

PÓSTERS

6. TRANSMISIÓN SINÁPTICA Y EXCITABILIDAD

NEUROTRANSMISORES

P313. QUIMIOSENSIBILIDAD DE LA MÉDULA ADRENAL DE LA RATA

A.J. RICO MARTÍN, S.P. FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, J. PRIETO LLORET, C. GONZÁLEZ, R. RIGUAL

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR Y FISIOLÓGICA/INSTITUTO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR (IBGM), UNIVERSIDAD DE VALLADOLID/CSIC, VALLADOLID, ESPAÑA

La médula adrenal (MA) origina un pico plasmático de catecolaminas (CA) durante el parto que es fundamental para la adaptación extrauterina. En la rata neonatal la secreción de la MA ante la hipoxia es independiente de la innervación esplácnica y desaparece coincidiendo con dicha innervación (2.^a semana postnatal). Sin embargo, resultados experimentales *in vitro* han generado incertidumbres sobre la pérdida de la sensibilidad directa a la hipoxia demostrada *in vivo*. Tampoco sabemos si existe respuesta 'no neurogénica' frente a hipercapnia/acidosis o hipoglucemia. Utilizando una preparación *in vitro* de MA de rata que permite registrar la secreción de CA mediante microamperometría, hemos analizado la secreción en MA de ratas neonatales (P1-2) y juveniles (P14-15). Observamos que las MA neonatales responden a la hipoxia secretando CA de forma sensible a nisoldipina (1 µM). Esta respuesta 'no neurogénica' se reduce a un 35% en ratas juveniles y se pierde en adultas. La MA neonatal también secreta CA frente a la acidosis-hipercapnia y se reduce a un 40% en juveniles. La aplicación simultánea de hipoxia y acidosis produce un efecto sinérgico. La hipoglucemia estimula la secreción de CA en presencia de piruvato (10 mM). Esta respuesta secretora disminuye en la MA juvenil y se potencia enormemente por la hipoxia. Nuestros resultados confirman que la respuesta no neurogénica en MA se pierde coincidiendo con la innervación y demuestran la existencia de respuestas no neurogénicas frente a acidosis-hipercapnia e hipoglucemia que también disminuyen durante el desarrollo. Los efectos sinérgicos deben ser considerados como causa del pico plasmático de CA durante el nacimiento.

P314. PROYECCIONES SIMULTÁNEAS DE NEURONAS PIRAMIDALES DE CORTEZA PREFRONTAL AL ÁREA TEGMENTAL VENTRAL Y AL RAPE DORSALP. VÁZQUEZ BORSETTI^A, P. CELADA PEDROSA^B, R. CORTÉS COLOMÉ^C, F. ARTIGAS PÉREZ^D^A BECARIO DOCTORAL. ^B INVESTIGADORA PROGRAMA. ^C INVESTIGADORA CIENTÍFICA. ^D PROFESOR DE INVESTIGACIÓN. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA, BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2004-05525

Objetivos. La corteza prefrontal medial (CPFm) proyecta al núcleo dorsal del rafe (RD) y al área tegmental ventral (ATV), modulando la actividad de las neuronas serotoninérgicas y dopaminérgicas. Las relaciones anatómicas y funcionales entre estas tres áreas son de interés en enfermedades psiquiátricas (depresión, esquizofrenia). Usando técnicas electrofisiológicas e histológicas hemos estudiado si existe segregación de las neuronas piramidales que proyectan al RD y el ATV. **Métodos.** Registros extracelulares de neuronas piramidales de CPFm en ratas implantadas con electrodos de estimulación en ATV y RD. Aplicación iontóforética de trazadores retrógrados (subunidad B de la toxina colérica, CTB, y *fluoro gold*, FG) en RD y ATV. Los animales fueron perfundidos al cabo de ~10 días de sobrevida. Se realizaron cortes coronales de CPFm para su posterior análisis por inmunohistoquímica. **Resultados.** Se estimularon secuencialmente el RD y el ATV, registrándose los correspondientes potenciales antidrómicos en neuronas de CPFm. Las latencias fueron de 6,6 ms ($n=25$, ATV) y 13,7 ms ($n=23$, RD). Se registraron potenciales antidrómicos desde ambas áreas en un 60% de las neuronas piramidales registradas. Un 78% de las neuronas que proyectan al RD también proyectan al ATV y un 72% de las que proyectan al ATV también proyectan al RD. Los estudios histológicos muestran la presencia de ambos trazadores en CPFm, observándose neuronas doblemente marcadas, confirmando los resultados obtenidos mediante técnicas electrofisiológicas. **Conclusiones.** Una elevada proporción de neuronas piramidales de CPFm proyectan simultáneamente al RD y al ATV, indicando un control simultáneo de ambos núcleos por la CPFm.

P315. RECEPTORES DOPAMINA D1 y D2 EN NEURONAS PIRAMIDALES EN INTERNEURONAS GABAÉRGICAS DE CORTEZA PREFRONTAL DE RATA

N. SANTANA RAMOS, G. MENGOD, F. ARTIGAS

NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA CSIC-IDIBAPS, BARCELONA, ESPAÑA

Antecedentes y objetivos. La corteza prefrontal (CPF) está implicada en gran número de funciones superiores: cognición, memoria de trabajo, planificación del comportamiento, etc., y su actividad está alterada en múltiples enfermedades psiquiátricas. Los tipos neuronales más abundantes son neuronas piramidales de proyección y las interneuronas gabérgicas. La CPF recibe aferencias de los núcleos aminérgicos del tronco del encéfalo, entre ellos, el área tegmental ventral. Las neuronas dopaminérgicas mesocorticales modulan la actividad de las neuronas corticales a través de diversos receptores, entre los que destacan los D1 y D2. Estas acciones son complejas y no se conoce en detalle el sustrato celular responsable de las mismas. **Métodos.** En el presente trabajo hemos estudiado, mediante la técnica de la doble hibridación *in situ*, la expresión del ARNm de estos receptores en neuronas piramidales y GABAérgicas, utilizando como marcador específico de estos tipos celulares el transportador vesicular de glutamato (vGLUT1) y la glutamato descarboxilasa, (GAD65/67), respectivamente. **Resultados.** Los ARNm de ambos receptores dopaminérgicos muestran una distribución laminar en CPF, con una mayor abundancia en capas intermedias y profundas. Ambos ARNm se localizan en áreas cingulada, prelímbica e infralímbica de la CPF medial, así como en corteza insular, motora y orbital. Mediante doble hibridación *in situ*, se han localizado los ARNm de ambos subtipos en neuronas piramidales y, en menor proporción, en interneuronas gabérgicas. **Conclusiones.** La presencia de receptores D1 y D2 en neuronas piramidales y gabérgicas es consistente con la multiplicidad de acciones ejercidas por la DA en CPF.

P316. AUMENTO DE LA ACTIVIDAD DOPAMINÉRGICA EN LA CORTEZA PREFRONTAL POR FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS. PAPEL DE LOS RECEPTORES 5-HT1A CORTICALESLL. DÍAZ MATAIX^A, A. BORTOLOZZI^A, C. SCORZA^A, P. CELADA^A, M. TOTTH^B, F. ARTIGAS^A^A DEPARTAMENT DE NEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA CSIC-IDIBAPS, BARCELONA, ESPAÑA. ^B PHARMACOLOGY, WEILL MEDICAL COLLEGE, CORNELL UNIVERSITY, NUEVA YORK, ESTADOS UNIDOS

Introducción y objetivos. A diferencia de los neurolépticos clásicos, los antipsicóticos atípicos aumentan la liberación de dopamina (DA) en corteza prefrontal medial (CPFm), un efecto relacionado con la acción procognitiva 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 BAY x3702 (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 revirtieron mediante WAY 100635 (antagonista 5-HT1A). En ratas sometidas a una transección cortical, BAY x3702 no incrementó la actividad de las neuronas DAérgicas. La aplicación de BAY x3702 (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), BAY x3702 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 coperfundieron 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.

P317. ACTIVACIÓN DOPAMINÉRGICA POR ESTIMULACIÓN DE RECEPTORES 5-HT2A CORTICALES. MODULACIÓN POR ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS

F. ARTIGAS PÉREZ, A. BORTOLOZZI, L. DÍAZ-MATAIX, C. SCORZA, P. CELADA

NEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA CSIC-IDIBAPS, BARCELONA, ESPAÑA

Antecedentes y objetivos. Los antipsicóticos atípicos presentan mayor afinidad por receptores 5-HT2A que por receptores de dopamina (DA) D2. Las neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial (CPFm) expresan receptores 5-HT2A y proyectan al área tegmental ventral (ATV), que contiene las neuronas DAérgicas

mesocorticales y mesolímbicas. Así, los receptores 5-HT_{2A} corticales podrían afectar indirectamente la transmisión dopaminérgica modulando la actividad de las neuronas de proyección al ATV. **Métodos.** Se han examinado las respuestas de neuronas dopaminérgicas del ATV a la administración local (CPFm) y sistémica del agonista 5-HT_{2A}/2C DOI mediante registros extracelulares unitarios. Se ha empleado microdialísis intracerebral en rata para estudiar los cambios en la liberación de DA en CPFm y ATV en respuesta a la administración local y sistémica de fármacos. **Resultados.** La administración local (CPFm) y sistémica de DOI incrementó la frecuencia de disparo en ráfagas de neuronas DAérgicas y la liberación de DA en ATV y en CPFm. Igualmente, la estimulación eléctrica de la CPFm (10-20 Hz) aumentó la liberación de DA en ATV. Los efectos del DOI fueron revertidos por M100907 y ritanserina. La aplicación local de clozapina y olanzapina en CPFm revirtió el incremento previo de DA inducido por DOI aunque aumentó la liberación de DA cuando se administraron solos. **Conclusiones.** Los receptores 5-HT_{2A} corticales controlan la actividad de las neuronas DAérgicas del ATV. Los antipsicóticos atípicos podrían ejercer su efecto terapéutico a través del bloqueo de dichos receptores corticales, modulando de este modo la actividad de las neuronas DAérgicas.

P318. RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS 5-HT_{1A} Y 5-HT_{2A} EN NEURONAS GLUTAMATÉRGICAS Y GABAÉRGICAS DE LA CORTEZA PREFRONTAL HUMANA Y DE MONO

J. DE ALMEIDA^A, G. MENGOD^B

^ANEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICA DE BARCELONA. BARCELONA. ^BNEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: LAMARATÓ DETV3

Objetivos. Determinar el porcentaje de neuronas glutamatérgicas e interneuronas gabérgicas que expresan los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en la corteza prefrontal de cerebros humanos y de monos. **Material y métodos.** Se utilizaron secciones congeladas de corteza prefrontal humana ($n=5$) y mono, *Macaca fascicularis* ($n=6$). Para la hibridación in situ se sintetizaron diferentes oligonucleótidos de DNA de 45 bases complementarias a los mRNA a estudiar, y se marcaron en su extremo 3' bien con [33P]-a-dATP (receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}) o con digoxigenina dUTP (marcadores celulares). El fenotipo de las células glutamatérgicas se determinó hibridando con oligonucleótidos marcados con digoxigenina complementarios al mRNA de los transportadores vesiculares del glutamato (vGluT1 y vGluT2), y el de las células gabérgicas con sondas específicas de las isoformas GAD65 y GAD67 del enzima responsable de la síntesis del GABA, descarboxilasa del ácido glutámico. **Resultados.** El mRNA de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} se encuentra en la mayor parte de las neuronas glutamatérgicas, mientras que su expresión es muy baja en las interneuronas gabérgicas, en todas las áreas estudiadas de la corteza prefrontal tanto de humano como de mono. **Conclusiones.** La localización preferente de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en las células glutamatérgicas y no en las interneuronas gabérgicas de la corteza prefrontal en mono y en humano, aporta nueva información neuroanatómica útil para determinar el sitio de acción de los fármacos que se utilizan para el tratamiento de trastornos psiquiátricos tales como antipsicóticos atípicos o antidepresivos.

P319. CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO POSTACTIVATORIO DEL GLUTAMATO EN LAS NEURONAS DEL LOCUS COERULEUS DE LA RATA

T. ZAMALLOA ECHEVARRÍA^A, J. PINEDA ORTIZ^A, Á. VILLARROEL MUÑOZ^B

^AFARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO (UPV/EHU). LEIOA. ^BUNIDAD DE BIOFÍSICA. CSIC/UPV. LEIOA. VIZCAYA, ESPAÑA

El locus coeruleus (LC), principal núcleo noradrenérgico del cerebro, contiene gran densidad de receptores glutamatérgicos. El objetivo del trabajo fue profundizar en el mecanismo de acción del glutamato en el LC mediante registros extraunilcelulares en rodajas cerebrales. El glutamato produjo estimulación seguida de una inhibición completa ($n=15$) o parcial ($n=5$) de la actividad neuronal. El bloqueo de receptores inhibitorios en el LC (adrenérgicos α_2 , opioides m, adenosínicos A₁ y GABA_A) no modificó la inhibición postactivatoria producida por glutamato. Tampoco la modificó el bloqueo de los canales de Na⁺ con TTX, lo que sugiere que no está mediada por la liberación presináptica de neurotransmisores inhibitorios. La aplicación de los agonistas glutamatérgicos NMDA, kainato o tACPD (metabotrópico) o la combinación de ellos, no indujo inhibición postactivatoria, pero la perfusión con AMPA o quisqualato (agonistas del receptor AMPA) sí lo hizo. En concordancia, el bloqueo del receptor NMDA (D-AP5) no modificó la

inhibición postactivatoria inducida por glutamato, mientras que el bloqueo del receptor AMPA (CNQX) lo hizo significativamente. Por otra parte, el bloqueo de las corrientes de K⁺ (TEA) disminuyó la inhibición postactivatoria del glutamato, mientras que la perfusión con un medio bajo en K⁺ aumentó este efecto inhibitorio. Sin embargo, el bloqueo de distintas corrientes de K⁺ (inhibidores de K_{IR}, canales de K⁺ activados por calcio y bomba Na⁺/K⁺) no produjo modificaciones de dicha inhibición. Por ello concluimos que la inhibición postactivatoria inducida por glutamato está mediada por el receptor AMPA a través de un mecanismo postsináptico dependiente de K⁺.

