2-3 semanas sin diferencias entre protocolos y cepas. Las alteraciones fisiopatológicas fueron evaluadas por medio de registros electrofisiológicos en rodajas de hipocampo e histológicamente mediante tinción de Nissl y Neo-Timm. No se detectaron diferencias en la fisiopatología entre protocolos y cepas.

P260. CAMBIOS EN LA MICROVASCULARIZACIÓN EN EL HIPOCAMPO ESCLERÓTICO DE PACIENTES EPILÉPTICOS

A. KASTANAUSKAITE^A, L. ALONSO-NANCLARES^B, A. ANDRIOLI^B, P. MOUTON^B, J. DEFELIPE^B

^A *BIOLOGÍA CELULAR Y NEUROANATOMÍA*. ^B *BIOLOGÍA MOLECULAR Y NEUROANATOMÍA*. INSTITUTO CAJAL (CSIC). MADRID, ESPAÑA

En los pacientes con epilepsia del lóbulo temporal se observa frecuentemente esclerosis del hipocampo, que consiste principalmente en una notable pérdida de células en CA1 y en la capa polimórfica del giro dentado, seguido por las regiones CA4 y CA3, mientras que las neuronas de CA2 y las células granulares del giro dentado son las menos afectadas. Sin embargo, se desconoce si también está afectado el sistema microvascular. El objetivo de este estudio es analizar las posibles alteraciones de la microvascularización en las distintas regiones del hipocampo esclerótico. Para ello, hemos analizado 27 biopsias procedentes de la corteza cerebral humana de pacientes con epilepsia fármaco-resistente. En 21 de estos pacientes se encontró esclerosis del hipocampo, mientras que en el resto de los pacientes los hipocampos eran normales. La pérdida neuronal se evaluó mediante tinción de Nissl y tinción inmunohistoquímica para NeuN. Para examinar la microvascularización del hipocampo se utilizó una tinción histoquímica para detectar la actividad de fosfatasa alcalina que marca a los capilares sanguíneos. En las zonas de pérdida neuronal se observó una clara reducción de la actividad fosfatasa alcalina. Estas observaciones indican que en el hipocampo esclerótico existen cambios en la microvascularización.

ISQUEMIA

P261. LA APOPTOSIS INDUCIDA POR ISQUEMIA EN CULTIVOS PRIMARIOS DE ASTROCITOS DEPENDE DE LA ACTIVACIÓN DE CHOP

M.D. PASTOR HERRERA, S. CALVO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. CRIB. UNIVERSIDAD DE CASTILLA LA MANCHA. ALBACETE, ESPAÑA

Los astrocitos en cultivo muestran una resistencia a la isquemia mucho mayor que las neuronas, requiriéndose episodios de isquemia mucho más largos para que se detecte la apoptosis astrocitaria que la neuronal. En un intento de contribuir al conocimiento de los mecanismos que gobiernan la respuesta astrocitaria a la isquemia hemos analizado los cambios en la expresión génica inducidos por la privación de oxígeno y glucosa en cultivos primarios de astrocitos. Uno de los genes que mostró una inducción más prominente fue CHOP (CEBP *homologous protein*). El papel esencial de CHOP en la muerte astrocitaria inducida por isquemia se pone de manifiesto mediante el uso de nucleótidos antisentido, que restauran la viabilidad celular. La sobreexpresión de CHOP, mediante un sistema adenovírico inducible demuestra, además que CHOP por sí mismo es capaz de inducir la muerte astrocitaria. Por último, en un intento de ahondar en los mecanismos por los que CHOP causa la muerte astrocitaria, demostramos que tanto la isquemia como la sobreexpresión de CHOP causan una disminución de la proteína antiapoptótica bcl2, sugiriendo que la pérdida del equilibrio entre factores pro y antiapoptóticos juega un papel preponderante en la muerte astrocitaria inducida por la isquemia.

P262. EL ÁCIDO ÚRICO POTENCIA EL EFECTO BENEFICIOSO DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO TISULAR RECOMBINANTE (R-TPA) EN UN MODELO TROMBOEMBÓLICO DE ISQUEMIA CEREBRAL EN LA RATA

A.M. PLANAS OBRADORS^A, E. ROMANOS^B, Á. CHAMORRO SÁNCHEZ^C

^A *DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA*. IIBB-CSIC. IDIBAPS. BARCELONA. ^B *DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA*. IIBB-CSIC. IDIBAPS. BARCELONA. ^C *UNIDAD DE ICTUS, SERVICIO DE NEUROLOGÍA*. HOSPITAL CLÍNIC, IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivos. El r-TPA es el único tratamiento en el ictus con beneficios probados en ensayos clínicos. El ácido úrico es un antioxidante natural que reduce el volumen de infarto después de una oclusión de la arteria cerebral media (ACM) en ratas, y recientes estudios clínicos indican una asociación entre el aumento de los niveles plasmáticos de ácido úrico y una mejora neurológica de la recuperación. Queremos investigar los efectos protectores del ácido úrico en un modelo trombo-embólico de isquemia cerebral en rata, y comprobar si puede aumentar los efectos beneficiosos de la trombolisis. **Métodos.** Se anestesiaron ratas macho adultas Sprague-Dawley ($n=88$) y se les provocó una isquemia cerebral mediante tromboembolización de la ACM. Se les inyectó ácido úrico (16 mg/kg) i.v. 20 min después de la isquemia y 3h después recibieron infusión de r-TPA (10 mg/kg). A las 24 h se sacrificaron los animales y se cuantificó el volumen de infarto de los siguientes grupos: controles ($n=16$), úrico ($n=15$), r-TPA ($n=16$), y r-TPA + úrico ($n=16$). **Resultados.** El ácido úrico redujo el volumen de infarto ($p<0,05$) y también lo hizo el r-TPA ($p<0,001$) en los tratamientos individuales. La terapia combinada de ácido úrico y r-TPA causó una mayor reducción del volumen de infarto ($p<0,05$), y este efecto se manifestó en la corteza. **Conclusiones.** El ácido úrico administrado después de una isquemia cerebral tromboembólica es neuroprotector y tiene una acción aditiva sobre el efecto beneficioso del r-TPA. Estos resultados nos han llevado a plantear un estudio clínico en enfermos de ictus.

P263. CARACTERÍSTICAS NEUROPATOLÓGICAS SUBYACENTES AL GRADO DE ALTERACIÓN DE LA INTENSIDAD DE LA SEÑAL DE RM DURANTE LA REPERFUSIÓN DESPUÉS DE ISQUEMIA CEREBRAL FOCAL EN LA RATA

S. ROJAS CODINA^A, A. MARTÍN MUÑOZ^B, C. FALCÓN^C, N. BARGALLÓ^C, A. CHAMORRO^D

^A *FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA*. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE BARCELONA/CSIC. ^B *FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA*. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE BARCELONA/CSIC. ^C *SERVICIO DE DIAGNÓSTICO POR LA IMAGEN*. ^D *NEUROLOGÍA, UNIDAD DE ICTUS, INSTITUTO DE ENFERMEDADES DEL SISTEMA NERVIOSO*. HOSPITAL CLÍNIC. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivos. Durante la isquemia cerebral se produce una hiperintensidad en las imágenes de resonancia magnética (RM) por difusión (DWI) y una hipointensidad en el coeficiente aparente de difusión del agua (ADC). Estas alteraciones se recuperan con la reperusión. Posteriormente reaparecen las alteraciones de RM a medida que progresa la lesión. Evaluamos si el grado de alteración inicial de las señales de RM predice el daño tisular posterior, y las alteraciones histopatológicas subyacentes. **Métodos:** Se induce la isquemia transitoria (60 min) o permanente a ratas Sprague-Dawley ($n=39$) y se sacrifican a las 8, 12, 15, 18 o 24 horas. A cada animal se le realiza uno o dos estudios de RM entre 1,5h y 24 h. Evaluamos la alteración en la señal de RM, el volumen de infarto (TTC), la histopatología, y marcadores de estrés y gliosis. **Resultados.** En la corteza cerebral se producen cambios sutiles ($<15\%$) en DWI y ADC durante las primeras 12 h de reperusión. Estas alteraciones iniciales se asocian a un daño celular moderado y heterogéneo. Comparativamente, a este tiempo los cambios de RM son mayores en el estriado, que a su vez manifiesta la lesión histológica antes. Posteriormente la alteración en la señal de RM se intensifica ($>30\%$) coincidiendo con la manifestación de la lesión en el tejido por TTC y muerte neuronal masiva. **Conclusiones.** Estos resultados sugieren que los cambios en la intensidad de la señal de RM durante las primeras 12 h de reperusión después de la isquemia cerebral en la rata predicen la muerte neuronal retardada.

P264. COMPARTIMENTACIÓN SUBCELULAR DE CORRIENTE DE ENTRADA Y MAPA DE RESISTENCIA TISULAR DURANTE DEPRESIÓN DE LEAO

C. LARGO ARAMBURU^A, I. MAKAROVA^B, J.M. IBARZ^B, O. HERRERAS^C
^A FACULTAD DE CC. EXPERIMENTALES Y SALUD. UNIVERSIDAD SAN PABLO C.E.U. BOADILLA DEL MONTE. ^B INVESTIGACIÓN HISTOLOGÍA. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL MADRID. ^C INVESTIGACIÓN HISTOLOGÍA. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL MADRID, ESPAÑA
 FINANCIACIÓN: MCYT Y CAM

La depresión de Leao (DL) es una onda inactivante asociada a un potencial extracelular (Vo) negativo que causa muerte neuronal en penumbra isquémica. Las neuronas eran descartadas como generadores del Vo por su presunto estado de despolarización y cortocircuito total. En trabajo adjunto hemos demostrado que este estado afecta sólo a subregiones celulares concretas. Completamos aquí trabajos previos sobre el generador del Vo mediante análisis de fuentes de corriente (AFC) y estudio espaciotemporal de la resistividad del tejido en la región CA1 hipocámpica in vivo. Se construyeron mapas espaciotemporales del Vo utilizando pipetas ensambladas y trayectos de registro múltiple paralelos al eje somatodendrítico piramidal, sobre los que se calculó la densidad de corriente transmembrana. La resistividad tisular se midió con un método de tres electrodos de alta resolución espacial (50 mm aproximadamente). Durante el transcurso de la SD, la resistividad aumentó gradualmente hasta un valor 6 veces superior al basal, con una distribución laminar similar a la del Vo negativo. La porción más alvear del *st. oriens* y el *st. lacunosus* sufren un incremento inferior a dos veces el basal. El AFC muestra una corriente de entrada a nivel dendrítico apical y basal con fuerte cancelación central, excepto en su parte distal, donde se observa corriente de salida. Estos resultados son totalmente compatibles con los unitarios y demuestran una entrada de corriente zonal a través de una conductancia específica no convencional como origen de la negatividad extracelular en un formato fuente/sumidero clásico de conductores unicelulares activados sincrónicamente.

P265. EXPRESIÓN DE VEGFR2 EN TEJIDO PERINECRÓTICO CORTICAL. SU RELACIÓN CON TRAZADORES DE LA BARRERA HEMOENCEFÁLICA

J.V. LAFUENTE SÁNCHEZ^A, E.G. ARGANDOÑA^B, S. BULNES SESMA^C, H. BENGOTXEA ODRIOZOLA^D, O. LEIS ESNAOLA^E, G. AZKONA MENDOZA^C

^A LABORATORIO DE NEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE). GRUPO 15887. DEPARTAMENTO NEUROCIENCIAS/UPV—EHU. BILBAO. ^B LABORATORIO DE NEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE). GRUPO 15887. DEPARTAMENTO ENFERMERIA/UPV-EHU. BILBAO. ^C LABORATORIO DE NEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE). GRUPO 15887. ^D LABORATORIO DE NEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE). GRUPO 15887. ^E LABORATORIO DE NEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE). GRUPO 15887. DEPARTAMENTO NEUROCIENCIAS/UPV-EHU. BILBAO, ESPAÑA

Introducción. El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es uno de los principales mediadores de la angiogénesis y de la permeabilidad vascular. La implicación de su receptor VEGFR-2 (flk-1) en la angiogénesis ha sido ampliamente documentada, pero el papel de este receptor en la permeabilidad de la BHE está por demostrar. **Material y métodos.** 30 ratas adultas bajo condiciones experimentales estándares sufrieron una micronecrosis cortical y tras periodos de supervivencia entre 1 hora y 1 mes estudiamos mediante inmunohistoquímica la distribución de Flk-1 en relación a la red microvascular total (puesta de manifiesto mediante la lectina LEA) y la integridad de la función de la BHE (mediante EBA y GluT-1). **Resultados.** En los periodos entre 6 y 72 horas se pone de manifiesto un incremento de vasos positivos, en la región perinecrótica apareciendo también numerosos procesos y algunos cuerpos celulares. La evolución del incremento de inmunopositividad en las células endoteliales se corresponde con la pérdida de positividad para EBA. La inmunopositividad para GluT-1 permanece sin modificarse. **Conclusión.** Los incrementos y distribución de VEGFR2 se corresponden con los de VEGF vistos en estudios previos y todo el sistema parece desempeñar un papel relevante en la alteración de la función de la BHE.

P266. SOBREEXPRESIÓN DE METALOPROTEASA-9 EN PARÉNQUIMA Y MICRODIALIZADO CEREBRAL TRAS EL ICTUS ISQUÉMICO Y HEMORRÁGICO

A. ROSELL NOVEL^A, A. ORTEGA AZNAR^B, J. ALVAREZ-SABÍN^C, I. FERNÁNDEZ-CADENAS^D, M. RIBÓ^E, C. A. MOLINA CATERIANO^F, J. SAHUQUILLO BARRIS^G, A. M. PLANAS OBRADOR^H, J. MONTANER VILLALONGA^I

^A LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN NEUROVASCULAR. INSTITUT DE RECERCA. ^B LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN NEUROVASCULAR. HOSPITAL VALLD'HEBRON. BARCELONA. ^C NEUROLOGÍA. HOSPITAL VALLD'HEBRON. BARCELONA. ^D NEUROLOGÍA. HOSPITAL VALLD'HEBRON. BARCELONA. ^E JACOBI. ^F UNIDAD NEUROVASCULAR. ^G NEUROCIRUGÍA. ^H LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN NEUROVASCULAR. HOSPITAL VALLD'HEBRON. BARCELONA. ^I LABORATORI DE FARMACOLOGIA I TOXICOLOGIA. IDIBAPS-CSIC. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivo. Modelos animales de isquemia cerebral muestran una expresión anormal de algunas metaloproteasas (MMP) relacionada con el daño tisular. Nuestro objetivo es determinar los niveles y localización de MMP-2 y MMP-9 en diferentes zonas del parénquima cerebral tras el ictus. **Métodos.** Se obtuvo tejido de zonas de infarto, periinfarto, perihematoma y contralateral en < 6 h post mortem de 4 ictus isquémicos y 8 hemorrágicos. Se recogió microdializado cerebral, in vivo, del core y de su periferia en dos infartos malignos de la arteria cerebral media. Los niveles de gelatinasas se determinaron por zimografía y inmunoblotting y su localización tisular por técnicas de inmunohistoquímica y zimografía *in situ*. **Resultados.** En parénquima encontramos elevados niveles de MMP-9 en el infarto ($p < 0,0001$), aunque en periinfarto también fueron más altos que en el hemisferio contralateral ($p = 0,15$). Tejido de una transformación hemorrágica presentó un pico de MMP-9. En el infarto la MMP-9 se localizó alrededor de vasos, asociada a la infiltración de neutrófilos, y a microglia mientras que en el periinfarto disminuye la localización perivascular. En zonas perihematoma también encontramos mayor MMP-9 que en contralateral ($p = 0,008$) asociado a células microgliales. Las muestras de microdialisis de dentro del infarto mostraron sobreexpresión de MMP-9 respecto a la periferia siendo en ambos casos más elevados en la fase más aguda. La MMP-2 mantuvo una expresión constitutiva. **Conclusiones.** Existe una rápida implicación de la MMP-9 en el daño tisular, el edema parenquimatoso y la transformación hemorrágica, sugiriendo el potencial terapéutico de su inhibición en el tratamiento del ictus.

P267. ACTIVACIÓN DE LAS CAPASAS 3 Y 8 POR TNF- α EN UN MODELO 'IN VITRO' DE ISQUEMIA CEREBRAL

N. BADIOLA BENITO^A, C. MALAGELADA GRAU^B, B. BARNEDA ZAHONERO^C, R. FADO ANDRÉS^C, J. SABRÍA^D, J. RODRÍGUEZ ÁLVAREZ^E

^A BECARIO PREDOCTORAL. ^B BECARIA POSTDOCTORAL. ^C BECARIA PREDOCTORAL. ^D PROFESOR TITULAR. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. CERDANYOLA DEL VALLÉS. ^E PROFESOR TITULAR. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

Para estudiar los mecanismos implicados en la muerte generada por isquemia utilizamos el modelo de isquemia *in vitro* de privación de oxígeno y glucosa (OGD) en cultivos mixtos de corteza cerebral. En este modelo habíamos descrito que un 50% de la muerte es apoptótica y que el bloqueo de la acción del TNF α mediante un anticuerpo anti-TNF α reduce la activación de la caspasa 3 y de la apoptosis por la OGD. A continuación decidimos explorar en que tipos celulares se producía la síntesis de TNF- α y presentaban el receptor tipo I para esta citoquina. Los estudios inmunocitoquímicos indicaron que ambas proteínas se expresan de forma evidente en neuronas y microglía tanto en condiciones control como después de la OGD, mientras que muy pocos astrocitos los expresan en condiciones control. Precisamente fue en las neuronas y en la microglía donde habíamos observado la activación de la caspasa 3 por la OGD. Por otro lado, también hemos observado la activación de la caspasa 8 en la OGD, además esta activación es patente desde el primer momento de la reperfusión tras la OGD, por tanto anterior a la proteólisis de la caspasa 3. Hemos observado que la activación de la caspasa 3 asociada a la OGD se reduce muy significativamente en presencia del inhibidor de la caspasa 8, Z-IETD-FMK, lo cual indica una vinculación directa entre la activación de ambas caspasas. Además la muerte neuronal asociada a la OGD se reduce significativamente (alrededor de un 70%) en presencia del inhibidor de caspasa 8.

P268. LOS EFECTOS ADVERSOS DE LA HIPERGLICEMIA DURANTE LA ISQUEMIA FOCAL EN RATAS NO SON ATRIBUIBLES AL AUMENTO DE LOS CORTICOSTEROIDES EN PLASMA O A LA INFILTRACIÓN DE NEÚTRÓFILOS

A. MARTÍN MUÑOZ^A, A. CHAMORRO^B, AM. PLANAS^A

^AFARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA-CSIC. BARCELONA. ^BINSTITUT DE MALATIES DELS SISTEMA NERVIOS, UNITAT D'ICTUS. HOSPITAL CLÍNIC I PROVINCIAL DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

Introducción. La hiperglicemia empeora el pronóstico del infarto cerebral. El efecto adverso de la hiperglicemia en la isquemia podría estar mediado por aumento de corticosteroides plasmáticos, o procesos inflamatorios. Investigamos el papel de la hiperglicemia en la isquemia focal, y la posible implicación de corticosteroides, y de la infiltración de neutrófilos. **Métodos.** Realizamos oclusión intraluminal de la arteria cerebral media de 1h en ratas ($n = 159$). Se indujo hiperglicemia aguda mediante inyección i.p. de dextrosa (25%) 30 min antes de la oclusión. La síntesis de corticosteroides se inhibió mediante inyección i.p. de metyrapone (100 mg/kg), y se valoró la corticosterona plasmática por radioinmunoensayo. En otro grupo se indujo neutropenia (inyección i.p. de vinblastina 0,5 mg/kg) 4 días preisquemia. 24 h tras la isquemia se realizó un test neurológico y se determinó el volumen de infarto. La infiltración de neutrófilos se evaluó con el ensayo de la mieloperoxidasa (MPO). La metaloproteinasa de matriz extracelular, MMP-9, se determinó mediante zimografía. **Resultados.** La hiperglicemia en la isquemia aumentó significativamente el volumen de infarto ($p < 0,01$), la MPO ($p < 0,001$) y MMP-9 ($p < 0,01$), y empeoró la afectación neurológica ($p < 0,001$). El tratamiento con metyrapone evitó el aumento de corticosterona pero no disminuyó significativamente el volumen de infarto, la MPO o la MMP-9 en las ratas hiperglicémicas. La neutropenia impidió el aumento de MPO y MMP-9 después de la isquemia, pero no atenuó la lesión. **Conclusión.** La hiperglicemia durante la isquemia focal transitoria tiene *per se* efectos adversos que no son atribuibles al incremento de corticosteroides en plasma o a la infiltración de neutrófilos.