P320. ORCHIDECTOMY INCREASES NEURONAL NITRIC OXIDE FUNCTION AND METABOLISM IN RAT MESENTERIC ARTERY. ROLE OF SUPEROXIDE ANION

J. BLANCO-RIVERO, A. SAGREDO RODRÍGUEZ, M. D. C. MARTÍN ALONSO, G. BALFAGÓN CALVO, M. FERRER PARRA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS (PI020335 Y C03/01) Y DGCYT (BF2001-1324)

This study examines how endogenous male sex hormones influence neuronal nitric oxide (NO) release, metabolism and function in rat mesenteric arteries. For this purpose, endothelium-denuded mesenteric arteries from male (control and orchidectomized) Sprague Dawley rats were used to analyse: (1) the vasomotor response to electrical field stimulation (EFS); (2) the release of neuronal NO; (3) the vasodilator response to the NO donor sodium nitroprusside (SNP) and the cGMP analogue, 8Br-cGMP, and (4) the generation of superoxide anion. EFS induced similar frequency-dependent contraction in arteries from both groups. The NO synthase (NOS) inhibitor Nw-nitro-L-arginine methyl ester increased EFS-elicited contraction more in arteries from orchidectomized than control animals, while EFS-induced NO release was similar. In noradrenaline-(NA) precontracted segments, SNP induced a vasodilator response which was greater in segments from orchidectomized than control rats, while that induced by 8Br-cGMP was similar in both groups. Preincubation with superoxide dismutase (SOD, a superoxide anion scavenger) enhanced the response to SNP only in segments from orchidectomized rats. The generation of superoxide anion was greater in segments from orchidectomized than control rats. Preincubation with diethyldithiocarbamate, a SOD inhibitor, diminished the response to SNP more in segments from control than orchidectomized rats. These results indicate that orchidectomy: (1) does not alter the neuronal NO release induced by EFS while increases its functional role; (2) increases superoxide anion formation which in turn enhanced the NO metabolism; and (3) could increase the SOD expression and/or activity.

P321. LA INGESTA REPETIDA DE ALCOHOL REDUCE EL EFECTO DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55,212-2 SOBRE LA SÍNTESIS DE MONOAMINAS EN EL CEREBRO DE LA RATA IN VIVO

S. ESTEBAN VALDÉS, D. MORANTA MESQUIDA, J. GARCÍA SEVILLA^B

LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE LAS ISLAS BALEARES (IUNICS). PALMA DE MALLORCA. MALLORCA, ESPAÑA

Algunos efectos farmacológicos del alcohol parecen estar mediados por el sistema endocannabinóide. La exposición crónica al alcohol aumenta los niveles extracelulares de endocannabinoides, lo que podría ser la base de la desensibilización de receptores cannabinoides. Se analizó el efecto agudo del agonista selectivo de los receptores cannabinoides, WIN55212-2, sobre la síntesis de monoaminas en el cerebro de rata in vivo, tras administración repetida de etanol (2 g/kg/día, 7 días) y abstinencia espontánea (24 h). Se utilizó la acumulación de DOPA y 5-hidroxitriptófano (5-HTP) tras inhibición de la descarboxilación (NSD1015, 100 mg/kg, i.p.) como índices de la tasa de síntesis de NA en el locus coeruleus e hipocampo, dopamina en el estriado y 5-HT en las tres regiones. DOPA y 5-HTP fueron cuantificados mediante HPLC con detección electroquímica. El WIN55212-2 (4 mg/kg, i.p.) aumentó la acumulación de DOPA en el locus (252%, $p<0,001$) e hipocampo (64%, $p<0,05$) y la disminuyó en estriado (42%, $p<0,001$). También disminuyó la de 5-HTP en el locus (37%, $p<0,05$), hipocampo (18%, $p<0,05$) y estriado (25%, $p<0,05$). Estos efectos fueron antagonizados por el antagonista selectivo del receptor cannabinoide CB1 SR141716A. La administración crónica de etanol no modificó la acumulación de DOPA en ninguna región, pero se observó un aumento de 5-HTP en locus e hipocampo durante la abstinencia (61% y 29%, $p<0,05$, respectivamente). El efecto del WIN55212-2 se vio reducido tras la administración crónica de etanol (17-186%, $p<0,05$) y abolido durante la abstinencia, indicando una desensibilización del receptor cannabinoide CB1 en el cerebro de la rata in vivo.

P322. LOCALIZACIÓN DE LOS TRANSPORTADORES VESICULARES DEL GLUTAMATO VGLUT1 Y 2 EN LA VÍA AUDITIVA

J. SORIANO ^A, L. JIMÉNEZ-DÍAZ ^A, R. LUJÁN ^A, J.M. JUIZ ^B

^AÁREA DE HISTOLOGÍA. ^BÁREA DE HISTOLOGÍA. DPTO DE CIENCIAS MÉDICAS, FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA Y CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. ALBACETE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT (BFI2003-09147-CO2-02), CONSEJERÍA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (PAI-03-015) Y AYUDAS DE LA CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN Y CIENCIA, JCCM Y EL FONDO SOCIAL EUROPEO

El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central, incluyendo la vía auditiva. La identificación de neuronas y sinapsis glutamatérgicas es importante para comprender la organización funcional de los circuitos neurales implicados en el procesamiento auditivo. Los transportadores vesiculares del glutamato (VGLUTs) son proteínas transmembrana de vesículas sinápticas que se encargan de concentrar glutamato en su interior para su posterior liberación. Se han identificado tres VGLUTs: VGLUT1, 2 y 3, de los cuales VGLUT1 y 2 son específicos de las sinapsis glutamatérgicas en el animal adulto. Se desconoce el patrón de localización de VGLUT1 y 2 en sinapsis de la vía auditiva. Mediante técnicas inmunohistoquímicas y microscopía óptica convencional, confocal y electrónica, estamos analizando el patrón de localización de VGLUT1 y 2 en los principales núcleos de la vía auditiva del tronco del encéfalo en ratas Wistar adultas. Hemos encontrado que VGLUT1 marca terminales sinápticos excitatorios de los núcleos cocleares, complejo olivar superior, lemnisco lateral y colículo inferior. La inmunoreactividad de VGLUT2 es mucho más débil y restringida, localizándose principalmente en regiones periféricas, de células pequeñas, de los núcleos cocleares. La localización de VGLUT1 y 2 en botones sinápticos excitatorios los convierte en buenos predictores de sinapsis glutamatérgicas. Por otra parte, los resultados obtenidos sugieren que VGLUT1 y 2 están presentes en poblaciones sinápticas diferentes, aunque la relevancia biológica de este hecho se desconoce.

P323. LA DEPRIVACIÓN SENSORIAL NO ALTERA LA DISTRIBUCIÓN DE LOS RECEPTORES AMPA EN NEURONAS AUDITIVAS CENTRALES

J. R. MARTÍNEZ GALÁN ^A, E. CAMINOS ^B, C. VALE ^C, J.M. JUIZ ^B

^AÁREA DE HISTOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA Y CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS/UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA. ALBACETE. ^BÁREA DE HISTOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA Y CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS/UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA. ALBACETE. ^CDEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO. LUGO, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT (BFI2003-09147-CO202), CONSEJERÍA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (PAI-03-015) Y CONSEJERÍA DE SANIDAD (GC-04-006) JCCM

Las conexiones sinápticas excitadoras parecen contribuir a la supervivencia y mantenimiento de la integridad neuronal de la neurona postsináptica. El objetivo de este trabajo consistió en averiguar si la privación sensorial por ablación de la cóclea afecta la expresión, distribución y propiedades iónicas de las subunidades que conforman el receptor de glutamato de tipo AMPA en las neuronas del núcleo coclear ventral (NCV). Para ello, se hicieron cocleotomías bilaterales en ratas de 30 días postnatales y se sacrificaron 11 días después. El análisis inmunocitoquímico indicó que no había alteración en la distribución de las subunidades GluR1, GluR2/3 y GluR4 tras la desafrentación de las neuronas del NCV. Los receptores AMPA del NCV están formados principalmente por la combinación de las subunidades GluR3 y GluR4, presentando una elevada permeabilidad a calcio. Experimentos de captación de cobalto inducida por kainato en rodajas permitieron comprobar que la permeabilidad a calcio no varía, al menos tras 11 días de la lesión. Western blots de núcleos cocleares de animales controles y lesionados confirmaron que no hubo cambios en los niveles de expresión de las subunidades AMPA. Por último, Western blots realizados tras cocleotomía y sacrificio de los animales 60 días después indicaron que la composición de las subunidades se preservaba incluso a largo plazo después de la lesión. Por tanto, en este sistema, la regulación de los receptores AMPA parece ser relativamente independiente del estado de la terminación presináptica.

P324. MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE CORTEZA PREFRONTAL POR FENCICLIDINA Y CLOZAPINA

L. KARGIEMAN ^A, F. ARTIGAS, P. CELADA

NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA. CSIC. IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA

Introducción y objetivos. Existen alteraciones funcionales, celulares y neuroquímicas de la corteza prefrontal (CPF) en pacientes esquizofrénicos. Los antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA (e.g., fenciclidina, PCP) se usan como

modelo farmacológico de esquizofrenia ya que los fármacos antipsicóticos atípicos reversion las alteraciones de conducta inducidos por PCP. Hemos estudiado las acciones de PCP sobre la actividad de las neuronas piramidales de proyección en CPFm de rata y su posible reversión por el antipsicótico atípico clozapina. **Métodos.** Registros extracelulares unitarios de neuronas piramidales de CPFm de proyección a rafe dorsal (RD). Estudio del efecto sobre la frecuencia de descarga piramidal. Estimulación eléctrica del RD y efecto en neuronas piramidales de proyección (histogramas de periestímulo). **Resultados.** La administración de PCP aumenta la actividad del 56% de neuronas piramidales (total de 34 neuronas), disminuye la actividad del 26% y no modifica la actividad en un 18%. En la población de neuronas activadas, este aumento fue de $2,4 \pm 0,5$ Hz a $7,3 \pm 1,1$ Hz ($p < 0,01$) mientras que las reducciones fueron desde $5,8 \pm 1,5$ Hz a $1,7 \pm 0,7$ Hz ($p < 0,01$). La clozapina revirtió el aumento de actividad de las neuronas piramidales inducido por PCP. **Conclusiones.** La inhibición de la actividad piramidal inducida por PCP posiblemente refleja el antagonismo del receptor NMDA en las neuronas piramidales registradas mientras que los efectos excitatorios (mayoritarios) serían consecuencia del bloqueo NMDA en aferencias inhibitorias a las neuronas registradas. La reversión de este efecto por clozapina sugiere una relación con su acción antipsicótica.

P325. LA LIBERACIÓN DE GABA EN EL TEGMENTO PONTINO VENTRAL DEL GATO ESTÁ MODULADA POR LA ACTIVACIÓN PRESINÁPTICA DE RECEPTORES OPIOIDES MU

M.X. ALVIRA BÓTERO ^A, M. GARZÓN GARCÍA ^B

^ADEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y NEUROCIENCIA. FACULTAD DE MEDICINA; UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^BDEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y NEUROCIENCIA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFI2003-00809(MECD), GR/SAL/0188/2004(CAM)

La parte ventral del núcleo reticular oral del puente (vRPO) es un nodo crucial de la red neuronal que desencadena y mantiene el sueño REM, en cuya generación operan llamativamente mecanismos colinérgicos, pero también participan mediadores como los opioides y el GABA. La microestimulación con morfina del vRPO aumenta el sueño REM, mientras que el GABA lo disminuye. Puesto que tanto la morfina como el GABA tienen efectos inhibitorios a nivel celular, sus acciones antagonistas en el sueño podrían deberse a una distribución diferencial de sus sitios de activación. Hemos realizado un estudio inmunohistoquímico ultraestructural de doble marcaje para receptor opioide mu (MOR) y GABA en el vRPO del gato para probar esta hipótesis. La mayoría de los perfiles gabérgicos fueron axones ($n = 250$; 31%) y terminales axónicos ($n = 521$; 47%); de los terminales axónicos gabérgicos, 35% ($n = 184$) también mostraron inmunoreactividad para MOR, que se localizó intracitoplásmicamente (71,5%) y en la membrana plasmática (28,5%). Los terminales gabérgicos, independientemente de su expresión de MOR, forman sinapsis simétricas tanto con dendritas inmunomarcadas con MOR ($n = 181$) como con dendritas no marcadas ($n = 104$). La localización de GABA en dendritas fue considerablemente menor ($n = 248$; 23%) que en perfiles axonales. Nuestros resultados aportan evidencia ultraestructural de que la activación de MOR en perfiles gabérgicos del vRPO ocurre principalmente a nivel presináptico, sugiriendo que la liberación GABA axonal mediada por MOR es un mecanismo fundamental que explica los efectos antagonistas que morfina y GABA producen en el sueño REM al ser aplicados en el vRPO.

P326. REGULACIÓN DE LOS RECEPTORES DE GABA_B EN EL CEREBELO DE RATONES KNOCK-OUT DEL CANAL DE POTASIO GIRK3

R. LUJÁN ^A, C. AGUADO ^B, C. MARKER ^C, K. WICKMAN ^C, J.M. JUIZ ^A

^ADEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS. ^BDEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA. ALBACETE. ^CDEPARTMENT OF PHARMACOLOGY. UNIVERSITY OF MINNESOTA. MINNEAPOLIS, ESTADOS UNIDOS

FINANCIACIÓN: JJCC (SAN-04-008-00)

El ácido gammaaminobutírico (GABA), principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, media la comunicación sináptica lenta a través de receptores asociados a proteínas G, denominados receptores de GABA_B. Esta acción se lleva a cabo tras activación de canales iónicos efectores, entre ellos los canales de potasio rectificadores hacia dentro tipo GIRK, de los que existen cuatro subunidades (GIRK1-4). Las células de Purkinje del cerebelo tienen una alta expresión de receptores de GABA_B y sólo expresan la subunidad GIRK3. En el presente estudio hemos utilizado técnicas inmunohistoquímicas a nivel de microscopía óptica y microscopía electrónica de alta resolución para analizar la distribución subcelular de los receptores de GABA_B en el cerebelo y determinar cómo se modifica dicho patrón en ratones *knockout* de GIRK3. En el cerebelo de ratones GIRK3 silvestres, la inmunoreactividad para

GABA_B se detectó mayoritariamente a nivel postsináptico, asociada con las sinapsis entre las fibras paralelas y las espinas dendríticas de las células de Purkinje, y en menor frecuencia a nivel presináptico en las terminaciones axónicas. Por su parte, en el cerebelo de los ratones knockout de GIRK3, se detectó un aumento significativo en la inmunoreactividad a nivel presináptico, tanto en el número de fibras paralelas marcadas como en la frecuencia de marcaje por cada fibra paralela. Asimismo, se detectó una menor asociación de GABA_B con las sinapsis a nivel postsináptico. Estos datos sugieren una regulación en la localización subcelular de los receptores cuando falta el canal iónico efector que media la respuesta sináptica de GABA_B.

P327. CLONAJE, EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA E-NTPDASA RELACIONADA CON UNA SINAPSIS COLINÉRGICA

M. MARTÍN SATUÉ^A, I. GÓMEZ DE ARANDA^B, A. FELIPE^C, A. ESCALADA^B, J. MARSAL^B, J. BLASI^B, C. SOLSONA^B

^A DEPT. PATOLOGÍA TERAPÉUTICA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE MEDICINA (CAMPUS BELLVITGE), HOSPITAL DE LLOBREGAT (BARCELONA). ^B DEPT. PATOLOGÍA TERAPÉUTICA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE MEDICINA (BELLVITGE), HOSPITAL DE LLOBREGAT (BARCELONA). ^C DEPT. BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE BIOLOGÍA. BARCELONA, ESPAÑA

Tanto el ATP como los productos de su hidrólisis, ADP, AMP y adenosina, desempeñan un importante papel fisiológico. Los niveles de ATP extracelular resultan del balance entre su liberación por parte de las células y su degradación mediante enzimas específicas que actúan extracelularmente como las E-NTPDasas (ectonucleótido trifosfato difosfohidrolasas). Se trata de enzimas ampliamente distribuidos con un destacado papel en procesos normales y patológicos, por lo cual existe un interés creciente en identificar tanto nuevas E-NTPDasas, y variantes de uso terapéutico, como nuevos inhibidores de esta actividad. Uno de los modelos utilizados en nuestros estudios es el órgano eléctrico de los peces Torpedo marmorata, estructura colinérgica responsable de las descargas eléctricas de este género. Se trata de una agrupación de electroplacas polinervadas que corresponden a fibras musculares modificadas, de manera que se despolarizan sin contraerse. Se sabe que la descarga eléctrica siempre va acompañada de una liberación de ATP y también se ha descrito actividad E-NTPDasa en sinaptosomas de órgano eléctrico. Hemos clonado la secuencia completa del cDNA de una E-NTPDasa de órgano eléctrico de Torpedo. Se trata de 1506 pb que codifican para una proteína de 502 aa cuya predicción teórica identifica dos segmentos transmembrana, dos cortas colas citoplasmáticas y un gran bucle extracelular con 5 regiones de actividad apirasa altamente conservadas entre otras especies. En el presente trabajo también mostramos estudios de expresión génica tanto en órgano eléctrico como en otros tejidos de Torpedo así como la caracterización de la proteína recombinante expresada en células de mamífero.

P328. ESTUDIO DE LA ESTIMULACIÓN DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS AMPA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS SOBRE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA Y ACETILCOLINA, Y SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA: EFECTOS DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL

M. DE BLAS, P. GARRIDO, G. SEGOVIA, A. DEL ARCO, F. MORA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos del enriquecimiento ambiental sobre la respuesta de los neurotransmisores dopamina y acetilcolina a la perfusión local del agonista glutamatérgico AMPA en el núcleo accumbens (ACC), y sobre la actividad motora espontánea. Se utilizaron ratas Wistar macho adultas que se mantuvieron durante 3 meses en condiciones control o de enriquecimiento ambiental (10-12 animales en jaulas de 120x100x60 con tuberías, juguetes y ruedas de ejercicio). A los animales se les implantó un sistema de cánulas guía para la inserción de cánulas de microdiálisis en ACC. Seis-siete días tras la cirugía, se realizaron experimentos de microdiálisis en los que se determinó la concentración extracelular de dopamina y acetilcolina mediante HPLC acoplada a detección electroquímica. La actividad locomotora se evaluó en dispositivos de campo abierto y en actímetros acoplados al sistema de microdiálisis. La perfusión de AMPA (100 µM) incrementó la concentración de dopamina (60%) en el ACC de animales controles pero no de animales mantenidos en enriquecimiento ambiental. La perfusión de AMPA no modificó la concentración de acetilcolina en ninguno de los dos grupos experimentales. La perfusión de AMPA en el ACC incrementó la actividad motora espontánea, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos experimentales. Los animales en condiciones de enriquecimiento mostraron menor actividad locomotora (3250 ± 270 cm) que

los animales controles (4562 ± 500 cm) en el campo abierto. Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental modifica la interacción glutamato-dopamina en el ACC y la actividad locomotora espontánea de la rata.

P329. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN PERINATAL DE CAFEÍNA SOBRE LOS RECEPTORES ADENOSINÉRGICOS A1 EN EL CEREBRO DE LA RATA

S. P. GAYTÁN GUÍA^A, F. SAADANI-MAKKI^B, L. BODINEAU^C, A. FRUGIERE^B, R. PÁSARO DIONISIO^A

^A DEPARTAMENTO FISIOLÓGIA Y ZOOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA.

^B LABORATOIRE ENVIRONNEMENT TOXIQUE PÉRINATALE ET ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET COMPORTEMENTALES. UNIVERSITÉ PICARDIE JULES VERNE. AMIENS, FRANCIA. ^C LABORATOIRE ENVIRONNEMENT TOXIQUE PÉRINATALE ET ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET COMPORTEMENTALES. UNIVERSITÉ PICARDIE JULES VERNE. AMIENS, FRANCIA

FINANCIACIÓN: CON LA AYUDA DEL M.C.Y.T. D.G.I. BFI2002-02055

La cafeína (una metilxantina) se utiliza como terapia en el tratamiento de la apnea del neonato; ya que su administración regulariza el ritmo respiratorio. El objetivo del presente trabajo ha sido determinar el efecto de la exposición perinatal a cafeína, en la rata, sobre la expresión de los receptores adenosinérgicos A1, como mecanismo subyacente al efecto observado en clínica. Para ello, tras el nacimiento, las crías se alimentaron durante los días postnatales 2 a 6, divididas en dos grupos, uno con dosis terapéuticas de cafeína disuelta en glucosa (vehículo) y otro sólo con vehículo (0,05 mL/10 g de peso corporal). La manipulación de los animales se llevó a cabo según la normativa europea (Real Decreto 223/1998, de 24-11-1986). Los animales se sacrificaron desde el día postnatal P2 hasta P21. Para la detección inmunohistoquímica de los receptores A1 se emplearon los anticuerpos siguientes: primario (policlonal de cabra, Santa-Cruz B 1/500) y secundario (policlonal de burro anticabra conjugado con fluoresceína, Santa-Cruz B 1/500). Al final del tratamiento (P6) se incrementó el número de receptores adenosinérgicos A1 en los animales tratados con cafeína, en el núcleo paraquial medial y bulbo ventrolateral, áreas conocidas por su implicación en el control y modulación de la función respiratoria. Este hecho podría estar relacionado con la mejora de las condiciones respiratorias de los neonatos tratados con cafeína.

P330. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LOS RECEPTORES D1 DOPAMINÉRGICOS EN LA CORTEZA PREFRONTAL: EFECTOS DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL Y LA RESTRICCIÓN CALÓRICA

A. DEL ARCO, G. SEGOVIA, P. GARRIDO, M. DE BLAS, F. MORA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo de este estudio fue investigar si el enriquecimiento ambiental y la restricción calórica modifican los efectos de la estimulación local de receptores dopaminérgicos D1 en la corteza prefrontal (CP) sobre la liberación de acetilcolina, glutamato y GABA, y sobre la actividad motora espontánea. Se utilizaron ratas Wistar macho adultas que se mantuvieron durante 3 meses en condiciones control, de enriquecimiento ambiental (10-12 animales en jaulas de 120x100x60 con tuberías, juguetes y ruedas de ejercicio) o de restricción calórica (40%). A los animales se les implantó un sistema de cánulas guía para la inserción de cánulas de microdiálisis en la CP. Seis-siete días tras la cirugía, se realizaron experimentos de microdiálisis en los que se determinó la concentración de acetilcolina, glutamato y GABA mediante HPLC acoplada a detección electroquímica y fluorométrica. La actividad locomotora se evaluó en actímetros acoplados al sistema de microdiálisis. La perfusión del agonista D1 SKF 38393 (50 µM) en la CP incrementó las concentraciones extracelulares de acetilcolina, pero no de glutamato y GABA, y la actividad motora espontánea en los tres grupos estudiados. Los incrementos de acetilcolina y de actividad motora fueron significativamente menores en el grupo de ratas mantenidas en enriquecimiento ambiental comparado con el grupo control y en restricción calórica. Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental produce cambios en la función de los receptores D1 en la CP. Este trabajo forma parte de un estudio que pretende investigar el efecto de estas intervenciones a lo largo del proceso de envejecimiento de la rata.

P331. EFECTOS DEL ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL Y LA RESTRICCIÓN CALÓRICA SOBRE LA LIBERACIÓN ESTIMULADA DE NEUROTRANSMISORES Y LOS NIVELES DE BDNF EN LA CORTEZA PREFRONTAL Y EL NÚCLEO ACCUMBENS

G. SEGOVIA, A. DEL ARCO, M. DE BLAS, P. GARRIDO, F. MORA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos del enriquecimiento ambiental y la restricción calórica sobre la liberación estimulada por K^+ de dopamina, acetilcolina y GABA, y sobre los niveles de BDNF, en el núcleo *accumbens* (ACC) y la corteza prefrontal (CP) de la rata. Se utilizaron ratas Wistar macho adultas que se mantuvieron durante 3 meses en condiciones control, de enriquecimiento ambiental (10-12 animales en jaulas de 120x100x60 con tuberías, juguetes y ruedas de ejercicio) o de restricción calórica (40%). A un grupo de animales se les implantó un sistema de cánulas guía para la inserción de cánulas de microdiálisis en ACC y CP. Seis-siete días tras la cirugía, se realizaron experimentos de microdiálisis en los que se determinó la concentración de dopamina, acetilcolina y GABA mediante HPLC acoplada a detección electroquímica y fluorométrica. Un segundo grupo de animales se utilizó para el análisis de la concentración de BDNF mediante ELISA en muestras de tejido de ACC, CP e hipocampo. El enriquecimiento ambiental, pero no la restricción calórica, modificó los incrementos de dopamina y acetilcolina inducidos por la perfusión de K^+ (100 mM) en ACC y CP. Las concentraciones de BDNF en hipocampo, pero no en ACC y CP, fueron mayores en animales mantenidos en condiciones de enriquecimiento ambiental y restricción calórica. Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental produce cambios neuroquímicos en ACC y CP. Este trabajo forma parte de un estudio que pretende investigar el efecto de estas intervenciones a lo largo del proceso de envejecimiento.

P332. EFECTOS NEUROTÓXICOS DEL 3,4-METILENDIOXIMETANFETAMINA (MDMA, 'ÉXTASIS') SOBRE LA PROYECCIÓN DE LAS FIBRAS SEROTONÉRGICAS EN EL SISTEMA LÍMBICO DE LA RATA

J. MARTÍNEZ-RUIZ^A, M. HERNÁNDEZ-SANSALVADOR^B, M.D.M. ARROYO-JIMÉNEZ^A, E. ARTACHO-PÉREZ^A, P. MARCOS^B, A. MARTÍNEZ-MARCOS^A, J. DEL RÍO^C, R. INSAUSTI^A

^A LABORATORIO DE NEUROANATOMÍA HUMANA. ^B LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA. ^C FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. ALBACETE, ESPAÑA

La administración de MDMA produce daños a corto y medio plazo sobre el sistema serotoninérgico en diferentes regiones del cerebro. Utilizando dos cepas de ratas, Wistar (W) y Dark Agouti (DA), mostramos el grado de denervación serotoninérgica que se produce a la semana y al mes tras la administración de MDMA. La dosis empleada fue de 15 mg/kg (3 dosis cada dos horas por vía intraperitoneal). Las series experimentales se dividieron en tres grupos: controles (W, $n = 7$; DA, $n = 9$), inyectadas con MDMA y con una supervivencia de una semana (W, $n = 5$; DA, $n = 11$), e inyectadas y supervivencia de un mes (W, $n = 5$; DA, $n = 13$). Tras fijación por perfusión, se prepararon series de 50 μ M de forma que las secciones se procesaran para evaluación citoarquitectónica (técnica de Nissl) e inmunocitoquímica (anticuerpo frente a serotonina). En ambos grupos control la distribución inmunocitoquímica es amplia y difusa en todas las regiones. En animales tratados con MDMA, se refleja una marcada reducción en la densidad de los axones serotoninérgicos en hipocampo y también en neocórtex, amígdala y *accumbens*. La disminución del patrón inmunocitoquímico es cualitativamente visible en todas las regiones estudiadas tras una semana de administración. Al mes la disminución del patrón de inmunorreacción afecta en particular al *stratum radiatum* y la capa polimórfica del giro dentado en el hipocampo de ratas W. Nuestro modelo muestra no sólo el efecto que el MDMA tiene sobre las proyecciones serotoninérgicas en áreas límbicas sino también que existen cepas como la Wistar más sensibles al tratamiento.

P333. DISTRIBUCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN LA AMÍGDALA MEDIAL DE LA RATA Y VARIACIONES DEPENDIENTES DEL CICLO HORMONAL

B. CARRILLO URBANO^A, H. PINOS^B, G.C. PANZICA^C, A. GUILLAMÓN^B, P. COLLADO^B

^A PSICOBIOLOGÍA. FACULTAD DE PSICOLOGÍA. UNED. MADRID. ^B PSICOBIOLOGÍA. UNED. MADRID. ^C ANATOMÍA, FARMACOLOGÍA Y MEDICINA LEGAL. UNIVERSIDAD DE TURÍN. TURÍN, ITALIA

Introducción. El óxido nítrico (ON) es un nuevo neurotransmisor capaz de atravesar con gran versatilidad las membranas celulares. El ON es importante para el desarrollo y mantenimiento de conductas reproductoras y, su expresión, parece estar regulada por el estradiol. La participación de la amígdala medial (AM) en la expresión de estas

conductas y la presencia de ON en la AM, nos ha conducido a estudiar la posible interacción entre los niveles de estradiol y la distribución de este neurotransmisor en esta estructura. **Objetivo.** Estudio de la distribución del ON en las cuatro subdivisiones de la AM (anteroventral/anterodorsal/posteroventral/posterodorsal), así como la posible influencia del estradiol en la actividad nitrérgica en la subdivisión que presenta mayor actividad de este neurotransmisor, la AM-anterioventral. **Material y métodos.** Se emplearon tres grupos experimentales con 6 sujetos cada uno (machos, hembras en estro y hembras en diestro). Para detectar la presencia de actividad nitrérgica en el cerebro, se realizó un estudio histoquímico para la NADHP-diaforasa e inmunohistoquímico para la óxido nítrico sintetasa. **Resultados.** Los datos indicaron una distribución de ON diferente en las cuatro subdivisiones de la AM, las zonas ventrales con mayor presencia de ON. Se distinguió la presencia de dos subpoblaciones de células nitrérgicas en función de su intensidad de marcaje. La más intensamente teñida incrementó en la AM-anterioventral de la hembra en estro. **Conclusión.** Posible modulación del estradiol sobre la actividad del ON y posible implicación del sistema nitrérgico en las conductas reproductoras que controla la AM-anterioventral.