ENFERMEDADES DESMIELINIZANTES

P269. EFICACIA DEL FOSFATO DE ETANOLAMINA EN LA PREVENCIÓN DE LAS ALTERACIONES DEL SISTEMA SOMATOSTATINÉRGICO DESCRITAS EN LA ENCEFALOMIELITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL

D. AGUADO LLERA^A, L. PUEBLA JIMÉNEZ^B, A. M. HERNÁNDEZ PINTO^A, E. BURGOS RAMOS^A, M. HERNÁNDEZ JIMÉNEZ^A, E. ARILLA FERREIRO^A

^ADEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. ^BDEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

La encefalomiélitis autoinmune experimental (EAE) es un modelo animal de esclerosis múltiple. El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto del fosfato de etanolamina (EAP) sobre el curso clínico de la EAE y sobre el sistema somatostatinérgico en el hipocampo de dichas ratas descrito previamente. Ratas Lewis hembra de 8 semanas se inmunizaron mediante inyección subcutánea de 100 mL de una emulsión de proteína básica de mielina (PBM) (1 mg/mL) en adyuvante completo de Freund-PBS (1:1) suplementada con *Mycobacterium tuberculosis* (1 mg/mL) en las almohadillas de las patas traseras. Los animales controles fueron inoculados con vehículo. Las ratas se sacrificaron 10-12 días tras la inoculación habiendo desarrollado flacidez en la cola y parálisis de las patas traseras. El EAP se inyectó por vía peritoneal (i.p.) una vez al día a una dosis de 600 mg/kg de peso, desde dos días antes de inocular la emulsión de PBM y hasta el día del sacrificio. Los animales controles recibieron sólo el vehículo. El EAP previno el curso clínico de la EAE así como la disminución del número de receptores de SRIF en el hipocampo de la rata con EAE. La disminución del receptor sst2 descrita en este estudio en ratas con EAE no se observó en las ratas que recibieron el EAP. Asimismo, la administración de EAP a ratas con EAE previno la disminución de la inhibición por SRIF de la actividad adenilil ciclasa. Este trabajo indica que el EAP previene los efectos de la inoculación de la PBM en los parámetros estudiados.

ENFERMEDADES NEUROMUSCULARES

P270. CAMBIOS EN LA DISTRIBUCIÓN DE LA PENTRAXINA NEURONAL (NP1) DURANTE EL PROCESO DEGENERATIVO DE MOTONEURONAS EN RATAS TRANSGÉNICAS G93A COMO MODELO DE ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

A. CASANOVAS LLORENS^A, J. E. ESQUERDA COLELL

^AUNITAT DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR, DPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES.

^BUNITAT DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR, DEPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES.

^CUNITAT DE NEUROBIOLOGIA, DEPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES. UNIVERSITAT DELLEIDA. LLEIDA. ^DHOSPITAL DE LA SERVEI DE NEUROLOGIA. ^EUNITAT DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR, DEPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES. UNIVERSITAT DELLEIDA. LLEIDA, ESPAÑA

La pentraxina neuronal (NP1) es una glicoproteína de expresión exclusiva en el sistema nervioso sin una función asignada. Nosotros hemos identificado su presencia abundante en las motoneuronas en el asta anterior de la médula espinal y en núcleos motores craneales. Existen datos que indican la participación de NP1 en procesos de muerte neuronal apoptótica de células granulares de cerebelo (DeGregorio-Rocasolano et al, J Biol Chem 2001; 276: 796-803) y de excitotoxicidad durante la isquemia cerebral (Hossain et al, J Neurosci 24: 4187-96). La introducción de mutaciones de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) observadas en la esclerosis lateral amiotrófica familiar (FALS) a animales transgénicos, provoca en los mismos una enfermedad superponible a la FALS humana. En este modelo hemos seguido los cambios en la expresión de NP1 en motoneuronas. La NP1 se ha inmunolocalizado con un anticuerpo policlonal combinado con otros marcadores de daño neuronal y de activación microglial. Se han estudiado las motoneuronas en los segmentos cervical, torácico y lumbar de la médula espinal así como en el tronco encefálico ya que la vulnerabilidad de las motoneuronas al proceso degenerativo presenta variaciones regionales importantes. Se ha observado la presencia de grandes agregados paranucleares de NP1 en motoneuronas en proceso de degeneración que excluyen la trama de neurofilamentos teniendo una organización comparable a la de los agregomas. Las neuronas degeneradas con agregados de NP1 no presentan activación microglial adyacente. Por otra parte, en los focos neuroinflamatorios perineuronales, el daño neuronal no está asociado a la formación de agregados de NP1.

TRAUMA

P272. RESPUESTA INFLAMATORIA CEREBRAL: PAPEL DEL TNF

A. QUINTANA ROMERO^A, M. GIRALT CARBONELL^B, S. ROJAS CODINA^C, M. PENKOWA^D, I.L. CAMPBELL^E, A. MOLINERO EGEA^F, J. HIDALGO PAREJA^G

^AFISIOLOGÍA ANIMAL. CIENCIAS^FFISIOLOGÍA ANIMAL, FACULTAD DE CIENCIAS.

^GFISIOLOGÍA ANIMAL UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA, CER-

DANYOLA DEL VALLÈS. ^BFISIOLOGIA ANIMAL, FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSI-

DAD AUTÓNOMA BARCELONA. BELLATERRA. ^CFISIOLOGIA ANIMAL, FACULTAD DE

CIENCIAS. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. ^DDEPARTMENT

OF MEDICAL ANATOMY. THE PANUM INSTITUTE, UNIVERSITY OF COPENHAGEN.

COPENHAGEN. ^ESCHOOL OF MOLECULAR AND MICROBIAL BIOSCIENCES. UNIVERSI-

TY OF SYDNEY. SYDNEY, AUSTRALIA

El factor de necrosis tumoral (TNF- α) es uno de los mediadores que se incrementan drásticamente en lesiones traumáticas cerebrales, y que conduce a la activación, proliferación e hipertrofia de células mononucleares fagocíticas y gliosis. Esta citocina ejerce sus funciones vía interacción con dos receptores: de tipo-1 (TNFR1) y tipo-2 (TNFR2). En este trabajo analizamos la respuesta inflamatoria tras una lesión traumática de la corteza (criolesión) en ratones controles (WT) y en ratones deficientes en TNFR1 (TNFR1KO) o TNFR2 (TNFR2KO). La deficiencia de TNFR1, pero no de TNFR2, disminuyó significativamente la respuesta inflamatoria y el daño cerebral causado por la criolesión tanto a los 3 como a los 7 días tras lesión, con gliosis disminuida, menor inmunotinción de IL-1b, y una reducción de la apoptosis. La criolesión produjo una inducción clara de la citoquinas proinflamatorias IL1a, IL1b, IL6 y TNF-a, la cual fue de menor entidad en los ratones TNFR1KO. La respuesta de algunos genes *Host response* (ICAM-1, A20, EB22/5 y GFAP) también se vio reducida en los ratones TNFR1KO, así como la de genes relacionados con la apoptosis/muerte celular (Fas, Rip, p53), metaloproteinasa de la matriz extracelular (MMP3, MMP9, MMP12) y sus inhibidores (TIMP1), lo que sugiere un papel claro del TNFR1 en la remodelación de la matriz extracelular tras el daño cerebral. Sin embargo, la expresión de GDNF,

NGF y BDNF no se vio afectada por la deficiencia de TNFR1. En general, estos resultados sugieren que el TNFR1 es una clara diana terapéutica tras lesiones traumáticas cerebrales.

P273. AN IN VITRO MODEL OF SPINAL CORD INJURY: ANALYSIS OF COMBINED NEUROPROTECTIVE STRATEGIES
M. GUZMAN LENIS, C. PENAS PÉREZ, X. NAVARRO ACEBES, C. CASAS
GRUPO DENEUROPLASTICIDAD Y REGENERACIÓN. INSTITUTO DENEUROCIENCIAS.
BELLATERRA, BARCELONA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MERG-CT-04-00638 (MARIE-CURIE REINTEGRATION GRANT).

Several factors that interfere in distinct pathways have been assayed in animal models with spinal cord injury to minimize excitotoxicity, apoptosis and necrosis or to modulate the inflammatory response. In addition, cell-based therapeutic strategies have raised interest due to their capability to promote neuroprotection and to reconstitute lost cells. Combined therapies seem to be the most straightforward way to achieve an optimized strategy to cope with spinal trauma. In order to assay different cell-based applications with concurrent or sequential application of neuroprotective and regenerative factors we have established an in vitro model for spinal trauma based on organotypic-slice cultures. Slices from spinal cord of 7 day-old rats were cultured either in the standard organotypic medium (MEM, 25% FBS) or an optimized medium without serum (neurobasal medium/B27). The integrity of the basic cytoarchitecture was characterized by immunohistochemistry against SMI-32, GFAP and MBP. The slices treated with MEM at 15 days showed 23.7 ± 16.1 SMI-32 positive cells and with NB 43.6 ± 7.8 . Moreover, we have established different injury models on the slices such as glutamate-induced excitotoxicity (50 μ M, 30 min) and traumatic rolling method. Different strategies to promote neuronal survival or cellular restitution have been assessed including the application of FK506 and the grafting of stem cells, respectively. Optimal strategy could be further analysed in the future in vivo in rat models.

P274. SPINAL CORD INJURY INDUCES ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS
C. PENAS PÉREZ, E. VERDÚ NAVARRO, M. GUZMÁN LENIS, X. NAVARRO ACEBES, C. CASAS LOUZAD
GRUPO DENEUROPLASTICIDAD Y REGENERACIÓN. INSTITUTO DENEUROCIENCIAS.
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA, BARCELONA, ESPAÑA

Traumatic injury of the central nervous system is characterized by a primary mechanical impact that frequently causes bone fracture and disruption of parenchyma and blood vessels. Besides this primary impact, a secondary post-traumatic injury occurs and leads to an expansion of the lesion. Several cascade events have been associated with the secondary injury but the mechanisms involved are currently unknown. In order to shed light into those mechanisms we have investigated whether the signalling cascade commonly activated by stress on the endoplasmic reticulum (ER) could be involved. Those cascades involved mainly PERK, IRE-1 and ATF-6 activations. We have analysed them in a weight-drop contusion model of spinal cord injury in rat. We obtained the damaged spinal cord segment and performed RNA and protein extraction at 6 h, 24 h, 3 and 5 days post-contusion. We also performed immunohistochemistry on paraffin sections. Preliminary results show that genes BiP, Chop and xbp1 are progressively up-regulated from 6 hours to 3 days post-lesion, indicating that ATF-6 is activated. Moreover, the particular splicing of xbp1 mediated by IRE-1 also appears. We are currently analysing the involvement of PERK-mediated signalling. The results obtained indicate that ER stress may be one of the key events in the secondary induced cell death after spinal cord injury.

P275. PARTICIPACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LOS PROCESOS DE CRECIMIENTO AXONAL Y REINERVAÇÃO MUSCULAR TRAS LA LESIÓN DEL NERVIÓ HIPOGLOSO EN LA RATA ADULTA
C.R. SUNICO, F. PORTILLO, D. GONZÁLEZ-FORERO, B. MORENO-LÓPEZ
ÁREA DE FISIOLÓGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UCA. CÁDIZ, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MCT (BF12001-3816)

La lesión de un nervio periférico induce la sobreexpresión de las isoformas neuronal (NOS-I), inducible (NOS-II) y endotelial (NOS-III) de la óxido nítrico (NO) sintasa en el lugar de la lesión. El objetivo de este trabajo fue estudiar la implicación del NO sintetizado por las distintas isoformas en los procesos de crecimiento axonal y reineración muscular tras la lesión unilateral por aplastamiento del XII par craneal (XII) en ratas adultas. El potencial de acción muscular compuesto (PAMC) evocado por estimulación eléctrica del nervio desapa-

reció completamente tras la lesión y permaneció así al menos durante una semana. Sin embargo, en animales tratados con el inhibidor de amplio espectro de la NOS, L-NAME (90 mg/kg/día), se observó cierta recuperación en el PAMC ($14.3 \pm 5.1\%$), no así con el esteroisómero, el inhibidor específico de la NOS-I (7-nitroindazol, 30 mg/kg/día) ó de la NOS-II (aminoguanidina, 100 mg/kg/día). La implicación del NO sobre el crecimiento de los axones se estudió cuantificando el número de motoneuronas marcadas retrógradamente con fluorogold bombeado 1 cm distal a la lesión. El tratamiento con L-NAME (1241.5 ± 77.7) aumentó significativamente el número de motoneuronas marcadas a los dos días postlesión con respecto a los animales tratados con vehículo (545.2 ± 166.7). La administración de 7-nitroindazol (895.1 ± 48.4) o aminoguanidina (818.1 ± 28.9) aumentó, aunque no significativamente, el número de motoneuronas marcadas. Estos datos sugieren un papel diferencial del NO sintetizado por las distintas isoformas de la NOS en los procesos de crecimiento axonal y reineración muscular tras la lesión de un nervio motor.

NEUROONCOLOGÍA

P276. PERFIL PROTEICO DIFERENCIAL EN ASTROCITOMAS HUMANOS MEDIANTE MATRICES DE ANTICUERPOS
O. LEIS ESNAOLA ^A, S. BULNES SESMA ^A, H. BENGOTXEA ODRIOZOLA ^A, G. AZKONA MENDOZA ^A, E. G. ARGANDOÑA ^B, J. V. LAFUENTE SÁNCHEZ ^A
^A LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. DEPARTAMENTO NEUROCIENCIAS EHU-UPV. BILBAO. ^B LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. DEPARTAMENTO ENFERMERÍA EHU-UPV. BILBAO, ESPAÑA

Introducción. Las matrices de anticuerpos se están proponiendo como herramientas útiles en la identificación y cuantificación simultánea de proteínas. Los perfiles obtenidos trazan posibles biomarcadores de la historia natural del tumor e indicadores de dianas terapéuticas. *Material y métodos.* Mediante el uso de una matriz de 19 anticuerpos (Bcl-2, caspasa-1, caspasa10, E2F1, E-cadherina, EGFR, HSP-70, integrina alfa 5, integrina beta 3, MGMT, MMP-9, P21waf1/cip1, p53, PTEN, Rb(p110), VEGFR1, VEGFR2, ZO-1, y actina; de Hypromatrix), se ha estudiado el perfil proteico de 35 muestras; 15 astrocitomas de bajo grado, y 15 glioblastomas, en comparación con 5 muestras de individuos control (individuos libres de tumor); previamente diagnosticados clínicamente e histopatológicamente. Realizamos la cuantificación de las áreas correspondientes a cada 'spot' inmunopositivo utilizando el programa Image J. *Resultados.* Encontramos diferencias entre el grupo control y el grupo glioblastoma; y entre el grupo control y el grupo astrocitoma de bajo grado; esas diferencias son más reseñables, entre los dos estadios tumorales seleccionados para la mayoría de las proteínas incluidas en el estudio; con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), en el caso de la expresión proteica de caspasa-1, caspasa 10, E-cadherina, p53, VEGFR2. Y altamente significativa ($p < 0.005$) en el caso de la expresión de Bcl-2, EGFR, MMP-9, PTEN, Rb(p110). *Conclusión.* La identificación y caracterización de perfiles diferenciales de expresión proteica hace posible la validación de asociaciones de moléculas implicadas en diversas vías de señalización como biomarcadores de interés pronostico.

P277. ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LA RED MICROVASCULAR EN DIFERENTES ESTADOS DE DESARROLLO DE GLIOMAS EXPERIMENTALES
S. BULNES SESMA ^A, O. LEIS ESNAOLA ^B, H. BENGOTXEA ODRIOZOLA ^B, E. G. ARGANDOÑA ^C, J.V. LAFUENTE SÁNCHEZ ^D
^A LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. DEPARTAMENTO NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO (UPV-EHU). BILBAO. ^B LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. DEPARTAMENTO NEUROCIENCIAS/UPV-EHU. BILBAO. ^C LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. DEPARTAMENTO ENFERMERÍA/UPV-EHU. BILBAO. ^D LABORATORIO DENEUROCIENCIA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL (LANCE) GRUPO 15887. NEUROCIENCIAS/UPV-EHU. BILBAO, ESPAÑA

Introducción. Durante proceso de crecimiento de un tumor la red microvascular experimenta adaptaciones que dependen del requerimiento metabólico de las células neoplásicas. Nuestro objetivo es cuantificar la superficie vascular durante el desarrollo tumoral. *Material y métodos.* Se inducen oligodendrogliomas en ratas Sprague Dawley mediante administración transplacentaria de Etilnitrosourea en el día 15 de gestación. Los tumores se localizan mediante imágenes de RM y se realiza HE e histoquímica para la LEA. Se cuantifica la densidad vascular, área vascular y se calcula el área ocupada por la red vascular por mm2 de tumor mediante morfometría asistida por ordenador. Las ratas han sido criadas según la Directiva de la UE (86/609/EEC). *Resultados:* Se diferencian cuatro estados de desarrollo

17.09.05

tumoral; I-II (oligodendrogliomas no anaplásicos) y III-IV (oligodendrogliomas anaplásicos). Los estados I y II presentan vasos similares a los del parénquima cerebral de $75,8 \pm 17,5 \mu\text{m}^2$ y de $192,3 \pm 61,17 \mu\text{m}^2$, el estado III vasos tortuosos de $2.125 \pm 695,2 \mu\text{m}^2$ y el estado IV vasos dilatados de $19.615 \pm 3.743 \mu\text{m}^2$. La densidad vascular decrece según se aumenta el estado de desarrollo tumoral, 30% de I-II, 50% II-III y 79,09% III-IV. El área de tumor ocupada por los vasos en los estados III-IV es 4 veces mayor que en los estados I-II ($0,1417 \pm 0,00194 \text{ mm}^2$ frente a $0,03564 \pm 0,00836 \text{ mm}^2$, $p < 0,00001$). **Conclusión.** En el proceso de malignización del oligodendroglioma el área tumoral ocupada por las secciones vasculares aumenta debido no al incremento de la densidad vascular sino al aumento del tamaño vascular.

P278. ORIGEN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO INDUCIDAS POR GLITAZONAS EN CÉLULAS DE ASTROGLIOMA

J.M. PÉREZ-ORTIZ, C. FERNÁNDEZ-VAQUERO, P. TRANQUE-GÓMEZ, J. LLOPIS BORRÁS

FACULTAD DE MEDICINA Y CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA

Objetivos. Las glitazonas (o tiazolidindionas) son ligandos sintéticos del receptor nuclear PPARgamma con efectos antidiabéticos y antiinflamatorios. Recientemente hemos demostrado que estos compuestos provocan pérdida de viabilidad y apoptosis en células de astroglioma C6. Estos efectos no parecen estar mediados por PPARgamma, sino por el incremento de las especies reactivas del oxígeno (ROS) que las glitazonas inducen a tiempos cortos (5-30 min). Pretendemos determinar si la mitocondria es el origen de ROS y, en ese caso, si las glitazonas actúan sobre alguno de los complejos de la cadena de transporte electrónico. **Métodos.** Entre las sondas fluorescentes utilizadas se incluyen dihidrodiclorofluoresceína, para detectar peróxido de hidrógeno mediante citometría de flujo, y tetrametilrodamina etil éster para determinar el potencial de membrana mitocondrial mediante microscopía de fluorescencia. Para analizar la procedencia de ROS hemos empleado inhibidores de fuentes extramitocondriales de ROS (NADPH oxidasa) e inhibidores de la cadena de transporte electrónico. **Resultados y conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que las glitazonas actúan sobre la mitocondria, posiblemente a nivel del complejo I, generando un aumento significativo de ROS y pérdida del potencial eléctrico (efecto que se revierte en presencia del protonóforo FCCP o en ausencia de glucosa en el medio). Además, disminuyen los niveles de ATP celular. Todo ello, junto con los resultados previos de nuestro grupo, sugiere que las glitazonas ejercen efectos agudos sobre las mitocondrias que son independientes de PPARgamma, y posiblemente responsables de sus efectos tóxicos en células de astroglioma.