P334. CORTEZA PREFRONTAL, ESTRÉS Y ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL: ESTUDIOS SOBRE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA, ACETILCOLINA Y MEMORIA DE TRABAJO

P. GARRIDO, M. DE BLAS, A. DEL ARCO, G. SEGOVIA, F. MORA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo del presente estudio fue investigar si el enriquecimiento ambiental modifica el efecto del estrés moderado sobre la liberación de los neurotransmisores dopamina, acetilcolina, glutamato y GABA en la corteza prefrontal (CP), y sobre la memoria de trabajo. Se utilizaron ratas Wistar macho adultas que se mantuvieron durante 3 meses en condiciones control o de enriquecimiento ambiental (10-12 animales en jaulas de 120x100x60 con tuberías, juguetes y ruedas de ejercicio). La memoria de trabajo se evaluó por medio de un test de alternancia en el laberinto en forma de T. A los animales se les implantó un sistema de cánulas guía para la inserción de cánulas de microdiálisis en la CP. Seis-siete días tras la cirugía, se realizaron experimentos de microdiálisis en los que se determinó la concentración de dopamina, acetilcolina, glutamato y GABA mediante HPLC acoplada a detección electroquímica y fluorométrica. El estrés moderado (10 min en campo abierto) redujo la tasa de aciertos en el laberinto en forma de T, pero esta disminución no fue diferente entre ratas en ambiente enriquecido y controles. El estrés (40 min restricción moderada del movimiento) incrementó significativamente las concentraciones de dopamina y acetilcolina en la CP de los dos grupos estudiados. Los incrementos de acetilcolina, aunque no los de dopamina, producidos por estrés fueron significativamente menores en las ratas de ambiente enriquecido (20%) comparado con las ratas controles (45%). Estos resultados sugieren que el enriquecimiento ambiental produce cambios en el sistema acetilcolinérgico en la CP en respuesta al estrés.

P335. MODULACIÓN DE LOS RECEPTORES SIGMA1 DE CEREBRO DE COBAYA POR EL TRATAMIENTO CRÓNICO CON COCAÍNA

E. J. COBOS DEL MORAL^A, F. NIETOLÓPEZ^B, J.M. BAEYENS CABRERA^C, M.E. DEL POZO GAVILÁN^C

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA. ^C INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS Y DPTO FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA.

^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA, ESPAÑA

Los receptores sigma 1 han sido descritos en fracción sinaptosomal de cerebro de cobaya [1]. Cocaína presenta afinidad por receptores sigma 1 cerebrales. Los objetivos de este trabajo han sido: caracterizar la fijación específica de [3H](+)-pentazocina (ligando específico sigma 1) en fracción nuclear, sinaptosomal y microsomal de cerebro de cobaya, y estudiar si el tratamiento crónico con cocaína afecta dicha fijación. Se han utilizado cobayas machos tratados con cocaína (15 mg/kg/12 horas, i.p.) durante 21 días (grupos a/b) o con su solvente (grupo c). Se extrajo el

Tabla P335. Experimentos de saturación en fracción P2

	K_D (nM)	B_{max} (pmol/mg proteína)
Control(c)	5,87 $\pm$ 0,61	1,48 $\pm$ 0,05
Cocaína(a)	3,84 $\pm$ 0,08	2,33 $\pm$ 0,01
Cocaína(b)	4,44 $\pm$ 0,27	2,08 $\pm$ 0,03

$p < 0,01$ respecto a (c)

CANALES IÓNICOS

cerebro y se aislaron las fracciones 12 h (grupo a) y 60 h (grupo b) después de la última inyección de cocaína. Los estudios de fijación con [3H](+)-pentazocina se realizaron según el protocolo descrito [1]. En ensayos de saturación con animales controles se observó una única población de receptores sigma 1 en todas las fracciones. El tratamiento con cocaína produjo un incremento del número de receptores sigma 1 en fracción sinaptosomal. [1] Cobos et al, Synapse 2005.

P336. EL DOBLE PAPEL DE LA PROTEÍNA RIC-3 EN EL TRANSPORTE DE RECEPTORES NICOTÍNICOS Y SEROTONINÉRGICOS

M. CASTILLO PATERNA, J. MULET, L.M. GUTIÉRREZ, J.A. ORTIZ, F. CASTELAN, S. GERBER, S. SALA, M. CRIADO

NEUROBIOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

El gen RIC-3 es necesario para la maduración de los receptores nicotínicos de acetilcolina en *Caenorhabditis elegans*. Su homólogo humano RIC-3 (hRIC-3) incrementa la expresión de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) del subtipo alfa7 en oocitos de *Xenopus laevis*, mientras que inhibe por completo la expresión de receptores nicotínicos tipo alfa4beta2 y homoméricos de serotonina 5HT3. Tanto la región N-terminal de la proteína hRIC-3, que contiene dos segmentos transmembrana, como la región C-terminal son necesarias para que se lleven a cabo estos efectos diferenciales. La inhibición de la expresión de los receptores por hRIC-3 se produce impidiendo el transporte de receptores maduros a la membrana. Mediante la utilización de diferentes quimeras constituidas por el extremo N-terminal de la subunidad alfa7 y el C-terminal del receptor de serotonina 5HT3, se determinó que la presencia de una isoleucina extracelular cercana al primer segmento transmembrana del receptor es la responsable de la inhibición del transporte inducido por hRIC-3. El incremento en la expresión de los receptores tipo alfa7 se produce al menos en dos niveles: por un lado se produce un aumento en el número de receptores maduros y por otro lado se facilita su transporte hacia la membrana. En ambos procesos, se ha visto que están implicados ciertos aminoácidos de la hélice anfipática presente en el lazo citoplásmico de la subunidad alfa7.

P337. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DEL SISTEMA COLINÉRGICO TELENCEFÁLICO BASAL EN LOS ANFIBIOS ANUROS

A. GONZÁLEZ^A, C. SÁNCHEZ-CAMACHO^B, J. M. LÓPEZ^C, N. MORENO^C, R. MORONA^C, L. DOMÍNGUEZ^C

^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE BIOLOGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID. ^B INSTITUTO CAJAL. CSIC. MADRID. ^C DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE BIOLOGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

La organización del sistema colinérgico en el telencefalo basal (BFCS) de los anuros se ha estudiado mediante inmunohistoquímica para la enzima colina acetiltransferasa (ChAT). El BFCS se reveló como un complejo formado por neuronas que se extienden en la banda diagonal, el núcleo medial del septo, el núcleo lecho de la estría terminal y regiones del pálido. También se marcaron abundante fibras alrededor de los somas neuronales. La combinación de técnicas de transporte retrógrado con dextranaminas e inmunodetección de ChAT reveló conexiones colinérgicas intraseptales e intra-BFCS. Además se demostró la existencia de una proyección colinérgica extraseptal al BFCS con origen en el núcleo tegmental laterodorsal en el istmo. La posible influencia de aferencias monoaminérgicas en el BFCS se examinó combinando inmunohistoquímica para ChAT y tirosina hidroxilasa y serotonina. Los resultados demostraron que abundantes fibras catecolaminérgicas innervaban el BFCS, con la excepción del núcleo medial del septo. La innervación serotoninérgica en el BFCS se observó muy extendida, aunque con menor intensidad en el extremo caudal. Considerando de forma conjunta todos los datos sobre la localización de las neuronas colinérgicas en el telencefalo basal y sus relaciones con aferencias colinérgicas, catecolaminérgicas y serotoninérgicas se ha demostrado que el complejo BFCS de los anuros comparte muchas características con los amniotas y, en particular, con los mamíferos.

P338. DISTINTOS MECANISMOS IMPLICADOS EN LA SENSIBILIDAD AL FRÍO EN NEURONAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y PERIFÉRICO

E. DE LA PEÑA GARCÍA^A, A. MÄLKÄ^B, H. CABEDO^B, R. GALLEGO FERNÁNDEZ^B, C. BELMONTE MARTINEZ^B, F. VIANA DE LA IGLESIA^B

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. ALICANTE. ^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ. ALICANTE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2001-1641 (FV), MCYT BF12002-03788 (CB) Y GV04A-652 (EP)

El principal candidato molecular como sensor del frío inocuo en neuronas sensoriales es el canal catiónico inespecífico TRPM8, activado por el mentol y por descensos de temperatura. Hemos estudiado y comparado la termosensibilidad del canal TRPM8 en un contexto neuronal artificial y en neuronas sensoriales que lo expresan de forma endógena. TRPM8 se expresó, subclonado en un vector bicistónico con GFP, transitoriamente en neuronas de hipocampo, un tejido carente de TRPM8 y TRPA1, los 2 canales TRP sensibles a bajas temperaturas. La actividad celular se monitorizó utilizando medidas de calcio intracelular y registros electrofisiológicos en la modalidad de patch-clamp. En presencia de bloqueantes sinápticos, todas las neuronas transfectadas con TRPM8 respondieron al estímulo de frío con un umbral promedio de 23 ± 1 °C ($n = 20$). Dicha respuesta se potenció con el mentol. En comparación, las neuronas sensoriales del trigémino mostraron una mayor sensibilidad al frío, con un umbral promedio de temperatura más bajo, 29 ± 1 °C ($n = 31$) aunque la corriente de mentol fue significativamente menor que en las neuronas transfectadas. Estos resultados sugieren una modulación endógena de la actividad de TRPM8 en neuronas sensoriales. Asimismo, hemos encontrado que la excitabilidad de la red, en cultivos de hipocampo control (sin transfectar), aumenta de manera significativa en respuesta a pequeños ($2-3$ °C) descensos de temperatura. Esta actividad, dependiente de interacciones sinápticas, no se afecta por el mentol y parece estar mediada por mecanismos independientes de TRPM8.

P339. EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS DE DENSIDAD Y FUNCIONALIDAD DE LOS RECEPTORES NICOTÍNICOS HIPOCAMPALES EN RATAS CONSUMIDORAS CRÓNICAS DE ETANOL

N. ROBLES^A, L. TEXIDÓ^B, C. SOLSONA^B, J. SABRIÀ^A

^A INSTITUT DE NEUROCIÈNCIES I DEPT. DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR. UAB. BARCELONA. ^B LAB DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR I MOLECULAR, DEPT. DE PATOLOGIA I TERAPÈUTICA EXPERIMENTAL. UB. BARCELONA, ESPAÑA

Estudios *in vitro* revelan que los receptores nicotínicos pueden ser regulados por la exposición al etanol, induciendo cambios en diversos parámetros. El presente estudio pretende evaluar si el consumo crónico de etanol afecta a la densidad y funcionalidad de los receptores nicotínicos del hipocampo en ratas. 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. Después de 17 semanas de consumo fueron sacrificadas, los hipocampos extraídos y se obtuvieron membranas a partir de ellos. Una parte de estas membranas fueron utilizadas para hacer ensayos de *binding* con diferentes radioligandos para estudiar posibles cambios de densidad. Otra parte fue inyectada en oocitos de *Xenopus laevis* para evaluar su respuesta electrofisiológica. Los resultados muestran que el etanol indujo cambios significativos en la densidad de los receptores nicotínicos alfa4beta2 y alfa7. Estos cambios no se tradujeron en alteraciones funcionales, dado que no se observaron cambios significativos en las corrientes inducidas por nicotina en los oocitos de *Xenopus laevis* inyectados con membranas de hipocampo de ratas consumidoras de etanol.

P340. LIBERACIÓN DE ATP A TRAVÉS DE LOS HEMICANALES DE CONEXINA 32 Y SU REGULACIÓN POR LA SINTAXINA 1A

E. GRANDES VILA CLARA^A, L. BAHIMA BORRÁS^B, J. MARSAL TEBÉ^B, J. BLASI CABÚS^B, C. SOLSONA SANCHO^B

^A DEPARTAMENT DE PATOLOGIA I TERAPÈUTICA EXPERIMENTAL. LABORATORI DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR I MOLECULAR. ^B DEPARTAMENT DE PATOLOGIA I TERAPÈUTICA EXPERIMENTAL. LABORATORI DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR I MOLECULAR. UNIVERSITAT DE BARCELONA. FACULTAT DE MEDICINA. CAMPUS BELLVITGE. L'HOSPITALET DE LLOBREGAT, BARCELONA, ESPAÑA

Las conexinas son las subunidades proteicas formadoras de uniones tipo gap. La unión de seis conexinas forma un hemicanal que atraviesa la membrana celular. La unión de dos hemicanales de dos células adyacentes forma el canal intercelular. Existen varias isoformas de conexinas repartidas en diferentes tejidos. En particular

se han asociado mutaciones de la conexina 32 (Cx32) a una neuropatía periférica, la enfermedad de Charcot-Marie Tooth, en su forma ligada al cromosoma X. Utilizando oocitos de *Xenopus laevis* como modelo se realizaron experimentos expresando la Cx32 y se estimularon los hemicanales aplicando un pulso despolarizante. Las corrientes generadas se midieron utilizando el método Two-Electrode Voltage Clamp, y la liberación de ATP se detectó mediante la reacción bioluminiscente de la luciferina-luciferasa. A continuación se estudió el posible papel modulador de la Syntaxina 1A sobre los hemicanales de Cx32 expresando ambas proteínas en los oocitos de *Xenopus*. La coinyección de la Cx32 y la syntaxina 1A produjo una inhibición de un 15% en las corrientes generadas, y de un 45% en el ATP liberado por los oocitos, respecto a aquellos que expresaban únicamente la Cx32. Dichos resultados demuestran que los hemicanales formados por Cx32 permiten la salida de ATP cuando estos son estimulados por un cambio de voltaje despolarizante, y que la syntaxina 1A tiene un efecto inhibitorio sobre la actividad y la liberación de ATP por parte de los hemicanales de Cx32.