NEUROTOXICOLOGÍA

P279. EFECTO DE LA EXPOSICIÓN AL ETANOL SOBRE LA GLICOSILACIÓN EN NEURONAS EN DESARROLLO

A. BRAZA BOÍLS^A, M. TOMÁS CABALLERO^B, M.P. MARÍN MUELA^C, L. MEGÍAS MEGÍAS^D, M. SANCHO-TELLO^E, E. FORNÁS IZQUIERDO^F, J. RENUA PIQUERAS^F

^A SEC. BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA CELULAR. CENTRO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL LA FE. VALENCIA. ^B SEC. BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA CELULAR. CENTRO INVESTIGACIÓN. HOSPITAL LA FE. VALENCIA. ^C SEC. BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA CELULAR. CENTRO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL LA FE. VALENCIA. ^D DEPARTAMENTO ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA. ^E SEC. BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA CELULAR. CENTRO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL LA FE. VALENCIA, ESPAÑA

La síntesis, glicosilación y transporte de los N-glicanos son procesos fundamentales en el desarrollo neuronal y las alteraciones en estos procesos pueden causar múltiples anomalías incluyendo defectos neurológicos. El consumo de etanol durante la gestación induce en el feto un amplio espectro de alteraciones en el desarrollo, siendo las más notorias las que afectan al SCN (síndrome alcohólico fetal). Diversas evidencias indican que dicha exposición afecta la síntesis así como la expresión de las moléculas de adhesión NCAM y L1 en células neuronales. El objetivo del presente estudio es analizar mediante diversas técnicas el efecto del etanol (30 mM, 138 mg/dL) sobre el proceso de glicosilación en cultivos primarios de 7 días de neuronas hipocámpales de fetos de rata. Nuestros resultados indican que dicho tratamiento afecta la proliferación neuronal, induce un incremento en los niveles de los transportadores GLUT1 y GLUT3 y reduce la incorporación de manosa pero no la de 2-deoxiglucosa y ManNAc (precursor de ac. siálico). Los análisis mediante inmunoelectin revelaron que el etanol inducía microheterogeneidad cuando las glicoproteínas se analizaron con GNA (detecta manosa terminal) pero no cuando se utilizaba MAA (marca ac. siálico terminal).

P280. EFECTO DE LA INGESTA CRÓNICA DE ALCOHOL SOBRE LA ACTIVIDAD ANGIOTENSINASA DE SINAPTOSOMAS CORTICALES DE RATÓN: INFLUENCIA SOBRE EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA CEREBRAL

P. CORTÉS DENIA^A, J. M. MARTÍNEZ MARTOS^A, S. DE LA CHICA^A, B. CAMACHO^B, M. J. RAMÍREZ EXPÓSITO^A

^A DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD/FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN. ^B NEUROLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE JAÉN. JAÉN, ESPAÑA

Las actividades enzimáticas aspartil-aminopeptidasa (AspAP) y glutamil-aminopeptidasa (GluAP), también denominadas aminopeptidasa A o angiotensinasa, participan en el metabolismo de la angiotensina II hasta angiotensina III, dentro del sistema renina-angiotensina cerebral (SRAC) para el control central de la presión sanguínea y otras funciones neurotransmisoras/neuromoduladoras. El alcohol (EtOH) provoca hipertensión, y el cerebro es especialmente sensible a la hipertensión, provocando diversas alteraciones celulares y vasculares. Estudios in vitro demuestran que la administración de EtOH inhibe la actividad angiotensinasa, tanto en condiciones basales (de forma calcio-independiente) como despolarizantes (de forma calcio-dependiente). En el presente trabajo analizamos el efecto de la ingesta crónica de EtOH al 15% en el agua de bebida durante 30 días, sobre las actividades AspAP y GluAP (determinadas frente a los sustratos aspartil-β-naftilamida y glutamil-β-naftilamida) en condiciones basales y despolarizantes, a nivel de sinaptosomas de corteza frontal de ratón, evaluando la influencia de la presencia o ausencia de calcio en el medio de incubación. Los resultados demuestran que el EtOH no modifica la actividad angiotensinasa a nivel basal en presencia de calcio, pero sí en su ausencia. Además, el EtOH inhibe el incremento de la actividad angiotensinasa inducido por la despolarización en presencia de calcio, fenómeno que no tiene lugar en ausencia de calcio. Puesto que el SRAC está implicado en la patogénesis de la hipertensión a diversos niveles, el efecto inhibitorio general del EtOH sobre las angiotensinas explicaría las alteraciones en la regulación de la presión sanguínea, del flujo sanguíneo local o del balance de líquidos y electrolitos.

P281. LA INGESTA CRÓNICA DE ALCOHOL PROVOCA ESTRÉS OXIDATIVO EN SINAPTOSOMAS DE CORTEZA FRONTAL DE RATÓN DE FORMA CALCIO-DEPENDIENTE

M.J. RAMÍREZ EXPÓSITO^A, P. CORTÉS DENIA^A, S. DE LA CHICA RODRÍGUEZ^A, B. CAMACHO MUÑOZ^B, J.M. MARTÍNEZ MARTOS^A

^A CIENCIAS DE LA SALUD/FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE JAÉN. JAÉN. ^B NEUROLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE JAÉN. JAÉN, ESPAÑA

El consumo crónico de alcohol (etanol, EtOH) puede dañar el sistema nervioso central (SNC) e inducir neurodegeneración. El presente trabajo evalúa, en sinaptosomas de corteza frontal de ratón, los parámetros de estrés oxidativo: generación de radicales libres, formación de peróxidos lipídicos (como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS), oxidación de proteínas y comportamiento bioenergético mitocondrial, tanto en condiciones basales como despolarizantes, y en presencia o ausencia de calcio en el medio de incubación, tras la administración crónica de EtOH al 15% en agua de bebida durante 30 días. Los resultados muestran como la ingesta crónica de EtOH provoca un incremento en los niveles de radicales libres detectados tanto en condiciones basales como despolarizantes, pero solamente en presencia de calcio en el medio, no detectándose en ausencia de calcio. Sin embargo, solamente se encontró peroxidación lipídica, aunque tanto en condiciones basales como despolarizantes, cuando los sinaptosomas se incubaron en un medio sin calcio. En cualquier caso, el metabolismo mitocondrial se encontró disminuido tanto en presencia como en ausencia de calcio en el medio, si bien en presencia de calcio solo es detectable en condiciones despolarizantes, mientras que en ausencia de calcio es detectable tanto en condiciones basales como despolarizantes. Finalmente, las alteraciones encontradas en los niveles de oxidación proteica solo se observaron en presencia de calcio en el medio. Se puede concluir por tanto que la neurodegeneración inducida por la ingesta crónica de EtOH precisa la alteración, bien de forma previa, bien de forma concomitante, de la homeostasis del calcio.

P282. DISCRIMINACIÓN DE LOS NITRILLOS NEUROTÓXICOS EN DOS GRUPOS CARACTERIZADOS POR SUS EFECTOS HISTOLÓGICOS Y MOTORES EN LA RATA

J. LLORENS, J. RIERA, P. BOADAS-VAELLO

DEP. CIÈNCIES FISIOLÒGIQUES II. UNIVERSITAT DE BARCELONA. HOSPITAL DE LLOBREGAT. BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MICYT (BFI 2003-01606)

El presente estudio comparó en la rata las propiedades neurotóxicas de los nitrilos 3,3'-iminodipropionitrilo (IDPN), alilnitrilo (AN), cis-crotonitrilo (cis-CN), trans-crotonitrilo y 2,4-hexadienenitrilo (HDN). Se trataron ratas Long-Evans

macho adulto con aceite (control), IDPN (400 mg/kg/día), AN (50 mg/kg/día), cis-CN (110 mg/kg/día), trans-CN (250 mg/kg/día) o HDN (300 mg/kg/día), i.p., 3 días consecutivos. En un lote de ratas se evaluó el efecto de los nitrilos sobre el comportamiento motor. En otro lote se evaluó la degeneración neuronal en todo el SNC mediante Fluoro-Jade B. El comportamiento de los animales discriminó dos grupos de nitrilos. Las ratas tratadas con IDPN, AN y cis-CN mostraron altas puntuaciones en una batería de evaluación de disfunción vestibular, un patrón de marcha similar al de las ratas control, así como hiperactividad y disminución del número de alzados en campo abierto. Los animales tratados con trans-CN y HDN mostraron una función vestibular intacta, disminución de la longitud del paso y disminución de alzados pero sin hiperactividad en campo abierto. El trans-CN y el HDN causaron un patrón similar de degeneración neuronal selectiva en el SNC: la degeneración de la oliva inferior aparece como responsable del efecto motor. Por el contrario, IDPN, AN y cis-CN no causaron degeneración neuronal, así que su conocida toxicidad vestibular es plenamente responsable de sus efectos sobre el comportamiento. En conclusión, hay nitrilos con toxicidad central y nitrilos con toxicidad vestibular, distinguibles por sus diferentes efectos motores.

P283. ESTUDIO DEL EFECTO NEUROTOXICO DEL ACIDO GAMMAHIDROXIBUTIRICO (GHB) EN RATAS EVALUADO CON EL TEST DEL HOLE-BOARD Y UNA BATERIA DE PRUEBAS SENSORIOMOTORAS

F.B. GARCÍA, A. HERRERA, C. PEDRAZA, J.F. NAVARRO
DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA Y METODOLOGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA.
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

Objetivo. El ácido gammahidroxibutírico (GHB) es una droga con potencial de abuso que cumple los principales criterios para ser considerado un neurotransmisor. Nuestro objetivo es examinar si la administración subcrónica de GHB (10 y 100 mg/kg, i.p.) provoca efectos neurotóxicos en ratas macho, utilizando un modelo conductual de memoria (*hole-board*) y una batería de tests sensoriomotores. **Metodología.** El test del *hole-board* está compuesto por una superficie cuadrada con paredes en cada zona lateral. La superficie se divide en 25 cuadrantes con 16 agujeros equidistantes, cuatro de los cuales funcionan como reforzadores, ya que guardan comida en su interior, manteniendo su situación constante a lo largo de las sesiones. Se pasaron un total de seis días de pruebas, con cuatro sesiones/día, con una duración máxima de tres minutos por sesión. La batería de tests sensoriomotores utilizada incluía un total de 14 tests sensoriales y motores. El déficit en cada test se cuantificó en función de una escala de gravedad de tres puntos. **Resultados.** Los animales tratados con GHB (10 mg/kg) mantenían significativamente reducida la memoria de trabajo, en comparación con los animales que recibieron la dosis de 100 mg/kg de GHB ($p < 0,05$) y el grupo control ($p < 0,01$). Asimismo, los tests sensoriomotores evidenciaron un déficit significativo en el reflejo de *grasping* ($p < 0,05$). **Conclusión.** Nuestros resultados sugieren que la administración subcrónica de GHB afecta la memoria de trabajo y el reflejo de *grasping*, alterando probablemente la funcionalidad de regiones cerebrales específicas tales como la corteza prefrontal medial.

P284. EL METILMERCURIO (MEHG) Y EL BIFENILO POLICLORURADO PCB 153 SON NEUROTOXICOS QUE ALTERAN LA VÍA GLUTAMATO-ÓXIDO NÍTRICO-GMPC EN CULTIVOS DE NEURONAS DE CEREBELO

B. PIEDRAFITA BAUDÍN^A, C. MONTOLIÚ^B, M. LLANSOLA^C, R. RODRIGO^C, P. MONFORT^C, O. CAULI^C, S. ERCEG^C, V. FELIPO^C
^A LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA. CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRÍNCIPE FELIPE-FVIB. VALENCIA. ^B SERVICIO DE HEPATOLOGÍA. HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALENCIA. VALENCIA. ^C LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA. CIPF-FVIB. VALENCIA, ESPAÑA

El sistema nervioso es especialmente vulnerable a agentes tóxicos durante el desarrollo. Se ha comprobado que compuestos como el metilmercurio (MeHg) y los bifenilos policlorurados (PCB) son neurotóxicos. Ambos compuestos se acumulan en la cadena alimentaria y están presentes conjuntamente, por ejemplo, en algunos pescados. Los estudios realizados hasta ahora han analizado algunos posibles efectos neurotóxicos de cada compuesto por separado. Se sospecha que la exposición a mezclas de estos compuestos puede inducir efectos diferentes a la exposición individual a cada uno. Estamos estudiando los efectos neurotóxicos de exposiciones a combinaciones de estos agentes y los posibles mecanismos moleculares implicados. La vía glutamato-óxido nítrico-GMP cíclico (Glu-NO-cGMP) modula importantes procesos cerebrales. Alteraciones en esta vía pueden conducir a alteraciones neurológicas. La activación de receptores de glutamato (especialmente del tipo NMDA) conduce a un aumento de calcio intracelular, que

se une a la calmodulina, activando la óxido nítrico sintasa. El aumento de óxido nítrico activa la guanilato ciclasa soluble, produciendo un aumento en la concentración del GMPc. Hemos analizado los efectos del metilmercurio (MeHg) y de PCB 153, por separado y en combinación, sobre esta vía en cultivos primarios de neuronas de cerebelo. El tratamiento *in vitro* durante 14 días con diferentes concentraciones de estos compuestos induce muerte neuronal a partir de concentraciones 30 mM para PCB153 y 30 nM para MeHg. La combinación PCB153+MeHg potencia la toxicidad individual de los compuestos. La exposición de las neuronas a estos agentes neurotóxicos altera la función de la vía Glu-NO-cGMP.

P285. ALTERACIÓN DE LOS SISTEMAS GLUTAMATÉRGICO Y GABÉRGICO POR EXPOSICIÓN A CONCENTRACIONES SUBCITOTÓXICAS DEL PESTICIDA ORGANOCORADO DIELDRÍN EN CULTIVOS DE CÉLULAS GRANULARES DE CEREBELO

Z. BABOT, C. SUÑOL
DEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA, CSIC (IDIBAPS), BARCELONA, ESPAÑA

Objetivos. En cultivos de células granulares de cerebelo, la despolarización por alta $[K^+]_e$ produce excitotoxicidad por glutamato liberado, dependiente de receptores NMDA y GABAA. El pesticida organoclorado dieldrín se une al receptor GABAA bloqueando el flujo de cloruro. En este trabajo se estudia el efecto de concentraciones subcitotóxicas de dieldrín sobre los sistemas glutamatérgico y gabérgico. **Métodos.** Cultivos primarios de células granulares de cerebelo de ratón expuestos a dieldrín de 2 a 8-12 días *in vitro*. Se utilizaron ensayos de unión de radioligandos y flujo de cloruro ($^{36}Cl^-$) para la caracterización del receptor GABAA y medida de $[Ca^{2+}]_i$ con fluo-3 para el receptor NMDA. Los aminoácidos endógenos se cuantificaron por HPLC y la viabilidad neuronal se determinó con MTT. **Resultados.** La exposición crónica a dieldrín redujo significativamente, de manera concentración dependiente, la liberación de glutamato inducida por despolarización ($[glutamato]_e$: 3,9 μM y 0,8 μM en control y 3 μM dieldrín), siendo las concentraciones de aminoácidos intracelulares iguales en cultivos control y tratados. Las células expuestas a dieldrín fueron menos vulnerables a la muerte por excitotoxicidad. La exposición a dieldrín (3 μM) redujo un 40% el flujo de cloruro inducido por 100 μM GABA y un 52% la unión de $[^{35}S]TBPS$ al receptor GABAA. Asimismo, 3 μM dieldrín redujo un 66% el incremento de $[Ca^{2+}]_i$ inducido por 30 μM NMDA. **Conclusiones.** La exposición crónica a bajas concentraciones de dieldrín disminuyó el efecto del estímulo despolarizante debido al bloqueo de forma crónica del receptor GABAA y/o a un cambio de los receptores NMDA.

P286. LOS INHIBIDORES DEL INTERCAMBIADOR Na^+/H^+ POTENCIAN LOS DÉFICIT SEROTONÉRGICOS INDUCIDOS POR LA 3,4-METILENIOXIMETANFETAMINA EN RATA

B. GOÑI-ALLO, M. RAMOS, E. PUERTA, B. LASHERAS, J. DEL RÍO, N. AGUIRRE
FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

Introducción. La 3,4-metilelenioxi metanfetamina (MDMA, 'éxtasis') es una toxina selectiva de las terminales serotoninérgicas en rata, sin embargo, los mecanismos implicados no se conocen con precisión. **Hipótesis.** La MDMA altera la función de los intercambiadores Na^+/Ca^{2+} y/o Na^+/H^+ al comprometer el gradiente de entrada de Na^+ debido a su acumulación intracelular por una activación prolongada del transportador de serotonina y posible inhibición de la bomba Na^+/K^+ ATPasa. Como consecuencia se pierde la homeostasis iónica lo que conduce a la destrucción de la terminal. **Resultados.** La administración de los inhibidores de los intercambiadores de Na^+/Ca^{2+} y/o Na^+/H^+ amiloride o dimetilamiloride potenciaron marcadamente la pérdida de serotonina inducida por MDMA (3 ' 5 mg/kg i.p., cada 2 h) en distintas regiones cerebrales. Dicha potenciación fue bloqueada por fluoxetina (10 mg/kg i.p.) pero no por los antagonistas de los canales de Ca^{2+} voltaje dependientes flunaricina o diltiazem. Por contra, la administración intraestriatal del inhibidor de la bomba Na^+/K^+ ATPasa ouabaína no potenció la pérdida de serotonina inducida por MDMA. Por último, la perfusión intraestriatal de MDMA (100 μM , 8 horas) sola o en combinación con amiloride (i.p.) no resultó tóxica. **Conclusión.** Estos resultados sugieren que amiloride y dimetilamiloride potencian los déficit serotoninérgicos inducidos por la MDMA por un descenso del pH intracelular más que por una disregulación iónica general. Sin embargo, dicho efecto sólo se observa cuando la MDMA se administra de forma sistémica lo que apoya la hipótesis de que el metabolismo de esta droga es un paso necesario en el proceso de neurotoxicidad.

P287. PEROXIDACIÓN LIPÍDICA Y MUERTE NEURONAL INDUCIDA POR BAJAS CONCENTRACIONES DE METIL MERCURIO EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS GRANULARES DE CEREBELO DE RATÓN

I. VENDRELL, C. SUÑOL

INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA. CONEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC-IDIBAPS). BARCELONA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF 2003-04930 Y BECA I3P-POSTGRADO (I.V.), COFINANCIACIÓN FEDER

Objetivos. El metil mercurio (MeHg) es un compuesto altamente tóxico durante el desarrollo del SNC. El objetivo del estudio es determinar los mecanismos responsables de la muerte neuronal inducida por exposición crónica a bajas concentraciones de MeHg durante la diferenciación neuronal. **Material y métodos.** Cultivos primarios de células granulares de cerebelo expuestos a MeHg de 2 a 7-9 días *in vitro*. La muerte neuronal fue determinada mediante el ensayo de MTT. La lipoperoxidación se determinó midiendo los niveles de 8-isoprostano mediante ensayo ELISA. Se utilizaron ensayos de unión de radioligando para determinar el transporte de glutamato así como la actividad del receptor GABA_A. **Resultados.** MeHg produjo incremento significativo de los niveles de 8-isoprostano y muerte neuronal de manera tiempo- y concentración-dependiente. Ambos efectos fueron inhibidos por el antioxidante probucol. La muerte celular fue prevenida por trolox, deferoxamina y ácido ascórbico, aunque ni el trolox ni el ácido ascórbico redujeron los niveles de 8-isoprostano. Propil gallato (10 µM), antioxidante protector frente a una exposición aguda a MeHg, no protegió de forma completa los cultivos expuestos a 300 nM MeHg. La actividad del receptor GABA_A y el transporte de glutamato no fueron alterados por concentraciones no citotóxicas de MeHg (100 nM). Además, 5 µM MK-801 (antagonista del receptor NMDA-Glutamato) y 10 µM tímulo (modulador positivo del receptor GABA_A) no protegieron de los efectos neurotóxicos del MeHg. **Conclusiones.** La muerte inducida por la exposición continuada a MeHg está mediada por procesos de oxidación celular.

NEUROINMUNOLOGÍA E INFECCIONES

P288. REGULACIÓN POR GD3 DE LA RESPUESTA PROINFLAMATORIA MEDIADA POR INTERLEUQUINA 15 (IL-15) EN MICROGLÍA MURINA

D. GÓMEZ NICOLA^A, E. DONCEL PÉREZ^B, M. NIETO SAMPEDRO^A

^A PLASTICIDAD NEURAL. INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA RAMÓN Y CAJAL. MADRID.
^B NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL. HOSPITAL NACIONAL DE PARAPLÉJICOS. TOLEDO, ESPAÑA

Introducción. El ambiente inflamatorio creado tras lesiones traumáticas del sistema nervioso central y en patologías de origen autoinmune, es responsable en gran medida del daño observado. La microglía es responsable fundamental en la iniciación y mantenimiento de la inflamación, mediada por la acción de las citocinas, regulada a su vez por gangliósidos del sistema nervioso. Ambos, citocinas y gangliósidos, ven alterados sus niveles tras procesos lesivos. **Objetivos.** Evaluar la posible acción antiinflamatoria de GD3 sobre microglía estimulada con IL-15, determinando la acción del gangliósido sobre la expresión de IL-15 y de su receptor (IL15Ra), así como sobre los principales reguladores de la respuesta inflamatoria (NFκB y NFAT). **Materiales y métodos.** En el presente trabajo hemos utilizado cultivos celulares de la línea microglial N13 y cultivos primarios de microglía murina para caracterizar la acción de GD3, gangliósido mayoritario y con gran influencia sobre la expresión de IL15, IL15Ra, NFATc2 y NFκB mediante RT-PCR semicuantitativa, ELISA e inmunocitoquímica. Se evaluó la producción de óxido nítrico (NO) como reflejo de la actividad de NFκB. **Resultados y discusión.** Los resultados indican que GD3 es un potente regulador de la respuesta inflamatoria de la microglía, reduciendo la expresión de IL-15 y de IL15Ra, así como de los factores de transcripción NFκB y NFAT, modulando incluso la producción de NO. Este novedoso sistema inflamatorio en microglía se manifestaría en los primeros momentos tras la lesión nerviosa y podría ser clave en el reclutamiento de células inmunes.