P341. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE UN MODELO TRANSGÉNICO DE RATÓN CON SOBREEXPRESIÓN DE LAS SUBUNIDADES BETA-4, ALFA-3 Y ALFA-5 DE RECEPTORES NICOTÍNICOS

X. GALLEGU MORENO, L. ARMENGOL, M. DIERSSEN
CENTRO DE REGULACIÓN GENÓMICA, BARCELONA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: FUNDACIÓN LAMARATÓ DE TV3

Los receptores nicotínicos (nAChRs), son miembros de una superfamilia de receptores ionotrópicos. Se cree que los nAChRs son (hetero) pentámeros compuestos de subunidades homólogas. Los receptores nicotínicos se han relacionado con respuestas de ansiedad, principalmente aquellos que contienen la subunidad beta-4. La subunidad beta-4 se encuentra en un cluster genómico, junto a otras dos subunidades: la alfa-3 y la alfa-5, localizadas en la región 15q24 del cromosoma 15 humano. Estudios previos en humanos sugieren que duplicaciones en esta región cromosómica podrían estar relacionadas con la etiopatogenia del trastorno de pánico. Con el fin de explorar el efecto de la sobreexpresión de estas subunidades sobre ansiedad y reacción de pánico, se ha generado un modelo transgénico de ratón, mediante microinyección de oocitos fertilizados de ratones B6SJL utilizando una construcción obtenido mediante digestión del BAC RP11-335K5 (AC067863). La expresión del transgén fue determinada mediante RT-PCR y el patrón de distribución de las subunidades Chrb4, Chra3 y Chra5 fue analizado por inmunohistoquímica. Los ratones transgénicos resultaron ser viables y no mostraron ninguna alteración en fertilidad, mortalidad perinatal ni en parámetros somatométricos. La caracterización fenotípica se realizó mediante una batería de pruebas conductuales, incluyendo pruebas sensorimotoras y neurológicas, cuyos parámetros no mostraron diferencias significativas. El análisis de otras pruebas como son las relacionadas con comportamientos ansiosos, tales como Open Field, Plus-Maze y Fear Conditioning están todavía realizándose.

P342. MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL CANAL IÓNICO TRPM8 POR RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

V.M. MESEGUER VIGUERAS^A, A. GOMIS^A, C. BELMONTE^A, D. BAYLLIS^B, F. VIANA^A

^ANEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. SAN JUAN DE ALICANTE.

^BNEUROFISIOLOGÍA. UNIVERSITY OF VIRGINIA HEALTH SYSTEM. CHARLOTTESVILLE, VIRGINIA, ESTADOS UNIDOS

FINANCIACIÓN: SAF 2001-1641 (FV) Y BFI 2002-03788 (CB)

La percepción de los estímulos térmicos está mediada por la activación de una variedad de canales de membrana sensibles a temperatura localizados en terminales sensoriales. El frío y compuestos refrescantes como el mentol activan en dichas neuronas sensoriales una corriente catiónica no selectiva mediada por la apertura de TRPM8, un miembro de la familia de canales TRP (*transient receptor potential*). La posible modulación de la actividad de TRPM8 por cascadas de señalización intracelulares es un proceso escasamente conocido. A tal fin, utilizamos células HEK293 co-transfectadas con TRPM8 y el receptor de la hormona liberadora de tirotropina (TRHr), un receptor heterotrimérico acoplado a proteínas Gq/G11. Mediante la técnica electrofisiológica de *patch clamp* en modalidad de registro de célula entera, estudiamos el efecto de una breve aplicación de TRH sobre la corriente inducida por 100 μ M de mentol a 30 °C. Observamos un decaimiento rápido ($\tau = 41 \pm 5$ s) y pronunciado ($85 \pm 3,4\%$) de la corriente inducida por mentol. Asimismo, con técnicas de microscopia confocal dinámica observamos la translocación de la PLC δ -PH-GFP desde la membrana hacia el citoplasma durante la misma aplicación de TRH. Este resultado es consistente con la idea de que la activación de la PLC mediada por la activación de Gq/G11 produce una disminución de los niveles de

fosfatidilinositol 4,5 bífosfato (PIP2) en la membrana que a su vez conduce a la reducción de la actividad de TRPM8.

P343. ESTUDIO FLUORIMÉTRICO DE TRPM8: UN CANAL IÓNICO ACTIVADO POR EL FRÍO Y EL MENTOL

A. MÁLKÍÁ^A, D. MUÑOZ^A, M. GÓMEZ-LÁZARO^B, C. BELMONTE^A, F. VIANA^A

^AUNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ - CSIC. SAN JUAN DE ALICANTE. ^BCIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA

Las sensaciones del frío se originan por la activación de una pequeña subpoblación de neuronas sensoriales (NS) cutáneas. Recientemente, varios canales con una pronunciada sensibilidad a los cambios de temperatura han sido clonados. TRPM8, un canal TRP (*transient receptor potential*) activado por el frío y el mentol se localiza en NS y su expresión heteróloga confiere una nueva sensibilidad a dichos estímulos. Los objetivos de este estudio fueron la caracterización de las respuestas de TRPM8 a distintos niveles de frío y mentol, y la investigación de los efectos de bloqueantes de canales catiónicos no-selectivos sobre su función. Para este fin, células HEK293 fueron transfectadas con TRPM8 cDNA de rata en un vector bicistónico IRES-GFP. La actividad de TRPM8 se monitorizó mediante medidas fluorimétricas (fura-2) del calcio intracelular. Estímulos de enfriamiento produjeron un aumento en el nivel del calcio intracelular, con un umbral promedio de $26,50,3^{\circ}\text{C}$ ($n=82$). La aplicación de mentol tuvo un efecto sensibilizante sobre este comportamiento, desplazando el umbral aproximadamente 11°C a temperaturas más elevadas ($n=27$). Las respuestas a aplicaciones prolongadas (450 s) o sucesivas de mentol mostraron una desensibilización más pronunciada que las producidas por idénticos estímulos de frío. De los bloqueantes investigados, BCTC fue el más potente: su valor $\text{IC}_{50} = 0,6 \mu\text{M}$ claramente más bajo que los de SK&F96365 ($\text{IC}_{50} = 2,8 \mu\text{M}$) y econazole ($10,7 \mu\text{M}$).

P344. EFECTO DEL VALPROATO SÓDICO EN LA CONDUCCIÓN NERVIOSA EN MODELO DE NEUROPATÍA INFLAMATORIA

M. ALTABLE PEREZ^A, I. ALONSO COLMENERO^B, I. CASAFONT PARRA^C, M. T. BERCIANO BLANCO^C, M. A. LAFARGA COSCOJUELA^C

^ANEUROLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA. SANTANDER.

^BNEUROFISIOLOGÍA CLÍNICA. HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA. SANTANDER. ^CDEP. ANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE MEDICINA (UNIVERSIDAD DE CANTABRIA). SANTANDER, ESPAÑA

Objetivos. Determinar el posible efecto beneficioso del ácido valproico (VPA) sobre la conducción del nervio trigémino, durante la fase aguda de la respuesta inflamatoria. **Material y métodos.** Se emplearon ratas Sprague-Dawley, en las que previamente se había inducido una neuropatía inflamatoria mediante la inyección subcutánea de formalina en el territorio distal V2 de nervio trigémino izquierdo. Los estudios se llevaron a cabo mediante la estimulación a nivel de vibras y el registro intracraneal sobre el ganglio trigémino ipsilateral. Se obtuvieron registros neurofisiológicos en el período comprendido entre los días 1 y 5 tras la inyección, antes y después de la administración de VPA endovenoso. **Resultados.** Los datos obtenidos revelaron una marcada afectación de los valores de conducción nerviosa (velocidad de conducción y amplitud del potencial), que en los primeros días fueron compatibles con la existencia de un bloqueo de la neurotransmisión, recuperándose rápidamente tras la administración de VPA, y a su vez, revertiendo a las condiciones patológicas previas transcurridos entre 30 y 60 minutos. **Conclusiones.** Estos datos demuestran el efecto del ácido valproico no sólo a nivel central (uso terapéutico actual), sino además en el nervio periférico. Según este modelo, dicho medicamento podría tener un efecto beneficioso durante la fase aguda de las neuropatías de tipo inflamatorio.

P345. HETEROLOGOUS FUNCTIONAL EXPRESSION OF KV1.3/KV1.5 HETEROTETRAMERS IN HEK-293 AND XENOPUS OOCYTESA. ESCALADA MASSANÉS^A, R. VICENTE^B, N. VILALLONGA^B, L. TEIXIDÓ^C, M. ROURA^B, M. MARTÍN-SATUÉ^C, C. SOLER^D, M. M. TAMKUN^E, A. FELIPE^B, C. SOLONA^C^A DEPARTAMENT DE PATOLOGIA I TERAPÈUTICA EXPERIMENTAL, LABORATORI DE NEUROBIOLOGIA CEL·LULAR I MOLECULAR. ^C PATOLOGIA I TERAPÈUTICA EXPERIMENTAL. ^D DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA, UNIVERSITAT DE BARCELONA. FACULTAT DE MEDICINA, CAMPUS BELLVITGE, HOSPITAL DELLOBREGAT. ^B MOLECULAR PHYSIOLOGY LABORATORY, DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR, UNIVERSITAT DE BARCELONA, BARCELONA. ^E DEPARTMENTS OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, COLORADO STATE UNIVERSITY, FORT COLLINS, ESTADOS UNIDOS

The proliferation of microglia is a normal process in CNS development and in the defense against pathological insults, although, paradoxically, it contributes to several brain diseases. As a crucial cellular function, cell proliferation is very strictly controlled by several independent mechanisms. Evidence has accumulated pointing to K⁺ channels as relevant players in the control of this process. Shaker subunits (Kv1) form homo and heterotetrameric complexes, leading to biophysically and pharmacologically distinct channels. Kv1.3 and Kv1.5 subunits have been described in hippocampal microglia. Co-expression of Kv1.3 and Kv1.5 in HEK-293 cells showed that the presence of Kv1.5 leads to a positive shift in K⁺ current half-activation voltages. Similarly to Kv1.3, Kv1.3/Kv1.5 heteromers are sensitive to r-Margatoxin in HEK-293 cells. Electrophysiological and pharmacological studies of different ratios of Kv1.3 and Kv1.5 co-expressed in *Xenopus oocytes* demonstrate that different Kv1.3/Kv1.5 hybrids might be responsible for different K⁺ currents. Our results demonstrate that Kv1.5 co-associates with Kv1.3, generating functional heterotetramers. In response to different physiological stimuli, changes in the oligomeric composition of functional Kv channels could give rise to different biophysical properties, which would lead to the precise immune response.

P346. PROPIEDADES Y FUNCIONES DE LA CORRIENTE DE SODIO PERSISTENTE DE LAS NEURONAS DEL GANGLIO CERVICAL SUPERIOR DE RATA Y RATÓN EN CULTIVOM. ROMERO ROCHA^A, A. REBORDA PRIETO^B, E. SÁNCHEZ FERNÁNDEZ^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

Las neuronas del ganglio cervical superior (GCS) constituyen un modelo clásico para estudiar la adaptación. Sin embargo, cuando el pulso despolarizante es de larga duración, algunas de ellas vuelven a disparar después de la adaptación inicial. Esto viene acompañado de oscilaciones subumbrales. Las oscilaciones subumbrales se han atribuido en otros tipos celulares a la presencia de una corriente de sodio persistente (INaP). Con el uso de la técnica de patch-perforado descubrimos la presencia e investigamos las propiedades y la función de la INaP en las neuronas del GCS de ratón y rata en cultivo. En experimentos de fijación de voltaje, usando un salto de voltaje, se observa una corriente de entrada persistente (INaP) que es bloqueada por TTX 0,5 µM, presenta un umbral de activación de -60 mV, un voltaje de activación medio (V1/2) de -41,23 ± 0,70 mV y un máximo de corriente a -20 mV (-38,61 ± 6,48 pA, n = 7). Las propiedades de esta corriente son muy similares en neuronas de rata y ratón. Esta corriente también es observada en respuesta a una rampa de voltaje (-70 a 20 mV; 10 mV/s). En ratón, el valproato inhibe selectivamente esta corriente (IC50 = 3,8 ± 0,28 µM, n = 7). En experimentos de fijación de corriente, el valproato hiperpolariza ligeramente el potencial de membrana y reduce la excitabilidad. Estos resultados muestran la presencia de una INaP similar a la descrita en otros tipos neuronales, que participa en el mantenimiento del potencial de reposo y la excitabilidad de las neuronas del GCS de ratón. Su papel en las oscilaciones subumbrales debe ser determinado.

P347. EL CANAL DE POTASIO KCNQ5 EN NEURONAS AUDITIVAS DEL TRONCO DEL ENCÉFALOE. CAMINOS^A, J. R. MARTÍNEZ GALÁN^B, C. VALE^C, E. GARCÍA-PINO^D, J. M. JUIZ GÓMEZ^D^A ÁREA DE HISTOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA/CRIB, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LAMANCHA, ALBACETE. ^B ÁREA DE HISTOLOGÍA. ^D ÁREA DE HISTOLOGÍA, UCLM, ALBACETE. ^C DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA, LUGO, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT (BFI2003-09147-C02-02), CONSEJERÍA CIENCIA Y TECNOLOGÍA (PAI-03-015) Y CONSEJERÍA SANIDAD (GC-04-006) JCCM

KCNQ5 forma canales de potasio activados por despolarización, no inactivables. Las corrientes M resultantes regulan la respuesta a entradas sinápticas y limitan la frecuencia de disparo. Pero el papel de KCNQ5 en la excitabilidad depende de su localización y distribución en poblaciones neuronales, patrones prácticamente desconocidos. Nuestro objetivo es determinar tales patrones en núcleos auditivos puesto que la extrema rapidez del procesamiento neuronal puede requerir regulación derivada de la distribución específica de KCNQ5 junto a otros miembros de su familia. Se realizó inmunocitoquímica de peroxidasa con anti-KCNQ5 (A. Villarroel) sobre secciones de cerebro de rata adulta; y doble marcaje inmunofluorescente con anti-KCNQ5 y antisinaptofisina. En otra serie de animales se eliminaron las aferencias del nervio auditivo a los núcleos cocleares por ablación de la cóclea y, tras 10 días, se valoró la presencia de KCNQ5 en este núcleo. La inmunorreactividad para KCNQ5 es muy intensa y abundante en los núcleos cocleares, complejo olivar superior y núcleo ventral del lemnisco lateral, y más débil en el cóculo inferior. Su colocalización con sinaptofisina y la disminución de la inmunorreactividad en el núcleo coclear anteroventral después de la desaferentación, apoyan la presencia presináptica de KCNQ5. Ello predice un papel regulador de la excitabilidad para KCNQ5 sobre neuronas auditivas puesto que el mantenimiento del patrón de su distribución parece depender de las entradas excitatorias. Su presencia en terminaciones sinápticas del nervio auditivo puede revestir una especial trascendencia fisiológica.