P289. INMUNOEXPRESIÓN CENTRAL DE PCT E iNOS FRENTE A LA RESPUESTA FEBRIL EN RATAS ENDOTOXÉMICAS

M. L. OJEDA^A, R. MALDONDO^A, E. TAVARES^A, J. AMBROSIANI^A, A. DOÑA^B, J. A. AGUIRRE^B, F. J. MIÑANO^A

^A DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. H.U. VIRGEN DE VALME. SEVILLA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA. MÁLAGA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: FUNDACIÓN VALME

La procalcitonina (PCT), importante marcador de infecciones gramnegativas, es potencial mediador de reacciones inflamatorias. Estudios anteriores en nuestro laboratorio demuestran que la administración periférica y central de PCT compromete la temperatura corporal (Tc) en circunstancias normales y en procesos febriles de origen gramnegativo, y que la PCT se expresa en zonas termorreguladoras tras la administración periférica de lipopolisacárido (LPS). Se desconoce cuál es su papel biológico durante las infecciones, aunque existe interrelación entre ella, las citocinas y la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) capaz de ser inducida por estímulos pirogénicos como LPS y citocinas. El objetivo de este estudio ha sido ver si existe relación termorreguladora central entre la PCT y NO tras la administración periférica de LPS. Para ello utilizamos técnicas inmunohistoquímicas sobre secciones seriadas de hipotálamos de ratas tratadas g/kg i.p.) a tiempos diferentes, con objeto de localizar PCT e con LPS (100 iNOS, enzima sintetizadora NO en el cerebro). Se encontraron PCT e iNOS en zonas termorreguladoras existiendo un marcaje dependiente del tiempo relacionado con el proceso febril, en ratas tratadas con LPS a diferentes tiempos. También se ha detectado inmunexpresión de PCT e iNOS en diferentes zonas de acceso de pirógenos al SNC como órganos circunventriculares, meninges, plexos coroides y vasos sanguíneos. Por todo lo anterior se sugiere que la PCT y la iNOS podrían estar relacionadas entre sí en la cascada de reacciones existentes en la elaboración central de respuesta febril frente a bacterias gramnegativas.

ALTERACIONES PSIQUIÁTRICAS

P290. EFECTO ANSOLÍTICO DE UN NUEVO AGONISTA DEL RECEPTOR 5-HT1A

J.Á. FUENTES CUBERO

U. CARTOGRAFÍA CEREBRAL. INSTITUTO PLURIDISCIPLINAR DE LA UCM. MADRID, ESPAÑA

P291. ANXIOLYTIC-LIKE EFFECT OF A SEROTONERGIC LIGAND ACTIVE AT BOTH 5HT1A AND 5HT3 RECEPTORS

M. DELGADO WALLACE^A, A. G. CAICOYA^B, V. GRECIANO^C, B. BENHAMÚ^D, M. L. LÓPEZ-RODRÍGUEZ^D, M. S. FERNÁNDEZ-ALFONSO^E, M.A. POZO^B, J. MANZANARES^F, J. A. FUENTES CUBERO^B
^A CARTOGRAFÍA CEREBRAL. ^B U. CARTOGRAFÍA CEREBRAL. INSTITUTO PLURIDISCIPLINAR. MADRID. ^C FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA. MADRID. ^D QUÍMICA ORGÁNICA. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS. MADRID. ^E FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA. MADRID. ^F PSIQUIATRÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE. MADRID, ESPAÑA

Serotonin (5-HT) is one of the messengers in mammals for which more targets are known. Alterations in brain 5-HT receptors have been detected in some psychiatric disorders and drugs that work upon them and on the 5-HT transporter are useful tools for improving a variety of mental syndromes. Animal models have suggested a role for the 5-HT1A receptor in the development of chronic anxiety. Blockade of central 5-HT3 receptors was also discovered to be bound to an anxiolytic action. By using computational models for G protein coupled receptors–ligand–interactions and a quantitative structure–activity relationships study (QSAR), S-(-)-2-[[4-(naphthalen-1-yl)piperazin-1-yl]methyl]-1,4-dioxoperhydropyrrolo[1,2-a]pyrazine (CSP-2503) was designed and synthesized as a new arylpiperazine derivative. This compound resulted to be a serotonin (5-HT) receptor ligand with selectivity and high affinity for 5-HT1A and 5-HT3 receptors. CSP-2503 reduced rectal temperature and 5-HT neuronal hypothalamic activity in mice, decreased electrical activity of raphe nuclei cells in rats and blocked the enhancement of adenylate cyclase activity induced by forskolin in HeLa cells transfected with the human 5-HT1A receptor. Moreover, in the light/dark box and social interaction tests, CSP-2503 presented anxiolytic activity. These results suggest that CSP-2503 is a new 5-HT1 receptor agonist with 5-HT3 receptor antagonist activities that might be useful in a number of conditions associated with anxiety.

17.09.05

P292. MECANISMOS PATOGENÉTICOS DEL TRASTORNO DE PÁNICO: CONSECUENCIAS DE LA SOBREEXPRESIÓN DE NTRK3 SOBRE EL CIRCUITO DEL MIEDO

I. SAHÚN ABIZANDA, C. FILLAT FONTS, M. DIERSSEN SOTOS
PROGRAMA GENES Y ENFERMEDAD. CENTRE DE REGULACIÓ GENÒMICA. BARCELONA, ESPAÑA

Se ha sugerido que los factores neurotróficos participan en la patofisiología de los trastornos de ansiedad. NTRK3, un miembro de la familia Trk presente en el *locus coeruleus* está relacionado con la plasticidad de este núcleo, íntimamente ligado con la patogenia del trastorno de pánico (TP). Las personas con TP son incapaces de identificar correctamente la información relacionada con el miedo. Este efecto podría depender de una alteración en la respuesta de los circuitos del miedo. Caracterizamos neuromorfométricamente la amígdala y el hipocampo de un modelo murino de sobreexpresión de NTRK3. Observamos una tendencia al incremento de la densidad celular en todas las subregiones hipocámpicas del TgNTRK3, siendo significativa sólo en CA3, y un incremento significativo de la densidad celular en la amígdala basolateral. Para analizar las consecuencias funcionales de estas modificaciones estructurales, usamos dos paradigmas conductuales, el Fear Conditioning y el Morris Water Maze. En el FC observamos un incremento en la sensibilidad al miedo contextual y no contextual en el TgNTRK3. Una semana después observamos la persistencia de esta sensibilidad en el TgNTRK3. En el MWM no observamos diferencias en las latencias de escape durante las sesiones de adquisición. Proponemos que la hipersensibilidad del circuito del miedo en el TP depende de la hipertrofia de regiones clave de éste circuito, como la amígdala basolateral. Proponemos que el hipocampo está específicamente relacionado con memoria emocional a través de un efecto plástico en CA3. El efecto trófico de la sobreexpresión de NTRK3 sería un factor etiopatogénico subyacente al TP.

P293. CAMBIOS NEUROENDOCRINOS, EN LA EXPRESIÓN GÉNICA Y EN EL COMPORTAMIENTO INDUCIDOS POR LA SEPARACIÓN MATERNA EN LA RATA

B. AISA VEGA^A, R. MARTÍNEZ TURRILLAS^B, L. SCHIAPPARELLI^B, B. LASHERAS^B, M. J. RAMÍREZ^B, D. FRECHILLA^B, J. DEL RÍO^B

^AFARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. ^BDEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA

La separación materna (SM) durante el periodo posnatal provoca una serie de profundos cambios que interfieren con la maduración normal del cerebro. Estos animales al llegar a adultos tienen una respuesta alterada al estrés, por lo que la SM se puede considerar como un modelo de depresión. Se ha caracterizado un modelo de SM, en el que las crías de rata fueron separadas de sus madres durante 180 minutos durante los 21 días de lactancia. Las determinaciones se llevaron a cabo a las 12-13 semanas de edad, cuando las ratas son consideradas adultas. La identificación de posibles cambios en la expresión génica, se realizó mediante *micorarrays* RAE 230 20 (Affimetrix). La SM no provocó diferencias en el peso corporal ni en la actividad motora espontánea. El incremento en los niveles plasmáticos de corticosterona y ACTH en respuesta a un estrés se vieron aumentados significativamente en el grupo SM. La SM también provocó un aumento en el tiempo de inmovilidad en la prueba de la natación forzada de Porsolt. En el laberinto acuático de Morris, se observaron déficit en la retención en los animales SM. En las ratas macho se observó una disminución en la ingesta de azúcar (anhedonia) y un efecto ansiogénico en el laberinto elevado. De entre los cambios en la expresión génica encontrados en el hipocampo, señalar que hay un aumento en la expresión de genes relacionados con vías de señalización relacionadas con receptores acoplados a proteínas G, así como un descenso en la expresión del receptor GABA-B.

P293bis. AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DOPAMINÉRGICA EN CORTEZA PREFRONTAL POR FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS. PAPEL DE RECEPTORES 5-HT1A CORTICALES

LL. DÍAZ MATAIX^A, A. BORTOLOZZI^A, C. SCORZA^A, P. CELADA^A, M. TOTH^B, F. ARTIGAS^A

^AINSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA CSIC-IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA. ^BWEILL MEDICAL COLLEGE. CORNELL UNIVERSITY. ITHACA. NUEVA YORK, ESTADOS UNIDOS

Introducción y objetivos. A diferencia de los neurolepticos clásicos, los antipsicóticos atípicos aumentan la liberación de dopamina (DA) en corteza prefrontal medial (CPFm), un efecto relacionado con la acción pro-cognitiva de estos fármacos. Este aumento parece depender de receptores 5-HT1A, por lo que hemos examinado su papel en la modulación de la actividad DAérgica, en particular los localizados en CPFm. **Métodos.** Registros extracelulares unitarios de neuronas DAérgicas en rata. Microdiálisis intracerebral en ratas y ratones. **Resultados.** La

administración de BAYx3702 (agonista 5-HT1A) incrementó la actividad (frecuencia de descarga y porcentaje de ráfagas) de neuronas DAérgicas del área tegmental ventral (ATV) y la liberación de DA en CPFm y ATV. Dichos efectos se revertieron mediante WAY 100635 (antagonista 5-HT1A). En ratas sometidas a una transección cortical, BAYx3702 no incrementó la actividad de las neuronas DAérgicas. La aplicación de BAYx3702 (3-10-30 µM) en CPFm produjo un efecto bifásico en la liberación local de DA que no se observó en ratones knockout del receptor 5-HT1A (KO-5-HT1A). En presencia de bicuculina (antagonista GABA_A), BAYx3702 redujo la liberación de DA a todas las concentraciones. Clozapina y olanzapina (pero no haloperidol), aplicados en CPFm aumentaron la liberación local de DA en ratones controles pero no en ratones KO-5-HT1A ni en ratas cuando se co-perfundieron con bicuculina. **Conclusiones.** La estimulación de receptores 5-HT1A corticales aumenta la actividad de las neuronas DAérgicas del ATV y la liberación de DA en CPFm. Este mecanismo podría estar implicado en el incremento de DA cortical inducido por fármacos antipsicóticos atípicos.

ADICCIÓN Y DROGADICCIÓN

P294. EL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO 1 (FGF-1) DEL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL (ATV) PARTICIPA EN EL PROCESO SENSIBILIZADOR A MORFINA, DROGA QUE REGULA AL ALZA EL RECEPTOR TIPO 1 DE FGF-1 EN ATV

J. A. FLORES^A, A. I. ROJO^B, S. RAMIRO^A, B. GALÁN-RODRÍGUEZ^A, A. CUADRADO^B, E. FERNÁNDEZ-ESPEJO^A

^ADEPT. DE FISIOLÓGIA MÉDICA Y BIOFÍSICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^BINSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS ALBERTO SOLS. DEPT. DE BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: FIS A EFE (PI040155)

Las drogas adictivas sensibilizan las respuestas motoras en animales, y las adaptaciones nerviosas que ocurren durante esta sensibilización motora son similares a las que tienen lugar en diversas formas de conducta adictiva humana. La adicción es un proceso que afecta a la plasticidad neuronal, y los factores neurotróficos se han implicado en el mismo. Hemos comprobado que el factor de crecimiento fibroblástico 1 (FGF-1) en el área tegmental ventral (ATV) participa en la sensibilización a morfina. Las infusiones intra-ATV de anti-FGF-1 o FGF-1 bloquean o avanzan la sensibilización a la morfina respectivamente. Además, la morfina aguda induce una regulación al alza del receptor tipo 1 de FGF-1 (FGFR-1) en el ATV, y marcadores bioquímicos de adicción como el incremento de tirosina-hidroxilasa (TH) en ATV durante la fase inicial o de inducción a la droga, y la regulación al alza de PKA en el núcleo *accumbens* durante la fase de consolidación o expresión se bloquean con anti-FGF-1. Además, anti-FGF-1 induce una regulación a la baja de TH en todo el circuito mesolímbico en la fase de expresión. Anti-FGF-1 y FGF-1 no tienen efectos motores *per se*. Se concluye que el sistema de FGF-1 en el ATV participa de modo crítico en las adaptaciones bioquímicas y conductuales a la morfina, y que estas adaptaciones parecen ser homeostáticas, pues sirven para incrementar el efecto sensibilizador de la morfina. La modulación de este sistema podría ser de utilidad para el tratamiento de la adicción al opiáceo morfina.

P295. LOS RECEPTORES D4 MODULAN LA NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA DE LAS VÍAS NIGROESTRIATAL Y MESOLÍMBICA TRAS LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE MORFINA

J.J. VALDERRAMA ARQUERO^A, A. RIVERA^B, B. GAGO^B, A. PEÑAFIEL^B, F. MARTOS^C, A. DE LA CALLE^B

^ADEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ^BDEPT. DE FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^CDEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI2002-00587, CTS-0161 Y FUNDACIÓN IMABIS

Los sistemas dopaminérgico y opioide intervienen de forma decisiva en los procesos de adicción a morfina. La morfina activa los receptores mu opioides (MOR) localizados en el área tegmental ventral (VTA) y sustancia negra reticular (SNr), aumentando la liberación de dopamina en el núcleo *accumbens* (NAc) y caudado putamen (CPU), respectivamente. En trabajos previos hemos descrito la localización presináptica de los receptores dopaminérgicos D4 en SNr. También hemos observado que este receptor modula la expresión de MOR en CPU. La colocalización regional de los receptores D4 y MOR en SNr, así como su interacción en CPU sugiere que ambos receptores podrían interaccionar funcionalmente en determinadas regiones cerebrales. En este trabajo hemos estudiado la capacidad de los receptores D4 para modular los efectos que el tratamiento agudo de morfina produce en la neurotrans-

misión dopaminérgica. Se han tratado ratas Sprague-Dawley con morfina, o con un agonista de los receptores D4 (PD168077) o con ambas sustancias. Mediante técnicas inmunocitoquímicas y análisis de imagen se han evaluado cambios en la expresión de tirosina hidroxilasa (TH) y el transportador de dopamina (DAT). Las áreas analizadas han sido VTA, NAc, sustancia negra compacta (SNc), SNr y CPu. Se ha observado que el tratamiento con morfina incrementa los niveles de TH en todas las áreas analizadas, y que este incremento se previene con la administración del agonista D4. Los resultados obtenidos sugieren que el receptor D4 es capaz de modular la innervación dopaminérgica que está alterada tras el tratamiento agudo con morfina.

P296. EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON METADONA PRODUCE UNA DESENSIBILIZACIÓN DE LOS RECEPTORES OPIOIDES μ Y CANNABINOIDES CB1 EN CEREBRO DE LA RATA
J. LLORENTE MARÍN^A, J. PINEDA^B, R. RODRÍGUEZ-PUERTAS^B

^A DEPT. FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA, VIZCAYA. ^B DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA, UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA. LEIOA, VIZCAYA, ESPAÑA

La administración crónica de opiáceos conduce al desarrollo de tolerancia sobre la mayor parte de los efectos mediados por los opiáceos. El grado de tolerancia depende del tipo de agonista opiáceo empleado. Por otra parte, estudios realizados tanto in vivo como in vitro describen interacciones entre el sistema opiáceo y cannabinoide. La exposición crónica a agonistas opiáceos induce tolerancia a los efectos antinociceptivos del delta-9-THC. El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de la metadona sobre la señalización celular mediada por receptores opiáceos μ y cannabinoide CB1. El tratamiento crónico con metadona (5-7,5 mg/kg i.p. 5 días) redujo la capacidad del agonista opiáceo μ , DAMGO para inducir el acople a proteínas G, estudiado mediante autorradiografía con [35S]GTPgammaS, en regiones como sustancia gris periacueductal, sustancia negra (pars compacta), locus coeruleus y área tegmental ventral. En estas regiones no se observaron cambios en la estimulación mediada por receptores CB1. Sin embargo, en regiones como el núcleo accumbens, caudado-putamen, amígdala, tálamo mediodorsal y sustancia negra (pars reticulata), la metadona indujo desensibilización de los receptores CB1, pero en estas regiones no se observó desensibilización en la funcionalidad de los receptores opiáceos μ . El presente estudio muestra que el tratamiento crónico con metadona tiende a desensibilizar los receptores opiáceos μ y CB1 en diferentes regiones cerebrales.

P297. LA DISMINUCIÓN DE RECEPTORES NICOTÍNICOS HIPOCAMPALES ALFA7 EN RATAS CAUSADA POR EL CONSUMO CRÓNICO DE ETANOL NO ES REVERTIDA EN UN PERIODO CORTO DE ABSTINENCIA

N. ROBLES MUÑOZ, J. SABRIÀ I PAU
INSTITUT D'NEUROCIÈNCIES I DEPT. BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR. UAB. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

El etanol consumido de forma crónica induce cambios en el sistema nervioso central, que pueden afectar a la densidad y/o afinidad de los receptores neuronales. Uno de los puntos de interés de la farmacología es dilucidar si estos cambios pueden ser revertidos por la abstinencia. El presente estudio se centra en evaluar los efectos del consumo crónico de etanol y de la abstinencia sobre los receptores nicotínicos hipocampales en ratas consumidoras de etanol. Para ello se utilizaron ratas Wistar no seleccionadas por su preferencia al etanol, que fueron sometidas a un procedimiento de alcoholización no forzado desde los 21 días de edad. A las 18 semanas de consumo, un grupo de ratas fue sacrificado (grupo Referencia). Paralelamente, otro grupo consumió etanol durante las mismas semanas y después permaneció 10 días en abstinencia (grupo Abstinencia). En ambos grupos se evaluaron los parámetros de densidad y afinidad de los receptores nicotínicos hipocampales. No se observaron cambios en la afinidad en ninguno de los grupos. En cuanto a la densidad, se observó una disminución de los receptores alfa7 en los animales consumidores respecto a sus respectivos controles. Comparando la densidad de receptores de los sujetos consumidores del grupo Referencia y del grupo Abstinencia no se encontraron diferencias significativas. Así pues, un periodo de 10 días de abstinencia no es suficiente para revertir la down-regulation inducida por el etanol sobre este subtipo de receptores, de lo cual se infiere que una posible recuperación no implicaría mecanismos rápidos de regulación de la expresión.

P298. LA ADMINISTRACIÓN REPETIDA DE ÉXTASIS (3,4-METILENEDIOXIMETANFETAMINA) REDUCE LA TASA DE SUPERVIVENCIA DE PRECURSORES NEURALES EN EL GIRO DENTADO DEL HIPOCAMPO DE LA RATA

V. HERNÁNDEZ RABAZA^A, L. DOMÍNGUEZ ESCRIBA^A, E. PROVSSKAYA^A, F. J. ROMERO^B, F. BOSCH MORELL^C, J.A. BARCIA^D, J. M. GARCÍA VERDUGO^E, J.J. CANALES CONEJERO^A

^A INSTITUTO CAVANILLES. ^E INSTITUTO CAVANILLES. UNIVERSIDAD DE VALENCIA. PATERNA (VALENCIA). ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA. ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD CARDENAL HERRERA. MONCADA. ^D UNIDAD DE REPARACIÓN Y REGENERACIÓN NEURAL. INSTITUTO PRÍNCIPE FELIPE. VALENCIA, ESPAÑA

La neurogénesis adulta en el cerebro resulta afectada negativamente por la administración de drogas adictivas, tales como el alcohol, los opiáceos y la cocaína. El éxtasis es una potente droga estimulante y alucinógena cuya capacidad para modular la neurogénesis adulta no ha sido investigada hasta ahora. Hemos estudiado en ratas los efectos de la administración repetida de MDMA (8 inyecciones de 5 mg/kg a intervalos de 6 h) sobre las tasas de proliferación (los animales se sacrificaron 3 días después de iniciar el tratamiento) y supervivencia (sacrificio a los 15 días) de las células que son generadas en el giro dentado (GD) del hipocampo durante el proceso normal de neurogénesis. Hemos utilizado BrdU y Ki-67 como marcadores mitóticos, y doublecortin y NeuN como marcadores de neuronas jóvenes. Los resultados demostraron que este régimen de tratamiento con MDMA no afectó la proliferación celular en el GD (células BrdU+: 16,10 ± 2,44 vs. 13,95 ± 2,48). Sin embargo, el tratamiento con MDMA redujo significativamente la tasa de supervivencia de las células incorporadas tras dos semanas a la capa granular del GD en un 50% (células BrdU+: 6,16 ± 0,53 vs. 3,25 ± 0,51), y de aquellas que permanecieron en la zona subgranular en un 30% (células BrdU+: 9,23 ± 1,50 vs. 6,25 ± 1,04). Estos datos sugieren que la administración repetida de MDMA no afecta la actividad mitótica de las células proliferativas del GD, pero tiene efectos deletéreos sobre la neurogénesis al afectar la capacidad de supervivencia de los precursores neurales.

P299. APRENDIZAJE ESPACIAL Y RECONOCIMIENTO DE OBJETOS EN RATAS ADULTAS EXPUESTAS A ALCOHOL DURANTE EL PERIODO PRE Y/O POSNATAL

M. CABALLERO BLEDA^A, M. POPOVIC^B, L. PUELLES^B, C. GUERRI^C
^A DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^B DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^C DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CELULAR. CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRÍNCIPE FELIPE. VALENCIA, ESPAÑA

El objetivo del presente estudio ha sido analizar la función cognitiva, en ratas Wistar adultas expuestas a etanol, durante el periodo prenatal y/o periodo posnatal temprano, utilizando el 'can test' ('test de la lata'), un nuevo test de memoria y aprendizaje espacial y reconocimiento de objetos. Tomando como base el tipo de dieta alimenticia, los animales fueron divididos en cinco grupos: dieta estándar, dieta líquida isocalóricamente equilibrada (IC); y dieta líquida con etanol (E) (5%), administrada durante la gestación (E-IC), durante la lactancia (IC-E), o durante gestación y lactancia (E-E). Las crías fueron destetadas a la edad postnatal de 25 días y a los 2 meses de edad se inició el entrenamiento de las ratas con el objetivo de que seleccionaran, de entre siete latas, una lata con recompensa. Se diseñaron cuatro condiciones diferentes para el 'test de la lata': clave espacio/objeto, clave espacial, reconocimiento simple de un objeto y reconocimiento complejo de objetos. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la primera tarea. El proceso de aprendizaje fue significativamente alterado en los grupos IC-E y E-IC, durante las tareas con clave espacial y reconocimiento simple de objetos. No obstante, el proceso de aprendizaje para reconocimiento complejo de objetos fue significativamente afectado en los grupos E-E, IC-E y E-IC. Los resultados del presente estudio sugieren que la exposición a alcohol, tanto en el periodo prenatal como en el periodo postnatal, dan lugar a cambios cognitivos significativos que persisten en la infancia.

17.09.05

P300. EL CÓRTEX PREFRONTAL PARTICIPA EN LA MODULACIÓN MEDIADA POR ENDOCANNABINOIDES DE LA INGESTA DE ALCOHOL EN LAS RATAS GENÉTICAMENTE PREDISPUES- TAS 'AA'

F. J. BERMÚDEZ SILVA^A, A. HANSSON^B, H. MALINEN^C, P. HYYTIA^C, I. SÁNCHEZ VERA^D, R. RIMONDINI^B, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA^D, W. SOMMER^B, M. HEILIG^B

^A LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN. ^D LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN IMABIS. MÁLAGA. ^B DEPARTMENT OF NEUROTEC. KAROLINSKA INSTITUTET. STOCKHOLM. ^C DEPT. OF MENTAL HEALTH AND ALCOHOL RESEARCH. NATIONAL PUBLIC HEALTH INSTITUTE. HELSINKI, FINLANDIA

Objetivos. Cada vez hay más evidencias sobre la participación del sistema endocannabinoide en la adicción al alcohol. Con el presente trabajo se pretendían buscar diferencias en el sistema endocannabinoide de regiones cerebrales claves para la recompensa y la dependencia en animales alcohólicos. **Material y métodos.** Se utilizó un modelo establecido de alto consumo voluntario de etanol, las ratas genéticamente seleccionadas AA (*alcohol-accepting*) y su línea control, las ratas ANA (*alcohol-non-accepting*). Para medir los niveles de mRNA se utilizaron las técnicas de hibridación *in situ* y PCR cuantitativa a tiempo real. La cuantificación del receptor se realizó mediante un ensayo de binding sites y la capacidad de dichos receptores para ser activados mediante el ensayo de incorporación de GTP-gamma-S. Para comprobar el posible papel funcional en la autoadministración de etanol se realizaron pretratamientos sistémicos e intracerebrales con el antagonista cannabinoide SR141716A. **Resultados.** Encontramos diferencias específicas de región en la organización cerebral del sistema endocannabinoide en ratas AA y ANA, sugiriendo una hiperactividad y desensibilización de la transmisión cannabinoide, especialmente en el córtex prefrontal de las ratas AA. Además, demostramos que el córtex prefrontal es una importante región para la supresión, mediada por SR141716A, del consumo de alcohol. **Conclusión:** Estos resultados sugieren que una de las diferencias genéticas en las ratas AA es la existencia de un sistema endocannabinoide alterado en el córtex prefrontal con potenciales implicaciones funcionales para la preferencia por alcohol, lo que convierte al sistema endocannabinoide en una posible diana terapéutica para el tratamiento del alcoholismo.

P301. LA ADMINISTRACIÓN REPETIDA DE MDMA ALTERA LA EXPRESIÓN DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR AMPA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS

M. RAMOS, B. GOÑI-ALLO, E. PUERTA, J. DEL RÍO, N. AGUIRRE
FARMACOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA, NAVARRA, ESPAÑA

Introducción. La 3,4-metilendioxitmetanfetamina (MDMA, 'éxtasis') es un psicoestimulante ampliamente utilizado como droga de abuso. Es sabido que la administración repetida de este tipo de drogas (p. ej. cocaína y anfetamina) produce lo que se conoce como sensibilización conductual en animales de experimentación. Dicho fenómeno está mediado por cambios plásticos en los distintos núcleos del circuito de recompensa y en particular, en el núcleo *accumbens* (NAc) **Hipótesis.** Debido a la importancia de la transmisión glutamatérgica en fenómenos de plasticidad neuronal y al hecho de que la administración localizada de antagonistas AMPA en el NAc bloquea la expresión del fenómeno de sensibilización inducido por psicoestimulantes, nos propusimos estudiar la situación de los receptores AMPA en el NAc 12 días después de la administración repetida de MDMA en ratas. **Métodos.** El protocolo de sensibilización consistió en la administración de MDMA (15 mg/kg i.p.) dos veces al día durante 5 días consecutivos. Tras 12 días de abstinencia se volvió a administrar una dosis de MDMA (5 mg/kg i.p.). Dos horas después las ratas se sacrificaron y se determinaron mediante *western-blot* los niveles de las subunidades GluR1 y GluR2, así como las fosforilaciones GluR1 en Ser-845 y Ser-831. **Resultados y conclusiones.** El protocolo de sensibilización produjo un aumento significativo de los niveles de las subunidades GluR1 y GluR2, así como en la fosforilación de GluR1 en Ser-845 y Ser-831. Dichos resultados sugieren que la transmisión glutamatérgica a nivel del NAc juega un papel importante en la sensibilización por MDMA al igual que lo descrito para anfetamina o cocaína.

P302. ONDA b DE LOS CONOS AZULES Y CRAVING DE COCAÍNA

B. GONZALVO CIRAC^A, J. PÉREZ DE LOS COBOS^B, M. J. MANRESA^A, N. SIÑOL^A, J. TRUJOLS^A, A. TEJERO^A, M. CARDÚS^A, F. BATLLE^A, F. LARGER^A

^A UNIDAD CONDUCTAS ADICTIVAS. ^B UNIDAD DE CONDUCTAS ADICTIVAS. HOSPITAL DELA SANTA CREU I SANT PAU. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivo. Valorar la respuesta electroretinográfica (amplitud de la onda b de los conos azules) y el craving de cocaína en pacientes con una dependencia de cocaína, que lleven

al menos tres meses de abstinencia completa ($n = 12$); con intención de profundizar en la relación entre función dopaminérgica y el deseo (*craving*) de consumo. Para ello hemos realizado las mismas mediciones en pacientes que presentan un consumo activo ($n = 7$). **Pacientes.** Pacientes con diagnóstico de Trastorno por dependencia de cocaína, que no estaban en consumo activo de otras sustancias de abuso (excepto nicotina); ni estaban en tratamiento con psicofármacos, ni presentaban una enfermedad psiquiátrica grave. **Método.** Se les realizó un electroretinograma (ERG) y posteriormente cumplimentaron el Cocaine Craving Questionnaire (CCQ-general, Tiffany et al, 1993). **Resultados.** En pacientes con dependencia de cocaína existen asociaciones entre la onda b de los conos azules y el deseo de consumir esta sustancia; de distinto signo según el paciente esté abstinente o en consumo activo. Tras al menos tres meses de abstinencia completa de cocaína, la onda b de los conos azules se relaciona inversamente con la pérdida de control sobre el consumo de cocaína (Spearman = $-0,0661$ y $p = 0,038$). Asimismo, existe una asociación negativa, pero de menor intensidad, entre la onda b y la intención de consumo. En consumo activo de cocaína, la onda b de los conos azules se relaciona directamente con la pérdida de control (Spearman = $0,778$ y $p = 0,069$) y con la intención de consumo (Spearman = $0,870$ y $p = 0,024$).

P303. MODULACIÓN OPUESTA DE LOS EFECTOS ADICTIVOS DE LA MORFINA Y COCAÍNA POR PARTE DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN EL NÚCLEO ACCUMBENS

S. RAMIRO, J. A. FLORES, B. GALÁN-RODRÍGUEZ, E. FERNÁNDEZ-ESPEJO

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA MÉDICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA, ESPAÑA

El núcleo *accumbens* está involucrado en los efectos de recompensa y sensibilización a drogas. El antagonista CB1 SR141716A facilita la neurotransmisión GABA y glutamatérgica en el *accumbens*, por lo que podría influir en los fenómenos adictivos. Se ha modulado el sistema endocannabinoide en el núcleo *accumbens* por medio del antagonista SR141716A (infusión local, 1,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,5 μL), tanto sobre la recompensa condicionada como la sensibilización (incremento progresivo de la actividad locomotora) a morfina y cocaína. El SR141716A (o vehículo) se ha inyectado tanto durante la fase de inducción como de expresión de la sensibilización. A nivel bioquímico, se ha estudiado la expresión de tirosina hidroxilasa (TH, marcador de hiperactividad dopaminérgica durante la inducción a drogas) en el *accumbens* rostral y caudal tras morfina. La infusión de SR141716A antes de morfina (1 mg/kg) induce recompensa condicionada ($p < 0,05$), mientras que ocasiona aversión condicionada a cocaína (2 mg/kg, $p < 0,05$). Las bajas dosis de morfina y cocaína *per se* no inducen refuerzo. Por otra parte, el SR141716A ocasiona sensibilización motora a la morfina ($p < 0,05$), la cual no se desarrolla en ratas control. Este efecto tiene lugar si se inyecta el cannabinoide durante la inducción. La coadministración de SR141716A y morfina regula al alza la TH en el *accumbens* rostral (no caudal). Sin embargo, la cocaína induce sensibilización motora, pero no si se coinyecta el SR141716A. En definitiva, la inyección intraaccumbica del antagonista cannabinoide SR141716A modula de un modo opuesto la adicción a morfina y cocaína, facilitando la regulación al alza de TH tras morfina.

P304. REGULACIÓN DE LA FOSFORILACIÓN DE TIROSINA HIDROXILASA (TH) EN EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO (NTS) DURANTE EL SÍNDROME DE ABSTINENCIA A MORFINA

C. NÚÑEZ PARRA, M. L. LAORDEN CARRASCO, M. V. MILANÉS MAQUILÓN

DPT. FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: CICYT (SAF/FEDER 2003-00756 Y 2002-00763)

El síndrome de abstinencia a morfina estimula la actividad del eje hipotálamo-hipófisis adrenal mediante la activación de vías noradrenérgicas procedentes del NTS que inervan al Núcleo Paraventricular (PVN) hipotalámico [1,2]. TH es la enzima limitante de la síntesis de catecolaminas. Para activarse requiere ser fosforilada en residuos de serina mediante diferentes rutas de señalización intracelular [3]. Para identificar la(s) cascada(s) intraneuronal(es) implicada(s) en la activación de TH, se determinaron, en NTS, los niveles de TH total, TH fosforilada en Ser31 (dependiente de ERK1/2) y TH fosforilada en Ser40 (dependiente de PKA) durante el síndrome de abstinencia a morfina. Se implantaron *pellets* s.c. de morfina o placebo a ratas durante 7 días. El día 8 se les inyectó salino o naloxona s.c. y 90 minutos después fueron sacrificadas. El inmunomarcaje se realizó mediante Western-Blot e Inmuno-citoquímica. Nuestros resultados muestran un incremento en los niveles de TH total, así como de TH fosforilada en Ser31, pero no en Ser40. Estos datos sugieren que, durante el síndrome de abstinencia a morfina, la ruta de las ERK1/2 sería la responsable de la activación de TH a nivel de las somas noradrenérgicas del NTS que proyectan al PVN. [1] Benavides M, et al. J Neurochem 2005; 92: 246-54. [2]

Laorden ML, et al. *J Neurochem* 2002; 83: 132-40. [3] Dunkley PR, et al. *J Neurochem* 2004; 91: 1025-43.

P305. ACTIVACIÓN DE CREB EN EL NÚCLEO PARAVENTRICULAR (PVN) HIPOTALÁMICO Y EN BULBO DURANTE EL SÍNDROME DE ABSTINENCIA A MORFINA

F. MARTÍN SÁNCHEZ, M. L. LAORDEN CARRASCO, M. V. MILANÉS MAQUILÓN

DPT. FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: CICYT (SAF/FEDER 2003-00756 Y 2002-00763)

Durante la dependencia de morfina se produce una activación de las neuronas del PVN que regulan la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), secundaria a un incremento de la actividad noradrenérgica [1]. CREB es un factor de transcripción implicado en muchas de las manifestaciones de dependencia a opiáceos, constituyendo el elemento de unión entre vías de señalización reguladas por opiáceos y la modulación de la expresión génica [2,3]. En este estudio hemos examinado, mediante western blot e inmunohistoquímica, las modificaciones de CREB durante el síndrome de abstinencia a morfina en la región parvocelular del PVN y en el núcleo del tracto solitario (NTS). Se utilizaron ratas S-D, en las que se indujo dependencia de morfina mediante la implantación de pellets s.c. durante 7 días. El día 8 recibieron salino o naloxona y se decapitaron a los 60 y 90 minutos. La activación de CREB se valoró mediante el uso de un anticuerpo que reconoce específicamente al CREB fosforilado en la Ser133. Se observó que durante el síndrome de abstinencia se producía un aumento de la activación de CREB en PVN y en NTS. Estos resultados sugieren que CREB estaría implicado en los cambios adaptativos que se producen en el PVN y bulbo durante la dependencia de morfina. [1] Laorden ML, et al. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 67-75. [2] Blendy JA, et al. *J Mol Med* 1998; 76: 104-10. [3] Bilecki W, et al. *J Neurochem* 2004; 90: 874-82.

P306. REGULACIÓN DE LA TIROSINA HIDROXILASA FOSFORILADA EN SER31 Y SER40 EN TEJIDO CARDIACO DURANTE EL SÍNDROME DE ABSTINENCIA A MORFINA

P. ALMELA ROJO, M. V. MILANÉS MAQUILÓN, M. L. LAORDEN CARRASCO

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

La regulación postranscripcional de tirosina hidroxilasa (TH) está mediada por cambios en la fosforilación de residuos de serina. Estos residuos pueden ser fosforilados por diferentes tipos de proteína cinasas [1]. Estudios previos de nuestro laboratorio demostraron que durante el síndrome de abstinencia a morfina se produce un aumento en los niveles y en la actividad TH en ventrículo derecho (VD) e izquierdo (VI), paralelamente con un incremento del turnover de noradrenalina (NA) [2]. El propósito de este estudio fue investigar los posibles cambios en TH total (THt) y fosforilada en Ser31 (activada por ERK1/2) y Ser40 (activada por PKA) en VD y VI tras la administración de naloxona a ratas dependientes de morfina. La determinación de THt y fosforilada se realizó mediante *western-blot* utilizando anticuerpos específicos. La dependencia de morfina fue inducida mediante pellets s.c. de morfina durante 7 días. El síndrome de abstinencia se precipitó el octavo día mediante la inyección de naloxona, las ratas fueron decapitadas 30, 60 o 90 minutos después de la administración del antagonista. Nuestros resultados demuestran un aumento de THt y fosforilada en Ser40 a los 60 y 90 minutos. Sin embargo, no se observaron cambios en TH fosforilada en Ser31. Estos datos sugieren que la PKA puede estar implicada en la activación de TH y en el aumento del turnover de NA observado durante el síndrome de abstinencia a morfina. [1] Kumer SC, et al. *J Neurochem* 1996; 67: 443. [2] González-Cuello A, et al. *Eur J Pharmacol* 2004; 506: 119.

P307. ACTIVACIÓN DE CREB EN TEJIDO CARDIACO DURANTE EL SÍNDROME DE ABSTINENCIA A MORFINA

A. GONZÁLEZ CUELLO^A, F. MARTÍN^B, M. V. MILANÉS MAQUILÓN^B, M. L. LAORDEN CARRASCO^B

^A DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA. ^B DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. MURCIA, ESPAÑA

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han demostrado que durante el síndrome de abstinencia a morfina se produce una hiperactividad de las vías catecolaminérgicas cardíacas paralelamente a un incremento de AMPc [1]. Es conocido que cuando se activa la cascada del AMPc se produce una fosforilación de CREB y de este modo se estimula la actividad transcripcional de los genes controlados por la secuencia CRE [2]. El propósito de este estudio fue investigar

la posible activación de CREB en ventrículo derecho (VD) e izquierdo (VI) tras la administración de naloxona a ratas dependientes de morfina. La determinación de CREB fosforilado se realizó mediante inmunohistoquímica y *western-blot* utilizando anticuerpos específicos. La dependencia a morfina fue inducida mediante pellets s.c. de morfina durante 7 días. El síndrome de abstinencia se precipitó el octavo día mediante la administración de naloxona. Las ratas fueron sacrificadas 60 min después de la administración del antagonista. Nuestros resultados demuestran que la administración de naloxona a ratas dependientes de morfina produce un aumento en la expresión de CREB fosforilado en VD y VI, este aumento es un índice de la activación de CREB. Estos datos sugieren que durante el síndrome de abstinencia a morfina se produce una activación de CREB que podría ser la responsable de los cambios adaptativos cardíacos que se producen durante la tolerancia/dependencia de morfina. [1] Milanés MV, et al. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2000; 361: 61. [2] Nestler EJ, et al. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects*. New York: Raven Press. p. 449-74.