P348. REGULACIÓN DEL INCREMENTO INTRACELULAR DE CALCIO INDUCIDO POR LA DESPOLARIZACIÓN CON KCL POR LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN NO/CGMP EN CÉLULAS GRANULARES DE CEREBELO DE LA RATAM. TORRES MOLINA^A, S. JURADO SÁNCHEZ^A, M. E. LÓPEZ JIMÉNEZ^A^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR IV, FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFI2003-00731, MEC

Las neuronas granulares de cerebelo de rata en cultivo han servido y sirven como modelo para numerosos estudios neurobiológicos, y mimetizan muchos de los fenómenos fisiológicos que ocurren in vivo. En este modelo hemos analizado la expresión de diferentes proteínas implicadas en la vía de señalización NO/cGMP, así como la funcionalidad de la misma. Aunque la expresión de las diferentes proteínas analizadas varía durante la diferenciación de estas células, a los siete días en cultivo expresan: nNOS, diferentes subunidades de la guanilato ciclasa sensible a NO (alfa 1, alfa 2 y beta 1) y proteínas quinasas dependientes de cGMP (cGKs) (I y II). En neuronas granulares todavía no se ha analizado la localización de estas proteínas pero el hecho de que en otras neuronas la nNOS, el heterodímero alfa 2/beta 1 de guanilato ciclasa y las cGKs se localicen en las terminales sinápticas, hace pensar que puedan jugar un papel importante en la transmisión sináptica y en la liberación de neurotransmisores. En este trabajo hemos analizado la respuesta de estas células a la despolarización con KCl y el efecto de diferentes inhibidores de la nNOS de la guanilato ciclasa y de las cGKs, poniendo de manifiesto que la actividad de esta vía produce una inhibición importante de la entrada de calcio a través de canales dependientes de voltaje ya que en presencia de estos inhibidores la respuesta a la estimulación con KCl se incrementó entre un 30 y un 55%.

P349. NIVELES DE LA SUBUNIDAD GAMMA-4 DEL RECEPTOR GABAA DURANTE EL DESARROLLO DE GALLUS GALLUSS. MONTORI PINA^A, D. ALMARZA GÓMEZ^B, S. DOS ANJOS VILABOA^B, F. PILAR CUÉLLAR^B, M. G. DARLISON^C, A. FERNÁNDEZ LÓPEZ^B^A DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR Y ANATOMÍA, FACULTAD DE C. BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES/UNIVERSIDAD DE LEÓN, LEÓN. ^B DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR Y ANATOMÍA, UNIVERSIDAD DE LEÓN, LEÓN. ^C DPT. LIFE SCIENCES, NOTTINGHAM TRENT UNIVERSITY, NOTTINGHAM, REINO UNIDO

La subunidad gamma-4 del receptor GABA_A es específica de aves, no habiéndose descrito hasta el momento en mamíferos. Los únicos datos que existen se han publicado en pollo mediante hibridación *in situ*. Hemos obtenido un anticuerpo policlonal en cobaya contra la subunidad gamma-4 del pollo. Este anticuerpo se ha utilizado para

estudiar la expresión de esta subunidad durante el desarrollo tras la eclosión del pollo entre los días P1 y P7. En este estudio se describen los niveles de expresión de la subunidad gamma-4 mediante la técnica de *western blot* comparando la respuesta en cerebelo y paleoestriado. Se observa un incremento en la expresión de esta subunidad a lo largo del periodo post-eclosión que permite concluir que durante este periodo el receptor GABA^A no ha llegado a niveles estables en el sistema nervioso central.

P350. DISTRIBUCIÓN DE CANALES DE NA⁺ Y K⁺ DEPENDIENTES DE VOLTAJE EN EL SEGMENTO INICIAL DEL AXÓN DE LAS NEURONAS DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA

M.C. INDA GARCÍA^A, J. DEFELIPE OROQUIETA^A, A. MUÑOZ CÉSPEDES^B

^ANEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. INSTITUTO CAJAL (CSIC). MADRID.

^BBIOLOGÍA CELULAR. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

El segmento inicial del axón (SIA) es una región desmielinizada cuya membrana contiene una elevada concentración de canales de Na⁺ y K⁺ dependientes de voltaje necesarios para la generación de potenciales de acción. Además, el SIA es una región crítica para la modulación de las respuestas de las neuronas piramidales al estar innervado selectivamente por las terminaciones gabérgicas de las células en candelabro, consideradas como las interneuronas más potentes de la corteza cerebral humana. El SIA comparte algunas características con los nodos de Ranvier donde los canales de Na⁺ y K⁺ están segregados en distintos subdominios de membrana mediante diversas moléculas implicadas en su agrupación y anclaje. En este trabajo mostramos, mediante técnicas inmuncitoquímicas, que el SIA de las células piramidales de corteza temporal humana presenta una cierta compartimentalización en cuanto a la distribución de canales de Na⁺ y K⁺ dependientes de voltaje. Los canales de Na⁺ se localizan a lo largo del SIA, asociados a las proteínas espectrina IV beta y ankirina G; mientras que los canales de K⁺ (Kv1.2) se localizan restringidos a la zona distal del SIA asociados a la proteína de adhesión Caspr2. En experimentos de doble tinción para Kv1.2 y marcadores gabérgicos, hemos observado que las terminaciones de las células en candelabro, innervan únicamente la zona distal del SIA donde se localizan los canales de K⁺. Esta compartimentación del SIA puede tener implicaciones funcionales importantes para la generación y la retropropagación de los potenciales de acción en las células piramidales.

P351. REGULACIÓN DE LA CORRIENTE IA POR LA PROTEÍNA DREAM

D. TORNERO^A, C. GONZÁLEZ-GARCÍA^A, V. CEÑA^A

^AUNIDAD ASOCIADA NEURODEATH UCLM-CSIC. UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LAMANCHA. ALBACETE, ESPAÑA

La corriente IA regula la excitabilidad neuronal, siendo su sustrato molecular los canales de potasio de la familia Kv4. Por otro lado, la proteína DREAM se caracterizó como modulador de la transcripción del gen de la prodinorfina que se une a la secuencia DRE en presencia de bajos niveles de calcio impidiendo el paso de la polimerasa. Esta proteína representa la primera proteína conocida que se une a calcio para funcionar como un regulador transcripcional. Su gran parecido con la proteína denominada KChip3 (Kv channel interacting protein 3), y su distribución regional y celular sugirió un papel de DREAM en la modulación de la corriente IA y, por lo tanto de la excitabilidad neuronal. En este trabajo se estudió esta regulación a través del registro electrofisiológico en la modalidad de parche perforado con Nistatina sobre células HEK 293T trasfectadas con vectores que contenían el gen del canal de potasio Kv 4.1 y DREAM. Nuestros resultados muestran que existe una regulación del canal a dos niveles. Por un lado, DREAM es capaz de alargar la constante de tiempo de inactivación del canal haciéndola más lenta; y por otro, es capaz de facilitar la incorporación del canal a la membrana plasmática. Estos dos efectos se traducen en un aumento significativo en la densidad de carga de la corriente generada por este canal, modificando de esta forma el comportamiento eléctrico de estas células.

P352. CANALES DE POTASIO DEPENDIENTES DE VOLTAJE EN POBLACIONES NEURONALES DE LOS NÚCLEOS CEREBELOSOS PROFUNDOS DE LA RATA

V. ALONSO ESPINACO^A, N. ANABITARTE GONZALEZ^A, A. RAMOS URIARTE^A, P. GRANDES MORENO^B

^ADEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA/ UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA, BIZKAIA. ^BDEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA/ UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA, BIZKAIA, ESPAÑA

La función del cerebelo depende de la integridad de sus circuitos y de la correcta activación de los diferentes receptores excitadores e inhibidores que existen en sus

neuronas. Por otra parte, se ha observado recientemente que determinados canales de potasio, en concreto los dependientes de voltaje Kv3.1 y Kv3.3 son fundamentales para el correcto funcionamiento del cerebelo, ya que ratones *knockout* que carecen de los genes que codifican estos canales presentan un síndrome cerebeloso característico. En consecuencia, es importante conocer la naturaleza química excitadora o inhibidora de los tipos celulares que expresan estos dos canales de potasio y su distribución en compartimentos de membrana de neuronas de los núcleos profundos, que son la vía de salida de la información procesada en la corteza cerebelosa. Mediante técnicas inmuncitoquímicas de alta resolución para microscopía electrónica y usando antisueros específicos frente a estos canales de K⁺ hemos visto que el canal Kv3.1 se localiza en membranas de dendritas, cuerpos celulares y terminales axonales de neuronas excitadoras de los núcleos profundos del cerebelo de la rata. Además, Kv3.1 se expresa en compartimentos de neuronas inhibitoras, aunque en una proporción mucho menor. El canal Kv3.3, por su parte, también se distribuye en dendritas, cuerpos celulares y terminales axonales de neuronas excitadoras de los núcleos profundos del cerebelo. En conclusión, ambos canales están en compartimentos celulares similares, lo que puede representar la base celular de la redundancia funcional descrita en ratones *knockout* que no presentan cambios fenotípicos llamativos si sólo carecen de Kv3.1 o Kv3.3.

P353. 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

^ANEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE/UMH. SAN JUAN DE ALICANTE, ALICANTE. ^BNEUROFISIOLOGÍA. 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 (I_{frío}). 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 I_{frío} y el potencial de receptor despolarizante en respuesta a enfriamiento (PR_{frío}). Bajo corriente controlada, 3 μM BCTC redujo el PR_{frío} 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 I_{frío} 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.

RECEPTORES LIGADOS A PROTEÍNA G

P354. LA EXPOSICIÓN CRÓNICA A AMONIO ALTERA LA MODULACIÓN DE LA FOSFORILACIÓN DE LA PROTEÍNA ASOCIADA A MICROTÚBULOS MAP-2 POR LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO 1 Y 5 EN NEURONAS DE CEREBELO EN CULTIVO

M. LLANSOLA GIL^A, S. ERCEG^B, V. FELIPO^B

^ANEUROBIOLOGÍA. FUNDACIÓN VALENCIANA DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

^BNEUROBIOLOGÍA. FUNDACIÓN VALENCIANA DE INVESTIGACIONES CITOLÓGICAS. VALENCIA, ESPAÑA

La hiperamonemia altera vías de transducción de señales asociadas a receptores de glutamato. Estos receptores modulan la fosforilación de la proteína asociada a microtúbulos MAP-2. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la hiperamonemia sobre la modulación de la fosforilación de MAP-2 por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluRs) en neuronas de cerebelo de rata en cultivo. La activación de los mGluRs 1 y 5 con DHPG aumenta la fosforilación de MAP-2 en neuronas control pero no en neuronas expuestas a amonio. La activación de mGluR5 con TADA aumenta ligeramente la fosforilación de MAP-2 en neuronas

control pero disminuye la fosforilación de MAP-2 en neuronas expuestas a amonio. La activación de mGluR1 por adición de MPEP (antagonista de mGluR5) más DHPG aumenta la fosforilación de MAP-2 en neuronas expuestas o no a amonio pero el aumento es significativamente menor en neuronas expuestas a amonio. Estos resultados indican que en neuronas control la activación de mGluR1 aumenta considerablemente la fosforilación de MAP-2 y la activación de mGluR5 induce un ligero aumento de la fosforilación de MAP-2. La hiperamonemia reduce el aumento de fosforilación de MAP-2 inducido por activación de mGluR1. La activación de mGluR5 reduce la fosforilación de MAP-2 en neuronas expuestas a amonio y la aumenta en neuronas control. Por tanto la hiperamonemia altera las vías de transducción de señales asociadas a mGluR1 y mGluR5 que modulan la fosforilación de MAP-2. La alteración de estas vías puede contribuir a las alteraciones neurológicas en pacientes con enfermedades hepáticas.

P355. EL ACOPLE DEL RECEPTOR 5-HT1A A ADENILILCICLASA EN EL NÚCLEO DORSAL DEL RAJE DE RATA ES AGONISTA-DEPENDIENTE

A. PAZOS, EM. VALDIZAN, E. CASTRO

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: CICYT, BF101-0592

En estudios previos hemos demostrado que la activación de receptores 5-HT1A cerebrales por (±)8-OH-DPAT inhibe la acumulación de AMPc inducida por forskolina en corteza e hipocampo de rata, pero no en el núcleo dorsal del rafe (NDR). Se desconoce si esta falta de inhibición es debida a que el receptor no está acoplado a Galfai en el NDR o a la activación simultánea por (±)8-OH-DPAT de receptores 5-HT1A acoplados a Galfai y receptores 5-HT7 acoplados a Galfas. En este estudio se ha valorado, mediante la cuantificación de AMPc en el NDR, la respuesta de adenililciclase a distintos agonistas 5-HT1A como (±)8-OH-DPAT y buspirona, y su modulación por antagonistas selectivos de receptores 5-HT1A (WAY100635) y 5-HT7 (SB269970A). Los resultados muestran que (±)8-OH-DPAT no inhibe la acumulación de AMPc inducida por forskolina (E_{max} 111,0 ± 4,3). En presencia de bloqueo selectivo del subtipo 5-HT1A (WAY100635, E_{max} : 95,0 ± 0,1) o del subtipo 5-HT7 (SB269970A, E_{max} 108,7 ± 2,8), (±)8-OH-DPAT tampoco modifica la acumulación de AMPc, sugiriendo que esta ausencia de respuesta no es debida a la activación simultánea de receptores acoplados a Galfai y Galfas. Por el contrario, la buspirona inhibe la acumulación de AMPc en el NDR (E_{max} 68,1 ± 0,4; pKi: 6,00 ± 0,03), siendo este efecto antagonizado por el WAY100635. Nuestros datos demuestran que en el NDR de la rata el mecanismo de transducción acoplado a receptores 5-HT1A está determinado por el agonista.