P308. LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ETANOL DISMINUYE LOS NIVELES CEREBRALES DE ANANDAMIDA Y PALMITILETANOLAMIDA A TRAVÉS DE MECANISMOS INDEPENDIENTES DE LA AMIDOHIROLASA DE ÁCIDOS GRASOS

I. SÁNCHEZ VERA^A, B. FERRER^B, F. J. BERMÚDEZ SILVA^B, A. BILBAO^B, A. GIUFFRIDA^C, A. SERRANO^B, S. KHATURIA^C, M. NAVARRO^D, D. PIOMELLI^C, F. RODRÍGUEZ DE FONSECA^B

^A LABORATORIO DE INVESTIGACION. ^B LABORATORIO DE INVESTIGACION. FUNDACIÓN IMABIS. MÁLAGA. ^C DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY. UNIVERSITY OF CALIFORNIA. IRVINE. ^D DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

Introducción. La anandamida participa en las neuroadaptaciones asociadas con la exposición crónica a etanol. Sin embargo, no se han descrito las acciones agudas del etanol sobre la producción y degradación de anandamida. *Objetivos.* Estudiar los efectos agudos de la administración periférica de etanol (4 gr/kg) sobre los niveles endógenos de las aciletanolamidas anandamida y palmitiletanolamida. *Material y métodos.* El estudio se realizó en ratas Wistar macho, midiéndose los niveles de las aciletanolamidas mediante HPLC/MS, las actividades enzimáticas NAT (N-acil transferasa) y FAAH (*fatty acid amidohydrolase*), que catalizan la síntesis de los precursores y la degradación de las aciletanolamidas respectivamente, y los niveles de expresión de las enzimas de síntesis y degradación (NAPE-PLD; N-Acyl fosfatidiletanolamida-fosfolipasa D y FAAH respectivamente) mediante PCR cuantitativa. *Resultados.* Los niveles de anandamida disminuyeron en cerebelo, hipocampo dorsal y estriado ventral, así como en plasma y en tejido adiposo. De forma paralela, la palmitiletanolamida también disminuyó en cerebelo. Los efectos se observaron 45-90 minutos tras la administración de etanol, normalizándose posteriormente. Estudios *in vivo* revelaron que la disminución de anandamida estaba asociada con una considerable inhibición de la expresión génica de FAAH en hipocampo y cerebelo y una disminución de su actividad en hipocampo. No se encontraron cambios en la actividad enzimática de NAT, ni en la expresión de NAPE-PLD. *Conclusiones.* Estos resultados sugieren que la administración aguda de etanol inhibe la liberación mediada por receptor de aciletanolamidas y este efecto no es producto de un incremento en la actividad de la enzima de degradación (FAAH).

P309. SUPRESIÓN DE LA RECAÍDA AL ALCOHOL INDUCIDA POR NICOTINA POR EL ANTAGONISTA CANNABINOIDE RIMONABANT

J. A. LÓPEZ-MORENO^A, G. MORENO^B, G. GONZÁLEZ-CUEVAS^C, I. CRESPO^C, R. GÓMEZ DE HERAS^C, M. NAVARRO^C

^A DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLÓGÍA. (A) FACULTAD DE PSICOBIOLÓGÍA (B) C.U.-CARDENAL CISNEROS. MADRID. ^B DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLÓGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. MADRID. ^C DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLÓGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. MADRID, ESPAÑA

Se utilizaron ratas Wistar con al menos dos meses de autoadministración operante de alcohol o azúcar. Se evaluó la recaída al alcohol durante 2 semanas y en 2 situaciones: a) tras un periodo de abstinencia simple; y b) tras un periodo de abstinencia con nicotina (0,8 mg/kg, s.c.). Tras el tratamiento con nicotina, durante la recaída, los animales fueron pretratados durante dos semanas con el antagonista del receptor cannabinoide CB1 rimonabant (0,0,0,3, 0,3 y 3,0 mg/kg i.p.). Se usó el paradigma de condicionamiento a lugar preferente (CLP) para estudiar las propiedades reforzantes de la nicotina y rimonabant. También fueron evaluados la actividad motora y la temperatura. Los resultados mostraron que solamente el

17.09.05

periodo de privación con nicotina produce mayor recaída al alcohol, sin embargo, este efecto fue suprimido de manera dosis dependiente en los animales pretratados con rimonabant. Además, se observó un efecto rebote en el consumo de alcohol cuando se finalizó el tratamiento con las dosis de 0,3 y 3,0 mg/kg de rimonabant. Sin embargo, la nicotina no incrementó el aumento del consumo de azúcar. La nicotina mostró aversión en el paradigma de CLP, reducción en la actividad locomotora e hipotermia, mientras que rimonabant no mostró aversión o recompensa ni efectos motores. Estos resultados sugieren que, a pesar de que existe un efecto rebote al consumo de alcohol, rimonabant puede prevenir la recaída al alcohol, incluso cuando existe una interacción con nicotina, es decir, la situación más frecuente en el consumo de drogas en humanos.

P310. EFECTO DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS D4 EN LA INDUCCIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN EN EL ESTRIADO DE RATA TRAS LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE MORFINA

B. GAGO CALDERÓN^A, A. RIVERA^B, J.J. VALDERRAMA^B, A. PEÑAFIEL^B, F. MARÍN-GIRÓN^B, A. DE LA CALLE^B

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI2002-00587; CTS-0161; FUNDACIÓN IMABIS

La morfina modifica el patrón de inducción de diversos factores de transcripción, alterando finalmente la expresión de una gran variedad de proteínas en regiones cerebrales relacionadas con los circuitos de recompensa. Entre estos factores se encuentran miembros de la familia Fos y CREB. Mientras que c-Fos se expresa rápidamente tras el consumo agudo de morfina y sus niveles decaen a las pocas horas, CREB y Dfos B se acumulan de forma estable en la célula. Esta acumulación de CREB y Dfos B es crucial en los procesos de consolidación de la adicción. Se ha demostrado que la inducción de algunos de estos factores de transcripción está modulada por receptores dopaminérgicos. Puesto que los receptores dopaminérgicos D4 y los receptores m opioides colocan en el compartimento estriosomal del núcleo caudado-putamen, en este trabajo analizamos si los receptores D4 participan en la regulación de la expresión de c-Fos, DFos B y CREB tras la administración aguda de morfina. Para ello se han realizado tratamientos con un agonista (PD168077) o un antagonista (L745870) de los receptores D4, solos o en combinación con morfina. Mediante técnicas inmunocitoquímicas y análisis de imagen se han analizado cambios en el patrón de inducción de c-Fos, DFos B y CREB en el estriado de rata. Se ha observado que los receptores D4 regulan a la baja la inducción de c-Fos provocada por morfina, sugiriendo que estos receptores podrían modular los procesos que contribuyen a la generación de la adicción a opiáceos.

ENFERMEDADES DEL DESARROLLO

P311. EXPRESIÓN DE MARCADORES INMUNOCITOQUÍMICOS COMO INDICADORES DEL ESTADO DEL EPÉNDIMO NO DENU- DADO EN CASOS DE HIDROCEFALIA CONGÉNITA HUMANA

M.D. DOMÍNGUEZ^A, P. PÁEZ^B, B. WEIL^C, A. J. JIMÉNEZ^B, M.Á. ARRÁEZ^D, E.M. RODRÍGUEZ^E, J.M. PÉREZ-FÍGARES^B

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^C ANATOMÍA PATOLÓGICA. HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA. ^D NEUROCIROLOGÍA. HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA. ^E INSTITUTO DE HISTOLOGÍA Y PATOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. CHILE.

FINANCIACIÓN: FIS P1030756 Y RED CIEN C/0306 INSTITUTO DE SALUD CARLOS III; SERVICIO ANDALUZ DE SALUD Y FONDECYT 1030265

Las células ependimarias recubren las superficies ventriculares y regulan el paso de sustancias entre el parénquima nervioso y el líquido cefalorraquídeo, entre otras funciones. En los casos de hidrocefalia congénita humana, la pérdida del epéndimo parece ser una característica común que podría ser la causa de esta patología. Se han puesto a punto inmunomarcajes para estudiar diferencias de expresión de marcadores estructurales y funcionales del epéndimo, en distintas edades para casos humanos hidrocefálicos y controles. Se ha estudiado en el glucocáliz la expresión de ácido siálico mediante la lectina *Limax flavus* (LFA), la expresión de cadherinas para estudiar la adhesión celular, y la expresión de filamentos intermedios como GFAP y vimentina. Además, se han investigado alteraciones de la presencia de moléculas relacionadas con la permeabilidad plasmalémica,

como son la caveolina-1 y el transportador de glucosa glut-1. Finalmente se ha investigado el estado del control del epéndimo mediante inmunomarcaje del receptor metabotrópico 8 de glutamato (mGluR8). Se estudiaron ocho casos de fetos humanos con hidrocefalia comunicante de edades comprendidas entre las 16 y 40 semanas gestacionales, y doce controles sin alteraciones visibles del sistema nervioso central para el mismo rango de edad. Se ha prestado atención también al estado del epéndimo en las alteraciones de su localización asociadas a la hidrocefalia, como es el caso de las rosetas subependimarias.

P312. LA PÉRDIDA DEL NEUROEPITELIO PRODUCE AGENESIA DEL CUERPO CALLOSO Y ALTERACIÓN EN EL CÓRTEX CEREBRAL DEL RATÓN HIDROCEFÁLICO *hyh*

P. PÁEZ^A, L. M. RODRÍGUEZ-PÉREZ^B, R. ROALES-BUJÁN^B, A. J. JIMÉNEZ^B, J. PÉREZ-FÍGARES^B

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS P1030756 Y RED CIEN C/0306 INSTITUTO DE SALUD CARLOS III; SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

El ratón mutante *hyh* sufre una pérdida de células neuroepiteliales y consecuentemente una hidrocefalia congénita. El objetivo de este trabajo, es demostrar que la pérdida de las células neuroepiteliales es la responsable de alteraciones neuropatológicas específicas como la agenesia del cuerpo calloso (CC) y la alteración del córtex cerebral, alteraciones que hasta ahora habían sido consideradas consecuencias de la hidrocefalia. Los axones callosales para llevar a cabo el cruce a nivel de la línea media, requieren la presencia de tres tipos de células gliales: la glía *wedge*, la glía del *indusium griseum*, y la glía *sling*. Las dos primeras actúan como guía mecánica y química. El papel exacto de la glía *sling* no está claro. Además, del córtex cingular parten axones pioneros que actúan como guía para los que forman el CC, y su presencia es también necesaria para la formación del cruce. En nuestro estudio demostramos que el denudamiento de la superficie ventricular afecta a las poblaciones gliales antes descritas y es la causa de la agenesia del CC. Por otra parte, el ratón mutante *hyh* tiene una reducción y una alteración evidente en las capas de la corteza. En este estudio demostramos que con la pérdida del neuroepitelio se pierden células madre, lo que genera: i) una alteración en la cantidad de neuroblastos y ii) una modificación en la migración de éstos, alterando las capas de la corteza.

COMUNICACIONES ORALES

4. REGULACIÓN DE LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA

O25. MODULACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA EXOCITOSIS

R. BORGES JURADO, J.D. MACHADO PONCE, M. CAMACHO PÉREZ, M.S. MONTESINOS, J. DÍAZ VERA

UNIDAD DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA. TENERIFE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC (BFI2001-3531 Y BFI2004-08038) MC Y MSM SON BECARIOS FPI, JDES BECARIA FPU

La exocitosis constituye el principal mecanismo celular para la liberación de sustancias al exterior, entre ellas la mayor parte de los neurotransmisores. El último estadio de la exocitosis de las catecolaminas puede ser seguido, en las células cromafines, mediante la amperometría. Utilizando esta técnica hemos demostrado que varios fármacos (donadores de NO, xantinas, estrógenos, agonistas beta-adrenérgicos), actuando sobre diversas rutas de segundos mensajeros (PKG, PKA, calcio) modifican la cinética con la que cada una de las vesículas secretoras vierte su contenido al medio exterior. Otros fármacos (quinacrina, hidralazina, beta-bloqueantes) se acumulan en el interior de las vesículas desplazando al neurotransmisor natural (adrenalina) y coliberándose con ellos. Un tercer grupo facilita (forskolina, agonistas del calcio) o impide (antagonistas del calcio) la denominada exocitosis compuesta, alterando así el contenido cuántico aparente. La determinación simultánea del pH intravesicular con técnicas fluorescentes apunta al gradiente intra/extravesicular como la diana sobre la que actúan varias rutas de segundos mensajeros. Este novedoso mecanismo de acción se ha mostrado muy sensible a los tratamientos farmacológicos y puede ser responsable de los efectos de algunos fármacos (hidralazina) y de explicar las acciones diferidas en el tiempo de otros (beta-bloqueantes, antidepresivos) o de algunos efectos que no se corresponden con las dosis administradas.

O26. EXPRESIÓN DE SINAPTOPHLUORINA EN RATONES TRANSGÉNICOS PARA VISUALIZAR LA FUSIÓN DE VESÍCULAS SINÁPTICAS EN TERMINALES NERVIOSOS DEL CEREBELO
 P. LINARES-CLEMENTE^A, P. GARCÍA-JUNCO-CLEMENTE^A, C. O. PINTADO^B, R. FERNÁNDEZ-CHACÓN^C

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA MÉDICA Y BIOFÍSICA. FACULTAD DE MEDICINA DE LA ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA MÉDICA Y BIOFÍSICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^B CENTRO DE PRODUCCIÓN Y EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. ESPARTANAS, SEVILLA, ESPAÑA
 FINANCIACIÓN: HFSY BECAS PREDOCTORALES MEC Y FIS

La monitorización directa de la actividad presináptica en terminales nerviosos está generalmente restringida a terminales de gran tamaño accesibles con microelectrodos. Por otro lado, el estudio de terminales de menor tamaño es posible sólo mediante estudio de respuestas postsinápticas. La sinaptophluorina es una proteína verde fluorescente (GFP) sensible a pH fusionada a la proteína de las vesículas sinápticas sinaptobrevina/VAMP2 que ha sido utilizada para monitorizar exocitosis [1]. Utilizando el promotor específico de neuronas Thy-1, hemos generado ratones transgénicos que expresan sinaptophluorina específicamente en neuronas. La expresión de sinaptophluorina está ampliamente distribuida por todo el cerebro y sus niveles son heterogéneos en diferentes zonas del sistema nervioso central y periférico. Los ratones son viables, fértiles y aparentemente carentes de fenotipo neurológico. En una de las líneas estudiadas (tgSyph-A), el análisis de inmunofluorescencia con anticuerpos anti-GFP y el marcador presináptico SV2 evidencian una localización característica de la sinaptophluorina en los terminales presinápticos de las fibras musgosas del cerebelo. En particular, la expresión está circunscrita a un subconjunto de fibras musgosas que permiten fácilmente la identificación de fibras únicas con poco o nulo ruido de fondo. Los ratones transgénicos de sinaptophluorina son por tanto de gran interés para estudiar directamente con técnicas de imagen la actividad presináptica en sinapsis difícilmente accesibles, como las fibras musgosas del cerebelo, tanto *in vitro* como *in vivo*. [1] Miesenböck G et al. Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. Nature 1998; 394: 192-5.

O27. INTERNALIZACIÓN Y DESENSIBILIZACIÓN DE LOS RECEPTORES OPIOIDES μ EN CULTIVOS PRIMARIOS DE NEURONAS DEL LOCUS COERULEUS DE RATONES GFP-TH
 M. TORRECILLA SESMA^A, S. ARTTAMANGKUL^B, K. KOBAYASHI^C, D. GRANDY^D, J.T. WILLIAMS^E

^A DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLÓGIA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. UPV/EHU. LEIOA, ESPAÑA. ^B DEPT. OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY. ^E THE VOLLUM INSTITUTE. OREGON HEALTH AND SCIENCE UNIVERSITY. PORTLAND, OREGON, ESTADOS UNIDOS. ^C SCHOOL OF MEDICINE. OSAKA UNIVERSITY. OSAKA, JAPÓN. ^D DEPT. OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY. OREGON HEALTH AND SCIENCE UNIVERSITY. PORTLAND, ESTADOS UNIDOS.

La desensibilización e internalización de los receptores μ son mecanismos de respuesta celular que se desencadenan debido a la estimulación continua del sistema. Lo que aún no está claro es si ambos procesos están relacionados entre sí. Aunque la desensibilización de los receptores μ del locus coeruleus está bien caracterizada, la internalización de receptores endógenos *in vivo* no ha sido determinada. Para ello utilizamos cultivos primarios de ratones cuyas neuronas TH positivas expresaban GFP. Esto nos permitiría identificar fácilmente las neuronas del locus coeruleus en cultivo. Inicialmente se comprobó electrofisiológicamente, midiendo la estimulación e inhibición de las corrientes de potasio y calcio respectivamente, que la actividad de los receptores opioides μ en este modelo celular era similar a la que se observa en preparaciones tipo *slice*. La internalización de los receptores μ se indujo con el agonista opioide fluorescente, DERM-BTR y se monitorizó a tiempo real con un microscopio confocal. La internalización de los receptores μ se identificó como la presencia de puntos fluorescentes citoplasmáticos, lo cual fue bloqueado en presencia del antagonista opioide naloxona. Además la perfusión continua de DERM-BTR desensibilizó los receptores μ ya que la amplitud de la corriente de potasio disminuyó durante su aplicación. Este estudio sugiere que los cultivos primarios de neuronas GFP-TH así como el agonista DERM-BTR son instrumentos válidos para estudiar a tiempo real la posible relación entre la desensibilización e internalización de los receptores opioides μ endógenos.

O28. AUTORREGULACIÓN DE LOS RECEPTORES DE KAINATO
 J. L. ROZAS ESPADAS^A, R. RIVERA BARRACHINA^B, J. LERMA GÓMEZ^B
^A NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, CSIC-UMH. SANT JOAN D'ALACANT. ^B NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

Los receptores ionotrópicos de kainato (KAR) poseen una señalización no canónica, que involucra la activación de una proteína G. Así, la estimulación de estos receptores, produce tanto la apertura de los canales asociados (corriente de membrana) como la activación de la fosfolipasa C y la Proteína cinasa C (PKC). En las neuronas raquídeas, ambos tipos de señalización están presentes (Rozas et al, Neuron 2003; 39: 543-53). Algunas subunidades de los KAR poseen sitios consenso de fosforilación por PKC y su fosforilación se ha relacionado con el mantenimiento de las respuestas sinápticas (ionotrópicas) mediadas por estos receptores. Para determinar si la actividad metabotrópica ejerce alguna acción autorreguladora de los KAR, realizamos experimentos en neuronas raquídeas cultivadas. La corriente provocada por la aplicación de pulsos de kainato evaluó su actividad ionotrópica. La actividad metabotrópica se midió como el grado de inhibición de la señal intracelular de Ca²⁺. La activación de los KAR (pulsos con 1 minuto de intervalo) provocó un decrecimiento paulatino de las respuestas ionotrópicas. Este fenómeno obedece a la activación de PKC, pues fue acelerado por ésteres de forbol y prevenido por aplicación de bisindolilmaleimida. Dicha reducción es uso-dependiente, pues estuvo ausente cuando los pulsos se aplicaron con intervalos de 5 min. A pesar de la reducción de la respuesta ionotrópica, la capacidad metabotrópica del receptor permaneció inalterada en determinadas ocasiones. Estos resultados indican la existencia de un mecanismo previamente desconocido de autorregulación de los KAR, que involucra un *interplay* entre los dos tipos de señalización presentes en estos receptores.

O29. RESIDUOS ESPECÍFICOS DE LA REGIÓN CITOPLÁSMICA DE LA SUBUNIDAD $\alpha 7$ REGULAN DIFERENCIALMENTE LA EXPRESIÓN FUNCIONAL DE RECEPTORES NICOTÍNICOS DE ACETILCOLINA

F. CASTELÁN^A, J. MULET^B, S. SALA^B, F. SALA^B, M. CRIADO^B
^A NEUROBIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT (ALICANTE). ^B NEUROBIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. SANT JOAN D'ALACANT. ALICANTE, ESPAÑA

La región citoplásmica localizada entre los dominios transmembrana M3 y M4 ha sido identificada como un elemento estructural determinante para la adecuada biosíntesis de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs). Dentro de ella se ha descrito la relevancia particular que segmentos adyacentes a M3 y M4 representan para la expresión funcional de nAChRs formados por subunidades $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChRs). A fin de conocer con detalle el papel que desempeñan estos segmentos, se ha realizado un estudio mediante mutagénesis dirigida. Los correspondientes cRNAs se inyectaron en ovocitos de *Xenopus laevis* para determinar la expresión de nAChRs funcionales tanto por la fijación de [125I]-a-bungarotina como por las corrientes producidas al activar con acetilcolina. Los resultados obtenidos mostraron que las mutaciones de algunos residuos de la región citoplásmica modificaron la expresión de $\alpha 7$ -nAChRs. Algunos de estos aminoácidos forman parte de α -hélices que podrían modificarse por estas mutaciones, lo que podría afectar a su vez a posibles interacciones de tipo hélice-hélice con proteínas involucradas en procesos de ensamblaje, transporte y/o degradación de $\alpha 7$ -nAChRs. De esta forma la expresión de $\alpha 7$ -nAChRs en la membrana se vería alterada. Por otro lado, se ha observado una disminución de las corrientes registradas en dos mutantes de aminoácidos próximos al segmento transmembrana M4, lo que indica que estos residuos son importantes para la función de $\alpha 7$ -nAChRs. En conclusión, residuos específicos en la región citoplásmica de la subunidad $\alpha 7$ afectan diferencialmente a la biogénesis y a la función de $\alpha 7$ -nAChRs.