P356. ESTUDIOS DE INTERNALIZACIÓN MEDIADA POR AGONISTAS Y ACTIVACIÓN DE MAP KINASAS EN ZFOR3, UN RECEPTOR OPIOIDE TIPO KAPPA DE PEZ CEBRA

V. GONZÁLEZ NÚÑEZ^A, K. ROBERTS^B, C. J. EVANS^B, R. E. RODRÍGUEZ^A

^ADEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN (INCYL). UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA. ^BHATOS CENTER FOR NEUROPHARMACOLOGY, NPI. UNIVERSITY OF CALIFORNIA. LOS ÁNGELES, ESTADOS UNIDOS

En el momento actual el dolor sigue siendo considerado un grave problema médico, y por ello la búsqueda de fármacos con propiedades analgésicas ha supuesto un reto para la comunidad científica. Las drogas opiáceas como la morfina constituyen los fármacos de elección para el tratamiento del dolor crónico, a pesar de sus efectos secundarios adversos como son la tolerancia y la dependencia. Teniendo en cuenta que los mecanismos moleculares responsables de la analgesia y de la drogodependencia todavía no se conocen en su totalidad, hemos utilizado un nuevo enfoque para abordar estas cuestiones: el estudio del sistema opioide del pez cebra, un modelo animal empleado exitosamente en investigación. En este trabajo hemos estudiado los mecanismos postransduccionales que tienen lugar tras la activación del receptor opioide de pez cebra ZFOR3. Al igual que otros receptores tipo kappa, ZFOR3 presenta una cierta resistencia a seguir la vía endocítica, ya que dicho receptor sólo es internalizado por dinorfina A o su forma más corta dinorfina 1-13, llegándose a estimar una pérdida de hasta un 50% de los receptores en superficie celular tras 60min de incubación. El estudio de la activación de ERK 1/2 tras la unión de diversos ligandos al receptor ZFOR3 ha demostrado que no sólo agonistas como la dinorfina A y la morfina producen la fosforilación de ERK 1/2, sino que también la naloxona puede activar MAP cinasas. Estos resultados confirman nuestras observaciones anteriores de que la naloxona actúa como agonista parcial sobre ZFOR3.

P357. CARACTERIZACIÓN DE UN NUEVO RECEPTOR CANNABINOIDE CBI EN EL PEZ CEBRA (DANIO RERIO)

I. RODRÍGUEZ MARTÍN^A, E. MARRÓN FDEZ. DE VELASCO^A, M.J. HERRERO TURRIÓN^B, R. GONZÁLEZ SARMIENTO^C, G. HENDERSON^D, E. KELLY^D, R. E. RODRÍGUEZ^A

^ADEPARTAMENTO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN (INCYL). ^BINSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN (INCYL). ^CDEPARTAMENTO MEDICINA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA. ^DDEPT. OF PHARMACOLOGY. SCHOOL OF MEDICAL SCIENCES. UNIVERSITY OF BRISTOL. BRISTOL, REINO UNIDO

En el presente trabajo hemos caracterizado un nuevo receptor cannabinoide tipo CB1, en el teleosteo pez cebra (*Danio rerio*). Su secuencia de aminoácidos presenta una homología del 69% con la del receptor CB1 humano y conserva distintos residuos relacionados con la afinidad y actividad de ligandos cannabinoides. Característicamente, presenta un intrón en su secuencia codificante. Hemos transfectado de forma estable el receptor Cb1 de pez Cebra en células HEK293 y en experimentos de *binding* sobre membranas de esta línea celular, hemos descrito un sitio de unión para 3H-CP55940 y 3H-WIN55212-2 (B_{max} = 1.116 ± 82,26 fmol/mg proteína, KD = 0,55 ± 0,08 nM y B_{max} = 1.176 ± 65,46 fmol/mg proteína, KD = 0,757 ± 0,13 nM, respectivamente). Ensayos de competición con diferentes ligandos cannabinoides 'fríos' han mostrado que solamente el WIN55212-2 es capaz de desplazar significativamente al propio 3H-WIN55212-2 y lo hace ajustándose al modelo de dos sitios de unión ($Ki1$ = 4,8 nM, $Ki2$ = 1,1 µM). Además, el WIN55212-2 y también la anandamida han sido capaces de activar el receptor mediante la disminución de la concentración intracelular de cAMP a una concentración de 10 µM aunque, de nuevo, solamente el WIN55212-2 provocó su internalización, siendo este el primer caso en el que se describe internalización en un receptor cannabinoide no mamífero. Esta internalización demostró ser PKC, pero no PKA dependiente en ausencia de ligandos cannabinoides. Por último, mediante RT-PCR e ISH, hemos demostrado que se expresa mayoritariamente en cerebro, en concreto, en el diencéfalo, el mesencéfalo y el metencéfalo. Las nuevas características que presenta este receptor abren una nueva puerta en el desarrollo de la investigación del sistema cannabinoide.

P358. LOCALIZACIÓN DE RECEPTORES CANNABINOIDES CBI EN NÚCLEOS SEROTONÉRGICOS CEREBRALES

I. MANUEL^A, G. BARREDA-GÓMEZ^A, S. MATO^B, A. PAZOS^B, R. RODRÍGUEZ-PUERTAS^A

^ADEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA. VIZCAYA. ^BDEPARTAMENTO FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS. I. MANUELES BECARIO PREDOC-TORAL UPV/EHU. G. BARREDA-GÓMEZ BECARIO PREDOC-TORAL GOBIERNO VASCO

Los compuestos cannabinoides se encuentran implicados en diversas acciones fisiológicas a nivel central como son la sensación de euforia, sedación, alteración de la percepción temporal y de la memoria reciente; actividad analgésica y acciones sobre la coordinación motora. Asimismo, los agonistas cannabinoides poseen capacidad para modular diversos sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico. Estas acciones parecen deberse a su interacción con el subtipo de receptor cannabinoide CB1. Sin embargo, la localización de los receptores CB1 en núcleos serotoninérgicos no ha sido analizada en detalle. De este modo, se estudió la localización de receptores CB1 en núcleos serotoninérgicos cerebrales y su relación con el sistema gabérgico mediante anticuerpos específicos para el receptor CB1, el enzima triptófano hidroxilasa (TrpH) y el enzima gamma aminobutírico decarboxilasa (GAD-65). Se utilizaron técnicas de inmunofluorescencia y microscopía confocal para la colocalización de las diferentes proteínas. En el núcleo dorsal del rafe (NDR) y en el núcleo paragigantocelular lateral (LPGi), no se observó colocalización de la inmunoreactividad CB1 (CB1+) sobre neuronas TrpH positivas, a pesar de existir una gran densidad de terminales CB1+ en el NDR, que son en su mayoría gabérgicos. (GAD-65+). Sin embargo en áreas corticales se observaron prolongaciones neuronales CB1+ que eran negativas para GAD-65. Estos resultados parecen sugerir que los receptores CB1 ejercerían su función reguladora sobre la neurotransmisión serotoninérgica de una manera indirecta, a través de una modulación del sistema gabérgico.

P359. CARACTERIZACIÓN DE RECEPTORES DE GALANINA IMPLICADOS EN LA MODULACIÓN DE RECEPTORES COLINÉRGICOS MUSCARÍNICOS

G. BARREDA-GÓMEZ^A, M.T. GIRALT^A, L. LANZA^B, A. PAZOS^B, R. RODRÍGUEZ-PUERTAS^A

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

El neuropéptido galanina modula diferentes sistemas de neurotransmisión, entre ellos el sistema colinérgico, aunque se desconoce el papel de los receptores en este proceso. Por otra parte, se han descrito alteraciones en los sistemas galaninérgico y colinérgico en la enfermedad de Alzheimer. En este estudio se realizó un primer análisis comparativo entre rata y humano del acople funcional de la proteína G a los receptores de galanina, con el objetivo de validar a la rata como modelo experimental. Además, en ratas tratadas con galanina (i.c.v.) se cuantificó la respuesta funcional y la densidad de receptores colinérgicos muscarínicos (RCM). En el cerebro humano la mayor fijación de [35S]GTPgammaS inducida por galanina se registró en áreas como la corteza frontal, la capa granular del giro dentado y el núcleo talámico ventroposteromedial, mientras que en la rata se observaron en amígdala, CA1 del hipocampo y subículo. Por otro lado, en el grupo tratado con galanina se determinó un incremento de la fijación neta de [35S]GTPgammaS tras la estimulación con carbachol en el hipocampo dorsal, núcleo medial de la amígdala (Me), subtálamo, giro dentado y núcleos talámicos y un aumento en la densidad de RCM en Me y en el núcleo talámico centromedial. Estos resultados indican que el tratamiento con galanina modula la densidad de RCM y su acople a proteínas G, además aportan nueva información sobre las similitudes de las vías de neurotransmisión de galanina entre el cerebro humano y el de la rata.

P360. LOS SITIOS DE UNIÓN AL RECEPTOR DOPAMINÉRGICO D2S SON DEPENDIENTES DE LOS IONES DE SODIO Y VARÍAN CON LA PREPARACIÓN DE MEMBRANAS

M. VIVÓ ABELAIRAS^A, P.G. STRANGE^B

^A DEPT. BIOL. CEL., FISIOLÓGIA Y INMUNOLOGÍA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA. ^B SCHOOL OF ANIMAL AND MICROBIAL SCIENCE. UNIVERSITY OF READING. READING, REINO UNIDO

El perfil de unión de distintos ligandos a un receptor acoplado a proteína G, como el receptor dopaminérgico, puede utilizarse como herramienta en el estudio de la expresión del receptor. En este estudio se expresó la isoforma corta del receptor de dopamina D2 (D2S) en células de insecto Sf9 obteniendo así preparaciones de membrana con distintos sitios de unión totales (B_{max}). La unión de dos agonistas inversos ([3H]-spiperone y [3H]-nemonapride) en ausencia y en presencia de iones sodio en el ensayo, era similar cualitativamente pero sorprendentemente distinta cuantitativamente entre las dos preparaciones de membrana. Mientras que la B_{max} y la K_d para la [3H]-spiperone no se vieron afectadas por las distintas condiciones, [3H]-nemonapride mostró un incremento en la B_{max} y la afinidad que era dependiente de sodio. El incremento en B_{max} fue del 28 y el 65% para las preparaciones con alta y baja expresión del receptor, respectivamente. Estas diferencias sugieren que el estado de oligomerización del receptor podría ser diferente en distintas preparaciones y dependiente de iones de sodio. Agradecemos a la BBSRC su financiación.

P361. EVALUACIÓN NEUROFUNCIONAL DEL RATÓN DEFICIENTE EN GRF1 (GUANINE NUCLEOTIDE-RELEASING FACTOR 1)

R. RIQUELME GALIANA^A, R. BARHOUM^B, A. FERNÁNDEZ-MEDARDE^C, E. SANTOS^C, P. DE LA VILLA^B, I. VARELA-NIETO^D

^A NEUROBIOLOGÍA DE LA AUDICIÓN. INSTITUTO INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. MADRID. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. ^C CENTRO DE INVESTIGACIÓN DEL CÁNCER. CENTRO DE INVESTIGACIÓN DEL CÁNCER. SALAMANCA. ^D IIBALBERTO SOLS CSIC-UAM. IIBALBERTO SOLS CSIC-UAM. MADRID, ESPAÑA

Las proteínas Ras participan en el control del crecimiento, la diferenciación y la supervivencia celulares. Los factores liberadores de guanina (guanine nucleotide-releasing factors, GRF) controlan la actividad de Ras, activándolo. GRF1 es un miembro de esta familia que se expresa principalmente en el cerebro posnatal. Los ratones deficientes en el gen Grf1 presentan defectos de aprendizaje y memoria. Ratones salvajes y mutantes (Grf1^{-/-}) fueron sometidos a pruebas de espectroscopia por resonancia magnética nuclear, electroretinografía y determinación de potenciales evocados auditivos de tronco encefalo (auditory brainstem response,

ABR). La espectroscopia permitió apreciar niveles significativamente elevados del metabolito N-acetil-aspartato (NAA, metabolito presente en neuronas) en los ratones Grf1^{-/-}. La electroretinografía mostró que los ratones Grf1^{-/-} presentan una disminución significativa en la amplitud de la onda b del electroretinograma, compatible con un déficit funcional en la transmisión sináptica entre neuronas retinianas. En contraste, la determinación de ABR no indicó diferencias apreciables en la capacidad auditiva ni en la velocidad de transmisión del estímulo sonoro de los ratones Grf1^{-/-} cuando se compararon con los datos obtenidos en los animales control. El presente trabajo muestra un estudio de evaluación multifuncional no invasiva en ratones que carecen del gen Grf1 y permiten demostrar que dicho déficit no afecta por igual a los dos sistemas sensoriales estudiados. Se produce una alteración significativa de la transmisión de la señal visual en la retina sin que se altere la transmisión de la señal auditiva en el tronco del encéfalo, aunque si se aprecian alteraciones metabólicas cerebrales.

P362. COEXISTENCIA DE VARIOS RECEPTORES EN UN TERMINAL SINÁPTICO: INTEGRACIÓN PRESINÁPTICA

C. LADERA RIVERO, J. SÁNCHEZ-PRieto BORJA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE VETERINARIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFU-2004-1375-BFI, MEC

Los terminales sinápticos contienen (homo) o (hetero) receptores según respondan al neurotransmisor liberado por el propio terminal o a otro neurotransmisor. Se ha asumido, pero no demostrado, que estos receptores podrían coexistir en el mismo botón sináptico. También se desconoce la posible interacción entre las vías de señalización asociadas a dichos receptores y su significado en la liberación de neurotransmisor. En terminales sinápticos de corteza cerebral la liberación de glutamato es reducida por los agonistas de distintos receptores presinápticos. El agonista de receptores de adenosina (A1) cicloexiladenosina (CHA) reduce la liberación en un 41,0 ± 2%; mientras que los agonistas de los receptores GABA_B (baclofén) y metabotrópicos de glutamato (L-4 aminofosfonobutirato, L-AP4) lo hacen en un 19,6 ± 1,7% y 27,3 ± 1,2%, respectivamente. Por otro lado, la adición simultánea de los tres agonistas redujo la liberación en sólo un 48,6 ± 3,4% cuando lo esperable para una distribución de los receptores en subpoblaciones de terminales distintas sería de un 88,0 ± 4,8%. La coexistencia de receptores en el mismo terminal sináptico se ha demostrado también en experimentos de liberación con concentraciones bajas de agonista. Estas bajas concentraciones carecen de efecto cuando se activa un sólo receptor, pero inhiben eficientemente la liberación cuando los tres receptores se activan simultáneamente. Podemos concluir que la activación subumbral de cada receptor se integra en una vía de señalización intracelular común que afecta a la liberación de neurotransmisor.

P363. HETEROGENEIDAD EN EL MECANISMO DE INHIBICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GLUTAMATO POR CANNABINOIDES

J. SÁNCHEZ-PRieto BORJA, M.C. GODINO ALARCÓN

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE VETERINARIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: 08.5/0008.1/2003 DE LA COMUNIDAD DE MADRID

Los cannabinoides inhiben la transmisión sináptica excitatoria por reducción de la entrada de Ca²⁺ en el botón sináptico. Los receptores de cannabinoides CB1 reducen la actividad de los canales de Ca²⁺, pero se desconoce si, además de esta acción directa, la reducción del flujo de Ca²⁺ podría resultar de la modulación de canales de K⁺ implicados en la repolarización del potencial de acción. La despolarización de los terminales con altas concentraciones de ClK (30 mM) libera glutamato por un mecanismo que es completamente (98,6%) insensible al bloqueante de canales de Na⁺ tetrodotoxina. En estas condiciones el agonista cannabinoide WIN55,22-212 inhibe la liberación en un 26,7%, y esta acción podría resultar de la modulación directa de los canales de Ca²⁺. En cambio, con bajas concentraciones de ClK (10 mM) aparece un componente de liberación (50,1%) sensible a tetrodotoxina y además se observa una mayor reducción de la liberación (59,9%) por el agonista WIN55,22-212. Experimentos de imagen de Ca²⁺ con bajas y altas concentraciones de ClK han revelado la existencia de dos subpoblaciones en las que la entrada de Ca²⁺ es sensible a los cannabinoides. En conclusión, los cannabinoides reducen la liberación de glutamato por dos mecanismos que se expresan en distintas subpoblaciones de terminales cerebrocorticales.