O30. EFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE ANTAGONISTAS NMDA SOBRE SEROTONINA Y GLUTAMATO EXTRACELULARES EN LA CORTEZA PREFRONTAL

J. LÓPEZ GIL, M. AMARGÓS BOSCH, Z. BABOT RIERA, C. SUÑOL ESQUIROL, F. ARTIGAS PÉREZ, A. ADELL CALDUCH
 NEUROQUÍMICA. NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA (CSIC), IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA

Introducción y objetivos. La administración de antagonistas NMDA se ha utilizado como modelo empírico de esquizofrenia puesto que provoca la aparición de sintomatología en individuos sanos y la exacerba en pacientes esquizofrénicos. Se conocen en detalle los efectos de antagonistas NMDA sobre el sistema dopaminérgico, pero no sobre el sistema serotoninérgico, cuyos receptores son diana de los

17.09.05

fármacos antipsicóticos atípicos como clozapina. **Métodos.** Microdiálisis intracerebral en corteza prefrontal medial (CPFm) de rata. Administración de fenciclidina (PCP), ketamina y MK-801. Medida de la liberación de serotonina (5-HT) y glutamato. **Resultados.** La administración sistémica –pero no local– de los tres antagonistas NMDA aumentó la liberación de 5-HT en CPFm. La administración sistémica de clozapina –pero no de haloperidol– bloqueó el efecto de PCP y ketamina. Asimismo, la administración sistémica de MK-801 aumentó la liberación de glutamato en la CPFm. El efecto de MK-801 sobre 5-HT y glutamato se bloqueó por la administración local de clozapina, del antagonista AMPA/KA, NBQX y de tetrodotoxina, lo cual indica que la liberación de 5-HT y glutamato inducida por MK-801 es dependiente del impulso nervioso. **Conclusiones.** En conjunto, los resultados sugieren que la liberación de 5-HT en la CPFm inducida por antagonistas NMDA es secundaria a un aumento de la liberación de glutamato en dicha región. Este efecto puede bloquearse por antipsicóticos atípicos pero no por los clásicos. El hecho de que la administración local de dichos compuestos no altere la 5-HT indica que los receptores NMDA responsable de estos efectos se hallan fuera de la CPFm.

O31. DIFERENTE REGULACIÓN DEL TRANSPORTADOR DE 5-HT TRAS LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE FLUOXETINA, VENLAFAXINA Y F-98214-TA

E. CASTRO^A, A. MARTÍN^B, E. DEL OLMO^C, I. ARTAIZ^C, L. LABEAGA^C, A. ORJALES^C, A. PAZOS^B

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER. ^C DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. FAES FARMA. LEJONA. VIZCAYA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT-PROFIT 2000-2003, SAF04-00941 Y EL INTEK

El transportador de serotonina (SERT) es una diana fundamental para los fármacos antidepresivos. Sin embargo, existen importantes discrepancias en la literatura sobre los cambios producidos en esta molécula tras la administración de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), como la fluoxetina. Por otra parte, la regulación de este transportador por inhibidores mixtos de la recaptación (serotonina y noradrenalina) (IRSN), como venlafaxina, es prácticamente desconocida. En este trabajo se han estudiado las modificaciones de SERT tras tratamiento crónico (21 días, p.o., 10mg/kg) con fluoxetina, venlafaxina y el IRSN de fuerte componente serotoninérgico F-98214-TA. El transportador se marcó con [3H]citalopram (2nM) en secciones cerebrales de rata. El tratamiento crónico con fluoxetina produjo una reducción muy significativa en la densidad de SERT en el núcleo dorsal del rafe (NDR) (-78%, 252,7 ± 28,8 vs. 54,1 ± 4,9 fmol/mg, grupos control y fluoxetina, respectivamente, $p < 0,01$) y en las diversas láminas de la corteza (-64%) e hipocampo (-65%), así como en estriado (-60%). La administración del F-98214-TA produjo una disminución de la densidad del transportador en el NDR (-29%, $p < 0,05$) y un ligero descenso en algunas láminas de la corteza (-30%) y del hipocampo, que solo alcanzó significación en el área CA1 (-21%). Finalmente, la administración crónica de venlafaxina no produjo alteraciones significativas en la fijación de [3H]citalopram en ninguna de las áreas analizadas. Estos resultados sugieren una regulación diferente del SERT tras la administración de antidepresivos en función de la intensidad del componente serotoninérgico del fármaco.

O32. LA ESTIMULACIÓN DE LOS RECEPTORES DE NUCLÉOTIDOS ESPECÍFICOS PARA UTP Y BZATP PRODUCE LA ACTIVACIÓN DE LA PKD EN ASTROCITOS CEREBELOSOS DE LA RATA

E. GARCÍA DELICADO^A, L. M. GUTIÉRREZ CARRASQUERO^A, T. IGLESIAS VACAS^B, M.T. MIRAS-PORTUGAL^A

^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLÓGIA MOLECULAR IV. FACULTAD DE VETERINARIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID. ^B INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. CSIC. MADRID, ESPAÑA

La proteína cinasa D (PKD) es una nueva Ser-Thr-cinasa, sensible a diacilglicerol como varios subtipos de PKCs, pero posee características muy peculiares. Estudios realizados en numerosos tipos celulares han demostrado que su activación en células intactas tiene lugar por un mecanismo dependiente, directa-ó indirectamente, de la activación previa de PKC. Además tras su estimulación se produce una redistribución intracelular pudiéndose translocar hasta el núcleo de la célula. En muchos de estos tipos celulares como en células de músculo liso, osteoblastos, linfocitos y plaquetas, los receptores de nucleótidos participan y regulan algunas de sus funciones. Este hecho junto con la posible implicación de PKD en procesos de plasticidad sináptica, nos llevó a analizar su presencia y regulación por nucleótidos en los astrocitos cerebelosos de rata. Estos astrocitos expresan una gran variedad de receptores de nucleótidos, sin embargo, únicamente los subtipos P2Y2/P2Y4 activados por ATP/

UTP y el receptor P2X7 activado a concentraciones milimolares de ATP, inducen la activación de la PKD. Además, el BzATP agonista selectivo del receptor P2X7, indujo cambios morfológicos tras una hora de estimulación. Esto nos llevó a profundizar en la señalización de este receptor. Hemos demostrado que la activación de la PKD inducida por BzATP es transitoria, con un pico de estimulación máxima a los cinco min y no requiere calcio. Además, la activación de la PKD es paparela pero independiente de la activación de las MAP cinasas y tiene lugar por un mecanismo dependiente de PKC, ya que se previene por el inhibidor G6-6850.

5. ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS Y PSIQUIÁTRICAS

O33. LA POTENCIAL IMPLICACIÓN DE LA ACTIVACIÓN DE RAC1 GTPASA Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL MODELO DE RATÓN FMR1-KNOCKOUT

R. EL BEKAY^A, S. ROMERO-ZERBO^A, I. DEL ARCO^A, F. J. BERMUDEZ-SILVA^B, J. M. DECARA^A, Y. DE DIEGO OTERO^A

^A LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN IIMABIS. MÁLAGA. ^B LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN IIMABIS. MÁLAGA, ESPAÑA

El síndrome X frágil es la primera causa de discapacidad mental hereditaria, causada por inestabilidad de la zona de repeticiones CGG en el gen FMR1 y en último termino por la falta de FMRP. Para intentar aportar algún dato sobre la fisiopatología del síndrome hemos caracterizado los parámetros de estatus oxidativo en el ratón nulo del gen FMR1, modelo del Síndrome X frágil. Debido a sus características fisiológicas, el sistema nervioso central es altamente sensible a los radicales libres que desencadena estrés oxidativo. Hemos observado mayor producción de ROS en macrófagos de ratones FMR1-KO comparado con los controles WT. También, al estudiar la peroxidación lipídica observamos que el cerebro de ratones FMR1-KO tiene niveles altos de TBARS comparado con controles WT. El glutatión intracelular también se encontraba disminuido en cerebro de ratones FMR1-KO comparado con los WT. Para caracterizar las alteraciones moleculares que pueden estar implicadas en la producción de radicales libres hemos estudiado Rac1 GTPasa proteína de la familia Rho, importante en la modulación de la actividad de la NADPH-oxidasa, enzima clave de la producción de los ROS. Los resultados mostraban que la Rac1 GTPasa está activada en el cerebro de ratones FMR1-KO comparado con el basal encontrado en controles WT. Estos resultados indican que la activación de Rac1 GTPasa podría estar relacionada con la excesiva producción de radicales libres y con la aparición de estrés oxidativo en el cerebro de los ratones X frágil, aportando nuevos datos sobre los procesos fisiopatológicos implicados en ese tipo de patología mental.

O34. INHIBICIÓN DE LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA DE MOTONEURONAS POR INMUNOGLOBULINAS DE ENFERMOS CON ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

S. HERNÁNDEZ ESTAÑOL^A, J. CALDERÓ PARDO^B, D. CIUTAT FALCO^B, I. ILLA^C, J. E. ESQUERDA COLELL^B

^A UNITAT DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR, DPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BàSIQUES.

^B UNITAT DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR, DEPT. CIÈNCIES MÈDIQUES BàSIQUES.

UNIVERSITAT DE LLEIDA, LLEIDA. ^C SERVEI DE NEUROLOGIA. HOSPITAL DE LA STA CREU I SANT PAU. BARCELONA, ESPAÑA

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa irreversible que afecta selectivamente las neuronas motoras (MN). Aunque su patogenia es desconocida, existen varios mecanismos descritos que contribuyen a la génesis del daño neuronal. La autoinmunidad forma parte de estos procesos habiendo datos acerca de la presencia de anticuerpos circulantes contra canales de calcio en los sueros de enfermos de ELA. En algunos casos se han hallado también factores neurotóxicos circulantes. Presentamos los resultados de un ensayo con sueros de pacientes afectados por enfermedad de la MN sobre la muerte celular programada (PCD) de MN espinales en desarrollo. Los sueros o su fracción de Igs se han administrado *in ovo* a embriones de pollo durante el periodo en que tiene lugar la PCD en este sistema (E5-9). Se ha analizado y cuantificado la población de MN presentes en la región lumbosacra en embriones E10 y no se ha observado efecto neurotóxico alguno. Paradójicamente, se observa un incremento significativo del número de MN indicando un efecto inhibidor de los sueros sobre la PCD que se acompaña de un incremento en la ramificación axonal intramuscular. Estos efectos están asociados a la fracción de inmunoglobulinas G. Mediante *western blot* se ha detectado que en muchos sueros existen IgGs con capacidad de fijación a proteínas del sistema neuromuscular del embrión de pollo cuya caracterización proteómica se está llevando a cabo. Estos datos refuerzan la idea de que, en algunos enfermos de ELA, existen fenómenos autoinmunes cuya relevancia patogénica o diagnóstica debe ser investigada.

O35. DOPAMINERGIC SYSTEM IS ALTERED IN A MURINE MODEL WITH HAPLOINSUFFICIENCY OF DYRK1AM. DIERSSEN SOTOS^A, A. BORTOLOZZI^B, M. MARTÍNEZ DE LAGRÁN^A, F. ARTIGUES^C^APROGRAMA GENES Y ENFERMEDAD. CENTRO DE REGULACIÓN GENÓMICA. BARCELONA. ^BDEPARTAMENT DENEUROQUÍMICA. CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES AUGUST PI I SUNYER. BARCELONA. ^CDEPARTAMENT DENEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA, CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES AUGUST PI I SUNYER. BARCELONA, ESPAÑA

Dyrk1A has been considered a good candidate gene for the Down syndrome phenotypic abnormalities due to its localization in the DS critical region of human chromosome 21 and its involvement in central nervous system development. To study the in vivo function of Dyrk1A, we have characterized mice with reduced dosage of Dyrk1A. Since the null mutants died during midgestation, we used mice with haploinsufficiency of Dyrk1A (Dyrk1A^{+/-}). Dyrk1A^{+/-} mice show a hypodopaminergic phenotype characterized by hypoactivity in the wheel running and an aggravation of motor alterations at advanced ages. In accordance, Dyrk1A^{+/-} mice are less sensible to cataleptic effect in the bar test after administration of dopaminergic D1 and D2 antagonists. On the other hand, the amphetamine-induced release of dopamine in striatum was lower in Dyrk1A^{+/-} than in control mice, as assessed by microdialysis in freely moving mice. However, stereological methods revealed an increased dopamine neuronal density in the substantia nigra of these mice, compared with control mice. Our data support the hypothesis that Dyrk1A may participate in the Down syndrome motor phenotype through an alteration of the dopaminergic system.

O36. 6-HIDROXIDOPAMINA INDUCE MUERTE CELULAR A TRAVÉS DE LA REDISTRIBUCIÓN SUBCELULAR DE BAX EN CÉLULAS SH-SY5Y

M. GOMEZ-LAZARO, M. F. GALINDO, F. J. FERNANDEZ-GOMEZ, J. JORDAN

CIENCIAS MEDICAS. FAC DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2002-04721 DE CICYT, 04005-00 DE JUNTA DE COMUNIDADES DE CASTILLA LA MANCHA, CONSEJERÍA DE SANIDAD AND SEF-ALMIRALL M.F.G., M. G.-LYF.J. F.-G. SON BECARIOS DE JCCM

La 6-hidroxi dopamina (6-OHDA) es una neurotoxina resultado de la oxidación del neurotransmisor dopamina, ampliamente utilizada en modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson. 6-OHDA es una molécula inestable que rápidamente se autooxida generando productos quinolínicos y especies reactivas del oxígeno, habiéndose postulado la participación de la mitocondria en la cascada apoptótica. Un aumento en la permeabilidad de las membranas mitocondriales conlleva a la translocación de proteínas (citocromo c, caspasa-9, apaf...) al citoplasma, donde forman un complejo multiproteico, apoptosoma, que provoca la iniciación de la cascada de degradación celular. Recientemente, hemos demostrado que 6-OHDA induce la liberación de citocromo c de la mitocondria y la activación de caspasa-3, procesos que son bloqueados por Bcl-x1. En el presente trabajo profundizamos en las vías de señalización que modulan la liberación de citocromo c. 6-OHDA induce liberación de citocromo c en ausencia de edema mitocondrial e independiente de la apertura del poro de permeabilidad transitoria; a través de un mecanismo que implica la redistribución de Bax y de p53. Los niveles proteicos de Bax y p53 son incrementados por 6-OHDA. Bax puede ejercer su función mediante la translocación a la mitocondria y su consiguiente inserción en la membrana mitocondrial externa. p53 es capaz por sí solo de inducir la apoptosis en células SH-SY5Y y la disrupción de la actividad de caspasa-9 protege frente a 6-OHDA.

O37. RECUPERACIÓN MOTORA TOTAL EN ESTADIOS AVANZADOS DEL MODELO CONDICIONAL DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON PESE A LA PÉRDIDA DE NEURONAS Y LA FORMACIÓN DE INCLUSIONES AMILOIDEAS IRREVERSIBLESM. DÍAZ HERNÁNDEZ^A, J. TORRES PERAZA^B, P. GÓMEZ RAMOS^C, M. A. MORÁN^C, J. ALBERCH^D, J. J. LUCAS^E^ACENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. ^BCENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA. CSIC/UAM. CANTOBLANCO, MADRID. ^CDEPARTAMENT DE BIOLOGIA CELULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. FACULTAT DE MEDICINA, IDIBAPS, UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA. ^DDEPARTAMENT DE MORFOLOGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA. ^EDEPARTAMENT DE BIOLOGIA CELULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. FACULTAT DE MEDICINA, IDIBAPS, UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

El modelo transgénico condicional de la enfermedad de Huntington (EH), previamente generado en nuestro laboratorio (ratones Tet/HD94, Cell 2000; 101: 57-66), reproduce la neuropatología y sintomatología motora característica de la enfermedad. Los ratones Tet/HD94 al haber sido generados con el sistema inducible por tetraciclina (Tet-off) permiten apagar la expresión del transgen cuando ya se ha desarrollado la neuropatología y sintomatología motora. En la caracterización inicial vimos que la sintomatología motora y la neuropatología son reversibles. Después vimos que a las edades estudiadas, la sintomatología cursa sin pérdida de neuronas, sugiriendo que al menos en los estadios iniciales, la enfermedad se debe a una disfunción neuronal (J Neurosci 2001; 21: 8772-81) previa a la pérdida de neuronas. Ahora nos planteamos estudiar si la reversión es posible en los estadios más avanzados de la enfermedad. Los estudios esteológicos realizados demuestran que los ratones Tet/HD94 ya presentan una pérdida significativa (12 %) de neuronas estriatales a los 17 meses de edad. Esta pérdida progresa hasta un 40 % a la edad de 22 meses. La supresión de la expresión de la htt mutada desde los 17 a los 22 meses ralentiza la progresiva pérdida neuronal, produce la casi total eliminación de inclusiones intracelulares y la total recuperación del déficit motor. Curiosamente las inclusiones que no revierten se tiñen con el colorante tioflavina-S. Esta es la primera vez que un modelo animal reproduce las inclusiones de naturaleza amiloide característica de esta enfermedad. Además como estas permanecen demostramos que estas inclusiones no son las responsables de patología motora.

O38. EL BDNF MODULA EL SISTEMA DOPAMINÉRGICO NIGROESTRIATAL EN RATONES TRANSGÉNICOS PARA LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTONJ. R. PINEDA^A, J. M. CANALS^B, M. BOSCH^B, A. ADELL^C, G. MENGOD^C, F. ARTIGAS^C, P. ERNFORS^D, J. ALBERCH^E^ADEPARTAMENT DE BIOLOGIA CEL·LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. ^BDEP. BIOLOGIA CEL·LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. FACULTAT DE MEDICINA, UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA. ^CDEPARTAMENT DE NEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA. CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (IBB-CSIC). BARCELONA. ^DLABORATORY OF MOLECULAR NEUROBIOLOGY. DEPARTMENT OF MEDICAL BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, KAROLINSKA INSTITUTET. STOCKHOLM. ^EDEP. BIOLOGIA CEL·LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA. FACULTAT DE MEDICINA. UNIVERSITAT DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

La enfermedad de Huntington se caracteriza, por una degeneración progresiva de las neuronas de proyección del núcleo estriado. Estas neuronas reciben conexiones dopaminérgicas de la sustancia negra que consecuentemente también terminan degenerando. El estudio del circuito del control motor demuestra que la disfunción de las neuronas dopaminérgicas puede contribuir a la afección de dicha enfermedad. En el presente trabajo hemos analizado el papel de la neurotrofina BDNF en la vía nigroestriatal de animales transgénicos que reproducen dicha enfermedad utilizando ratones doble mutantes que expresan huntingtina mutada y niveles reducidos de BDNF. Comparando los ratones doble mutantes con los ratones mutantes para la huntingtina (R6/1), observamos un incremento en el número de agregados en la sustancia negra pars compacta. Además, la reducción de la expresión de BDNF agrava la disfunción de las neuronas dopaminérgicas observada en los ratones mutantes para la huntingtina, como la disminución en las proyecciones dopaminérgicas, el contenido de dopamina y sus receptores estriatales. No obstante, ratones con huntingtina mutada con niveles de BDNF normales o reducidos indistintamente, muestran la misma disminución en el transporte anterógrado, número de neuronas dopaminérgicas y volumen nigral. El estudio de la actividad locomotora inducida por agonistas de los receptores de la dopamina muestran que, en comparación con los ratones R6/1, los dobles mutantes tienen una menor actividad en respuesta a la amfetamina. Nuestros resultados demuestran que la reducción de la expresión de BDNF incrementa la disfunción de las neuronas dopaminérgicas en animales transgénicos para la enfermedad de Huntington.

O39. NEURODEGENERACIÓN TEMPRANA DE INTERNEURONAS HIPOCAMPALES EN UN MODELO TRANSGÉNICO DOBLE (PSIXAPP) DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

D. BAGLIETTO VARGAS^A, B. RAMOS^B, I. MORENO GONZÁLEZ^C, J. C. DEL RÍO^B, J. F. LÓPEZ TÉLLEZ^C, S. JIMÉNEZ^B, C. CABALLERO^D, C. SANTA MARÍA^B, Z. KHAN^E, D. RUANO^D, J. VITORICA^D, A. GUTIÉRREZ^F
^A DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS/ UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. ^D DEPT. BIOQUÍMICA, BROMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA (UNIVERSIDAD DE SEVILLA). SEVILLA. ^C DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ^E DEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. FACULTAD DE CIENCIAS (UNIVERSIDAD DE MÁLAGA). MÁLAGA. ^F CIMES/DEPT. MEDICINA. FACULTAD DE MEDICINA (UNIVERSIDAD DE MÁLAGA). MÁLAGA, ESPAÑA
 FINANCIACIÓN: FIS P1030214 (AG), SAF2002-03448 (JV), FIS P1030177 (DR) Y SA-NOFI-AVENTIS (AGYJV)

La enfermedad de Alzheimer (AD) se caracteriza por la presencia de placas amiloides extracelulares, agregados fibrilares intracelulares y por una pérdida neuronal extensa. Sin embargo, son escasos los cambios neurodegenerativos que se han identificado en modelos transgénicos (tg) de esta enfermedad. Nuestro objetivo es determinar si poblaciones específicas de interneuronas hipocampales son particularmente vulnerables, en estadios tempranos de esta enfermedad, en ratones tg de AD. Hemos analizado mediante RT-PCR cuantitativa, inmunocitoquímica y técnicas estereológicas las tres principales poblaciones de interneuronas, las que contienen somatostatina (SOM), parvalbúmina (PV) o calretinina (CR), en ratones tg PS1 y PS1xAPP de 2 a 18 meses de edad. Los resultados demuestran una disminución profunda de interneuronas SOM-positivas a los 6 meses de edad en los ratones PS1xAPP. La subpoblación de interneuronas que coexpresan SOM y NPY (células OLM y HIPP) fueron las más afectadas. La población CR-positiva también mostró un descenso notable a edades tempranas, mientras que no se detectaron cambios en la población de neuronas PV-positivas ni en la población de neuronas glutamatérgicas principales. Se detectó una correlación inversa entre la expresión de Abeta y de SOM/NPY. La neurodegeneración temprana y selectiva de interneuronas podría representar uno de los primeros eventos patológicos en la evolución de AD y estar relacionada con los déficits de memoria/aprendizaje en fases tempranas. Además, estos marcadores de interneuronas podrían constituir valiosas herramientas moleculares para determinar la efectividad terapéutica de posibles fármacos para AD.

O40. PROTEÍNAS RGS4 Y RGS10 EN CORTEZA CEREBRAL POSTMORTEM DE SUICIDAS CON DEPRESIÓN UNIPOLAR

G. RIVERO^A, A. M. GABILONDO^A, J. A. GARCÍA-SEVILLA^B, J. J. MEANA^A
^A DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO/EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA. LEIOA (BIZKAIA). ^B LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA. IUNICS. UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS. PALMA. ILLES BALEARS, ESPAÑA

En suicidas con depresión unipolar se han descrito aumentos en la densidad del adrenoceptor alfa-2A cuantificados con radioligandos agonistas que podrían deberse, entre otras causas, a una mayor disponibilidad de las proteínas Gi/o. Aunque el nivel de expresión de las proteínas G no parece alterado, sí podrían estarlo los mecanismos que regulan su actividad. En este sentido, las proteínas RGS4 y RGS10 (*regulators of G protein signalling*) aumentan la actividad GTPasa de la subunidad alfa de las proteínas Gi/o expresadas en cerebro, revirtiéndolas al estado inactivo. El objetivo del estudio fue la cuantificación de RGS4 y RGS10 en cerebro humano *postmortem* de suicidas con depresión unipolar frente a individuos control emparejados en función de edad, sexo y retraso autopsico. Se realizaron experimentos de *western blot* sobre preparaciones de membrana (RGS4, una banda de 36kDa, AbN-16) y citosólicas (RGS10, dos bandas de 17-26kDa, AbC-20) de corteza frontal. Respecto a un control externo (100%), la densidad óptica de RGS4 fue similar en suicidas ($96\% \pm 6$, $n = 25$) y en controles ($103\% \pm 5$, $n = 25$). En el caso de la densidad óptica de las dos bandas correspondientes a RGS10, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los suicidas y sus controles. Los niveles de RGS4 Y RGS10 no tuvieron relación con la administración de tratamiento antidepressivo en los suicidas. Los resultados sugieren que el aumento de densidad de los adrenoceptores alfa-2A descrito con radioligandos agonistas no está relacionado con una posible alteración en la cantidad de RGS4 y RGS10 en suicidas con depresión unipolar.

6. FISIOLÓGIA NEURONAL Y DE SISTEMAS

O41. FARMACOLOGÍA Y FUNCIÓN DEL CANAL TERMOSENSIBLE TRPM8 EN NEURONAS SENSORIALES

R. MADRID MONTECINOS^A, E. DE LA PEÑA^B, C. BELMONTE^B, F. VIANA^B
^A NEUROFISIOLÓGIA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE/UMH. SAN JUAN DE ALICANTE, ALICANTE. ^B NEUROFISIOLÓGIA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

TRPM8 es un canal catiónico termosensible activado tanto por frío (umbral < 25 °C) como por compuestos orgánicos como el mentol. Si bien este canal ha sido propuesto como una de las entidades molecular responsable de la respuesta a frío en neuronas sensoriales (NS), se desconoce su importancia funcional a la respuesta térmica en comparación con otros canales. Con el objetivo de identificar y caracterizar bloqueadores de TRPM8 que permitan determinar el efecto de la supresión de la actividad del canal sobre la respuesta a frío en NS, hemos expresado TRPM8 en células HEK293 y hemos estudiado el efecto de diferentes fármacos sobre la corriente activada por enfriamiento (Ifrío). Usando la técnica de *patch-clamp* en su modalidad de célula completa y bajo potencial controlado, hemos encontrado que tanto BCTC (IC50: 504 ± 35 nM), como clotrimazol (IC50: 851 ± 27 nM) y fenantrolina (IC50: 252 ± 26 μM) son bloqueadores efectivos y reversibles de TRPM8. En NS cultivadas del ganglio trigémino, hemos estudiado el efecto de BCTC sobre Ifrío y el potencial de receptor despolarizante en respuesta a enfriamiento (PRfrío). Bajo corriente controlada, 3 μM BCTC redujo el PRfrío máximo de 12.2 ± 0.9 mV a 3.9 ± 1.3 mV. Bajo potencial controlado, la misma concentración saturante de BCTC redujo la magnitud de la Ifrío en un 92%. Estos resultados apuntan a que TRPM8, o canales similares estructuralmente, son componente fundamental de la respuesta a frío en una subpoblación de NS.

O 42. ESTUDIO *IN VITRO* DE LA MODULACIÓN COLINÉRGICA DE LAS RESPUESTAS SINÁPTICAS DE LOS NÚCLEOS DEL CORDÓN POSTERIOR

A. NÚÑEZ^A, D. FERNÁNDEZ DE SEVILLA^B, M. RODRIGO ANGULO^A, W. BUÑO^B
^A DEPARTAMENTO ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y NEUROCIENCIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^B INSTITUTO CAJAL. CSIC. MADRID, ESPAÑA
 FINANCIACIÓN: MCYT (BFI2002-01107) Y CAM (GR/SAL/08772004)

Los núcleos del cordón posterior (NCP) reciben información somestésica de la columna dorsal y de la corteza somestésica y fibras colinérgicas cuyo origen y función son desconocidos. Los mecanismos de modulación colinérgica en los NCP se analizaron mediante registros intracelulares con electrodos finos y de *patch-clamp* en rodajas de cerebro de rata. Se estimularon las fibras de la columna dorsal y las corticofugales. Se inyectaron ratas con toxina colérica conjugada con oro coloidal y se detectaron las neuronas colinérgicas que proyectan a los NCP, mediante la combinación de revelado con intensificador de plata e inmunocitoquímica contra colin-acetil-transferasa. El agonista colinérgico carbacol generó una despolarización del potencial de membrana y un aumento de la resistencia de entrada de estas neuronas. La amplitud de los EPSPs y EPSCs provocados por la estimulación de las fibras afrentes disminuyeron en presencia de carbacol. Sin embargo, debido al aumento de la resistencia de membrana aumentó la eficacia sináptica. El carbacol aumentó la facilitación por pares de pulsos, sugiriendo una acción presináptica. Estos efectos fueron bloqueados por atropina y pirenzepina, indicando que son mediados por activación de receptores muscarínicos m1. El estudio anatómico determinó que las neuronas colinérgicas de proyección a los NCP están situadas en la formación reticular pontina y bulbar, así como en núcleos motores somáticos y vegetativos. En conclusión, la proyección colinérgica a los NCP facilita la transmisión de la información somatosensorial por mecanismos pre y postsinápticos mediados por receptores muscarínicos m1.

O43. DINÁMICA DE LA REPRESENTACIÓN DE LA VELOCIDAD EN EL SISTEMA SOMATOSENSORIAL DE LA RATA

M. MARAVALL RODRÍGUEZ^A, R.S. PETERSEN^B, E. ARABZADEH^C, A.L. FAIRHALL^D, C. PORTERA-CAILLIAU^E, M.E. DIAMOND^C

^A UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, UMH-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ^B FACULTY IN LIFE SCIENCES. UNIVERSITY OF MANCHESTER. MANCHESTER (REINO UNIDO). ^C COGNITIVE NEUROSCIENCE SECTOR. SISSA. TRIESTE (ITALIA). ^D DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY AND BIOPHYSICS. UNIVERSITY OF WASHINGTON. SEATTLE (EE.UU.). ^E DEPARTMENT OF NEUROLOGY. UNIVERSITY OF CALIFORNIA LOS ANGELES. LOS ANGELES, ESTADOS UNIDOS

En la corteza en barriles (CB) de la rata, las respuestas neuronales al roce de texturas representan la velocidad y energía de la vibración de las vibrisas. Esta representación de las características físicas del estímulo es la base neuronal de la discriminación de texturas. Durante la exploración táctil, las respuestas de la CB cambian, o se adaptan, dinámicamente. En este trabajo estudiamos los cambios producidos en las respuestas de la CB durante la presentación continua de estímulos y evaluamos su efecto sobre las representaciones somatosensoriales. Administramos a las vibrisas de ratas anestesiadas vibraciones similares a las experimentadas durante la exploración natural. Examinamos si las neuronas de la CB adaptan sus respuestas dinámicamente a las estadísticas de los estímulos, utilizando estímulos de ruido blanco cuya distribución estadística varía en el tiempo. Durante la exploración natural y también durante la estimulación con ruido blanco, las tasas de descarga de las respuestas se adaptan con escalas de tiempo largas en comparación con las utilizadas para codificar estímulos individuales. Caracterizamos la adaptación mediante análisis de correlación inversa entre los potenciales de acción y los estímulos que los generan. Calculamos los 'filtros' utilizados por la neurona para extraer las características del estímulo; observamos que mientras que los cambios de velocidad son detectados por filtros con un efecto excitador sobre la generación de potenciales de acción, las velocidades constantes tienen un efecto supresor. Este efecto supresor explica gran parte de la adaptación observada.

O44. SUSTITUCIÓN DE ESTÍMULOS TÁCTILES POR ESTIMULACIÓN DE LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL EN UNA PRUEBA DE APRENDIZAJE ASOCIATIVO EN CONEJOS

R. LEAL-CAMPANARIO, J.M. DELGADO_GARCÍA, A. GRUART I MASSÓ DIVISIÓ DENEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

En este trabajo se estudió si un animal tiene una sensación similar al ser estimulado en la corteza somatosensorial correspondiente al parche de vibrisas que cuando se le estimula directamente sobre el propio parche. Para comprobar esta hipótesis, se realizaron seis grupos de experimentos en conejos, mediante un condicionamiento clásico del reflejo corneal, con un paradigma de traza 'choque-soplo'. En un primer grupo se utilizó como CS un choque eléctrico (200 Hz, 100 ms) en las vibrisas, seguido (500 ms después) de un soplo (100 ms, 3 kg/cm²) dirigido a la córnea, como US. En el segundo, el choque (CS) se aplicó en la zona de la corteza correspondiente al parche de vibrisas. En el tercero, el CS fue un choque eléctrico en una zona de la corteza ajena a las vibrisas: la zona de las patas traseras. En el cuarto, se estimuló durante 6 días en vibrisas (CS) y, luego, se cambió el estímulo a la corteza de vibrisas durante 5 días. El quinto grupo fue igual al cuarto, sólo que en vez de estimular en vibrisas, se estimuló en la corteza de la pata posterior (CS) durante 5 días. En el sexto, se estimuló en corteza de la pata (CS) durante 6 días, y luego se estimuló en las vibrisas durante 5 días. En todos los casos, se comprobó que el animal experimental no discrimina entre estímulos naturales y estímulos aplicados en la corteza somatosensorial correspondiente, pero sí entre zonas corticales, y/o de la superficie corporal, diferentes.

O45. RÁFAGAS ESPONTÁNEAS Y ACTIVIDAD RÍTMICA EN EL NÚCLEO CUNEADO DE RATAS ANESTESIADAS

E. SÁNCHEZ FERNÁNDEZ^A, M. ROMERO ROCHA^B, A. I. SENRA VIÑAS^B, J. A. LAMAS CASTRO^B

^A LABORATORIO DE ELECTROFISIOLOGÍA. FACULTAD DE BIOLOGÍA UNIVERSIDAD DE VIGO. VIGO. ^B LABORATORIO DE ELECTROFISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE VIGO. VIGO, ESPAÑA

La actividad neuronal espontánea y rítmica en los núcleos de las columnas dorsales se identificó hace tiempo en el gato anestesiado. En este trabajo, hemos estudiado el comportamiento espontáneo de las células del núcleo cuneado (NC) en ratas anestesiadas mediante registro extracelular. La mayoría de las neuronas registradas (155/185) dispararon espontáneamente: el 73,5% con disparo en potenciales de acción (PA) individuales y el 26,5% con disparo en ráfagas, aunque las ráfagas se pueden observar en el 59,4% de las células espontáneas. Encontramos disparo rítmico en el 14% de las células con ráfagas y de PA individuales, situadas cerca del óxex

(±0,5 mm). Aunque la frecuencia de los PA se encuentra principalmente en el rango 0-15 PA/s, la actividad rítmica espontánea está sobre todo en el rango alfa/beta (células con PA individuales: 26,1 ± 3,6 Hz, n = 16; células con ráfagas: 19,5 ± 4,1 Hz, n = 6). La estimulación del lemnisco medial activó a menudo varias células antidrómicas con la misma latencia, lo que implica probablemente que son reclutadas sincronizadamente por la estimulación de campos receptores superpuestos, para reforzar la sumación temporal y espacial en sus dianas. Aproximadamente el 65% de las células cuneolemniscales fueron neuronas con actividad espontánea (82,6% con PA individuales, 17,4% rítmicas de PA individuales). A menudo observamos respuestas ortodrómicas de corta latencia en las células del lemnisco medial no activadas antidrómicamente, posiblemente por la activación a través de colaterales lemniscales. Sólo las células con disparo en ráfagas rítmico fueron completamente insensibles a la estimulación lemniscal. Estos resultados muestran que las células del NC pueden disparar espontáneamente ráfagas rítmicas.

O46. EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS TEMPORALES DE LA RESPUESTA DE LAS CÉLULAS DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL DEL GATO

N. ESPINOSA, J. MARIÑO, C. DELABRA, C. RIVADULLA, M. FERNÁNDEZ, J. CUDEIRO

NEUROCOM. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MICYT (BF12002-03200)

La aplicación de pulsos repetitivos de estimulación magnética transcranial (EMTr) sobre la corteza cerebral produce efectos en la excitabilidad neuronal que dependen de la frecuencia e intensidad de estimulación. Hemos utilizado esta técnica para estudiar el control que las fibras corticofugales ejercen sobre el desarrollo temporal de la respuesta de las células talámicas. Se aplicó EMTr (1 y 6 Hz, 50 y 100% de intensidad máxima del equipo) sobre la corteza visual primaria de gatos anestesiados y paralizados de manera simultánea al registro extracelular de la respuesta a estímulos visuales de neuronas del núcleo geniculado lateral (NGL). Los estímulos consistieron en enrejados sinusoidales en movimiento y en cuadrados presentados durante periodos muy breves de tiempo (30 ms) en distintas posiciones del espacio visual, lo que permite caracterizar las propiedades espaciotemporales del campo receptor. La estimulación con EMTr a 6 Hz y al 50% indujo un retraso en la respuesta a estimulación con enrejados en el 70% de las células; el 30% restante no mostró cambios o bien mostró el efecto opuesto. La EMTr al 100% provocó un adelanto de la respuesta de la mayoría de las células. El estudio del campo receptor (estimulación con cuadrados) indica que la EMTr (1 Hz y 50%) induce un retraso en su evolución temporal. Los resultados indican que la corteza controla la evolución temporal de las respuestas neuronales del NGL y que la EMTr permite estudiar la contribución de las conexiones corticofugales al procesamiento visual en el tálamo.

O47. ESTUDIO DEL PROCESAMIENTO DE NOMBRES, VERBOS Y PSEUDOPALABRAS MEDIANTE POTENCIALES RELACIONADOS CON EVENTOS (ERPs) Y CARTOGRAFÍA CEREBRAL

J. P. LARA MUÑOZ, C. MONTES GONZALO, M. Á. BARBANCHO FERNÁNDEZ, M. S. DAWID-MILNER, E. VILA HERRERO, S. GONZÁLEZ BARÓN

UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA HUMANA (CIMES). DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA HUMANA. FACULTAD DE MEDICINA. MÁLAGA, ESPAÑA

El estudio de modificaciones en la memoria semántica presenta especial interés en sujetos sanos y constituye frecuentemente la primera manifestación de numerosos procesos neurodegenerativos, entre los que destaca la enfermedad de Alzheimer. En este primer estudio, se ha valorado en 20 sujetos sanos la actividad neuronal mediante técnicas electrofisiológicas en una tarea de reconocimiento visual y representación mental de nombres, verbos y pseudopalabras (STIM 2.0, Neuroscan). A partir de EEG digital (SI 10-20), se obtuvieron para cada categoría de estímulo los promedios de los ERPs, de cada sujeto y del grupo, e imágenes de cartografía cerebral (SCAN 4.1, Neuroscan). Los ERPs mostraron las siguientes ondas (se indican latencia en milisegundos y amplitud máxima en microvoltios con su localización): a) Procesamiento de nombres: N130 (-2,417, O2), P200 (3,8, Cz), N400 (-3,48, Cz), P600 (1,46, T5), N1000 (-3,2, Pz) y P1000 (2,32, F7). b) Procesamiento de verbos: N130 (-2,54, O2), P200 (3,74, Pz), N400 (-4,42, Fz), P500 (0,82, T5) y N1000 (-4,23, Pz). c) Procesamiento de pseudopalabras: N130 (-2,54, O2), P200 (5,38, Cz), N400 (-3,07, Cz), P1000 (2,76, Fz) y N1000 (-2,54, F7). El estudio electrofisiológico comparativo permitió definir patrones específicos para cada categoría de estímulo; las mayores diferencias se observaron para las pseudopalabras. Estos resultados manifiestan activaciones secuenciales de los sistemas neuronales implicados. Muestran la validez de las técnicas de ERPs y cartografía cerebral para

17.09.05

obtener patrones de procesamiento cortical evocados por palabras y pseudopalabras en sujetos sanos, que pueden servir de referencia para los obtenidos en pacientes con deterioro cognitivo.

O48. RESPUESTAS VISUALES EN EL CÓRTEX TEMPORAL INFERIOR EN HUMANOS

F. GONZÁLEZ^A, L. RELOVA^A, A. PRIETO^B, M. PELETEIRO^C

^A FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO. SANTIAGO DE COMPOSTELA. ^B NEUROCIROGÍA. COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. ^C FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. A CORUÑA, ESPAÑA

Objetivo. Estudiar las características de las respuestas evocadas visuales en la corteza temporoparietooccipital (TPO), occipital medial (OM) y occipitotemporal basal (OTB) en humanos. *Pacientes y métodos.* Hemos estudiado las respuestas visuales en las áreas corticales mencionadas a la disparidad, color y textura en una paciente

con epilepsia refractaria al tratamiento médico en la que se decidió realizar un tratamiento quirúrgico colocándole tres mantas de electrodos subdurales. Como estímulos visuales se utilizaron estereogramas de puntos al azar (RDS), figuras sólidas y con textura, y figuras en color. Las respuestas evocadas por estos estímulos en la superficie cortical se registraron mediante los electrodos subdurales utilizando un equipo convencional de potenciales evocados visuales. *Resultados y conclusiones.* No hemos conseguido respuestas visuales en TPO. Sin embargo, hemos obtenido claras respuestas en OM (área pericalcarina) y en OTB (lóbulo fusiforme). En el lóbulo fusiforme las respuestas a la disparidad fueron claramente dependientes de la disparidad, textura y color del estímulo, y del hemisferio estimulado. Por el contrario, las respuestas en el área pericalcarina no fueron dependientes de la textura ni de la disparidad. La estimulación con RDS decorrelacionados produjeron respuestas en el área calcarina pero no en el lóbulo fusiforme. Estos resultados indican que el lóbulo fusiforme está relacionado con la estereopsis, el reconocimiento de formas y la percepción al color. Además sugieren que esta estructura tiene un nivel jerárquico alto, aunque no supone un estadio final en el procesamiento de la información visual.