P364. FLUOXETINA ALTERA LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB1 EN LA CORTEZA CEREBRALJ. ZÁRATE SESMA^A, I. CHURRUCA ORTEGA^B, E. ECHEVARRÍA ORELLA^B, L. CÁSIS SAENZ^B, M. LÓPEZ DE JESÚS^C, L. SAENZ DEL BURGO^C, J. SALLÉS ALVIRA^C^A DPTO FISIOLÓGICA. FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO (UPV-EHU), VITORIA-GASTEIZ. ^B DEPARTAMENTO FISIOLÓGICA. ^C DEPARTAMENTO FARMACOLOGÍA. UPV-EHU, VITORIA-GASTEIZ, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: 1/UPV00081.327-E-15320/2003

AGRADECIMIENTOS: AGRADECIMOS A JUAN MANUEL RODRÍGUEZ ROBLEDO SU COLABORACIÓN TÉCNICA

Fluoxetina es un antidepresivo que inhibe la recaptación de serotonina y altera la expresión cerebral de diversos neuropéptidos. El receptor cannabinoide CB1 en la corteza cerebral podría constituir una diana terapéutica para el manejo clínico de la depresión. objetivo de este trabajo fue describir los efectos de fluoxetina sobre la expresión regional del receptor CB1 en la corteza cerebral de la rata Zucker obesa. Para ello, se realizó una determinación mediante *western blot* de los niveles corticales de receptor, así como un estudio inmunocitoquímico de su expresión regional a este nivel, empleando la técnica de la avidina peroxidasa y utilizando 3,3'-diaminobencidina como cromógeno. Los resultados fueron interpretados con la ayuda de un equipo computarizado de análisis de imagen. Las diferencias estadísticas se consideraron en base al test *t* de Student ($p < 0,05$). La administración crónica de fluoxetina (10 mg/kg/día, 21 días, i.p.) produjo un descenso en los niveles corticales del receptor CB1, así como una reducción significativa del número de células nerviosas marcadas para este antígeno a nivel de las cortezas frontal, cingulada y piriforme, sin cambios en las cortezas parietal, temporal y occipital. Estos resultados sugieren la implicación del sistema cannabinoide a nivel de la corteza cerebral en el mecanismo de actuación de fluoxetina en la rata Zucker obesa.

P365. SPLICED GAI2 PROTEIN IN THE FORMATION OF INTRACELLULAR POOL AND THE TRANSPORT OF DOPAMINE D2 RECEPTORSA. ESCALANTE RODRÍGUEZ^A, A. DOMÍNGUEZ CERESO^A, F. JOSÉ CARBALLO^B, M. J. ACEVEDO^B, M. FRANCISCO LÓPEZ^A, Z. U. KHAN^A^A CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO SANITARIAS. ^B CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO SANITARIAS. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT (BFI2003-03464) Y PROGRAMA RAMÓN Y CAJAL

Given that agonists induce the up-regulation of cell surface dopamine D2 receptors independent to the state of protein synthesis, theory for the existence of intracellular receptor pool was proposed. However to date, it remains an enigma that how this process operates within the cell. Here, we report that splice variant of Gai2 protein called sGi2 plays a crucial role in the maintenance of this receptor pool and their traffic to the cellular plasma membrane. Expression of sGi2 in cells reduced the D2 receptor localization to plasma membrane by 35-40%. This effect was associated to protein-protein interaction and intracellular D2-sGi2 complex accumulation. Furthermore, we found that the activation of D2 signaling pathways with selective agonists released the D2 receptors from complex and localized them to the plasma membrane. Thus, in addition to elucidating how the intracellular pool of D2 receptor functions, our findings uncover a novel mechanism in the regulation of cell surface D2 receptor density. Since cell membrane bound D2 receptors are known targets of antipsychotic drugs that are used to treat neuropsychiatric disorders such as schizophrenia, controlled localization of D2 receptor at cell surface offers a strategy for the alternate, but safer therapy of this mental illness.

P366. EFECTO DE LA DEFICIENCIA DE VITAMINA A SOBRE LOS NIVELES DE ARN MENSAJERO DE LA SOMATOSTATINA Y LOS SUBTIPOS DE RECEPTORES (SST1, SST2, SST3 Y SST4) DE DICHO NEUROPEPTIDO EN EL HIPOCAMPO DE LA RATAA.M. HERNÁNDEZ PINTO^A, L. PUEBLA JIMÉNEZ^B, E. BURGOS RAMOS^B, J.A. LÓPEZ-MORENO^C, E. ARILLA FERREIRO^B^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. ^B DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. ^C DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

Previamente describimos que la deficiencia de vitamina A (RA) disminuye la concentración de somatostatina (SRIF) y aumenta la unión de la SRIF a sus receptores. Estos efectos revirtieron con la administración de RA. El objeto del presente estudio fue profundizar en el efecto de la deficiencia de RA sobre dichos

parámetros, estudiando el efecto de la deficiencia de RA sobre los niveles de ARN mensajero de SRIF y los subtipos de receptores de SRIF (sst1-4) en el hipocampo de la rata. Un grupo de ratas Sprague-Dawley machos (200-250 g.) recibió una dieta libre de RA durante 12 semanas. Un segundo grupo recibió el tratamiento anterior seguido de una semana con una dieta suplementada con RA (15.000 UI/Kg dieta). Un tercer grupo de animales se alimentó con la dieta estándar durante 12 semanas y una semana más con una dieta suplementada con RA. Un cuarto grupo se alimentó con dieta estándar. La deficiencia de RA no modificó los niveles de ARNm de la SRIF pero aumentó los niveles de los subtipos de receptores de SRIF sst1-4 y disminuyó la actividad funcional de las proteínas Gi. La administración de RA a ratas con deficiencia de la misma, revirtió a los valores control los niveles de sst1, sst3 y sst4 pero no modificó los niveles de sst2. Es posible que los cambios observados en el presente estudio se puedan deber, al menos en parte, a que los retinoides actúen sobre el sistema somatostatinérgico mediante sus receptores nucleares, los cuales son factores de transcripción.

P367. EXPRESIÓN DE RECEPTORES 5-HT4 DE SEROTONINA EN REGIONES COLINÉRGICAS DEL CEREBRO ANTERIOR: ESTUDIOS DE HIBRIDACIÓN IN SITU DUALR. PEÑAS CAZORLA^A, M.T. VILARÓ COMAS^B^A DEPARTAMENTO NEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA (CSIC-IDIBAPS). BARCELONA. ^B DEPARTAMENTO NEUROQUÍMICA. INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES DE BARCELONA (CSIC-IDIBAPS). BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: PLAN NACIONAL I+D SAF2002-03408, PROGRAMA RAMÓN Y CAJAL

Los receptores 5-HT4 de serotonina en cerebro modulan la liberación de diversos neurotransmisores y están implicados en procesos de aprendizaje y memoria. En concreto, se ha descrito un efecto facilitador de la liberación de acetilcolina en corteza frontal e hipocampo mediado por estos receptores. Se desconoce, sin embargo, la localización celular de los receptores responsables de esta modulación. En el presente estudio hemos analizado la expresión del mRNA del receptor 5-HT4 en las regiones del cerebro anterior que contienen las neuronas colinérgicas de proyección: septum medial/banda diagonal de Broca (MS/DB) y núcleo basal de Meynert (NbM). Hemos utilizado la hibridación in situ dual con sondas radiactivas para detectar el mRNA del receptor y sondas marcadas con digoxigenina para determinar el fenotipo neuroquímico de las neuronas presentes en estas regiones. En las neuronas colinérgicas del MS/DB y NbM, visualizadas por su expresión del mRNA del enzima acetilcolintransferasa, no se detectó mRNA del receptor 5-HT4 en las presentes condiciones. En cambio, en estas regiones se detectó expresión del mRNA del receptor en neuronas gabaérgicas (definidas por su expresión del mRNA del enzima descarboxilasa del ácido glutámico GAD67) y en neuronas que expresan el transportador vesicular de glutamato vGLUT2, que se ha propuesto como marcador glutamatérgico. Estos resultados sugieren que el control de la liberación de acetilcolina por receptores 5-HT4 no se realiza directamente sobre neuronas colinérgicas, si no indirectamente sobre otros tipos neuronales que puedan a su vez actuar sobre las neuronas colinérgicas.

P368. TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES VÍA FOSFOLIPASA C EN RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO: UN SISTEMA ALTERADO EN CORTEZA CEREBRAL EN LA ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOBA. RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ^A, M. FREIXES^A, E. DALFÓ^B, M. MARTÍN^C, B. PUIG^D, I. FERRER^E^A INSTITUTO DE NEUROLOGÍA. ^B ANATOMÍA PATOLÓGICA Y BIOLOGÍA CELULAR. ^C DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA, ORGÁNICA Y BIOQUÍMICA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS. CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UNIVERSIDAD DE CASTILLA LA MANCHA. CIUDAD REAL. ^D ANATOMÍA PATOLÓGICA Y BIOLOGÍA CELULAR. ^E INSTITUTO DE NEUROLOGÍA. SERVID'ANATOMÍA PATOLÓGICA. HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE. HOSPITAL DE LLOBREGAT. BARCELONA, ESPAÑA

El glutamato es el neurotransmisor excitador más importante de la corteza cerebral. Algunas enfermedades neurodegenerativas se asocian a alteraciones en la transmisión glutamatérgica. Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) median respuestas más lentas que los ionotrópicos y transducen señales intracelulares acoplados a proteínas G. El grupo I de los mGluR está acoplado positivamente a la actividad de la fosfolipasa C (PLC beta 1). La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) es una encefalopatía espongiiforme transmisible humana asociada a la disfunción de la glicoproteína de membrana PrP que se convierte en una isoforma rica en lámina-beta, patogénica y parcialmente resistente a proteasas. Se han

examinado varias proteínas asociadas al grupo I de los mGluR en la corteza frontal en 12 casos con CJD y en 4 controles mediante *western blot* de homogeneizados totales. La densitometría de las bandas obtenidas muestra niveles disminuidos de PLC y de nPKC-delta. No hay modificaciones en la expresión de mGluR1 y CPU alfa ni cambios de solubilidad en fracciones solubles en PBS, desoxicolato y SDS al comparar con controles. Finalmente, no se aprecian interacciones entre PLC beta 1 y PrP por ensayos de inmunoprecipitación. Estos resultados muestran expresión disminuida de fosfolipasas y particularmente de la PLC beta 1, que es importante en vías de señalización de los mGluR del grupo I en la corteza cerebral. Estos cambios no se producen, aparentemente, por solubilidad 1 ni por interacciones anormales con PrP. Esta alteración en la señalización de los mGluR podría tener efectos funcionales en la transmisión y modulación glutamatérgica en CJD.

MENSAJEROS INTRACELULARES

P369. EL RNA DE INTERFERENCIA PUEDE ACTIVAR LA VÍA DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL STAT1 EN ASTROCITOS

R. GORINA MENDIZ, A. EJARQUE, J. SAURA, T. SANTALUCÍA, A.M. PLANAS

FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. IIBB-CSIC-IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA

Objetivos. Resultados recientes de nuestro equipo indican que la activación de la vía Jak2/Stat1 es una señal de muerte inducida por estrés oxidativo y citoquinas proinflamatorias en cultivos de astrocitos (Gorina et al, J Neurochem 2005; 92: 505). En el presente trabajo nos planteamos inhibir la expresión de Stat1 utilizando *short interference RNA* (siRNA) en cultivos de astrocitos. **Métodos.** Se transfectó mediante oligofectamina el siRNA dirigido contra Stat1, FITC-siRNA, el siRNA anti-p21 y un siRNA de secuencia inespecífica como control negativo, en cultivos de astrocitos de ratón. Se obtuvieron muestras a diferentes tiempos, y analizamos la expresión de Stat1 y p21 por *western blot*. Se utilizó FITC-siRNA para evaluar mediante microscopía de fluorescencia la eficiencia de la transfección. **Resultados.** Observamos que la transfección de siRNA en astrocitos produce un aumento de la expresión de Stat1, con cualquier de los siRNA utilizados, inclusive el siRNA específico de Stat1. No obstante, en estas condiciones conseguimos disminuir la expresión de p21 con el siRNA correspondiente. **Conclusiones.** Estos resultados muestran que los siRNA pueden activar la vía de señalización Stat1 en astrocitos, y concuerdan con el hallazgo previo de que los siRNA activan la respuesta a interferón-gamma mediada por Stat1 (Sledz et al, Nature Cell Biology 2003; 5: 834). La inhibición de Stat1 en cultivos de astrocitos mediante esta técnica posee una dificultad intrínseca derivada de la activación de la vía Jak2/Stat1. Pensamos que esta activación es un efecto no deseado de los siRNA debido a su similitud con ácidos nucleicos de origen viral.

P370. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LA NOS I EN LAS CÉLULAS CROMAFINES BOVINAS

R. PÉREZ-RODRÍGUEZ, S. VICENTE, A. OLIVÁN, A. MARTÍNEZ, M.P. GONZÁLEZ Y M.J. OSET-GASQUE

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR II. FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

En las células cromafines de la médula suprarrenal, el NO, regulador paracrino y autocrino de la neurosecreción, se sintetiza gracias a la acción de la óxido nítrico sintasa (NOS), fundamentalmente de la de tipo neuronal o NOS I [1]. En este trabajo se demuestra que la expresión de esta enzima en células cromafines se regula por distintos agentes secretorios como los agonistas nicotínicos y glutamatérgicos, lo que implica a los neurotransmisores en el control de funciones más duraderas y complejas de la fisiología celular. La NOS I, al igual que en el cerebro, se activa por glucocorticoides y se inhibe por fosforilación por diversas proteínas cinasas. Respecto al papel del sistema del NO, los donadores de NO, el GMPc y las citocinas no parecen tener ningún efecto significativo sobre la expresión de la enzima, a diferencia de los inhibidores de la NOS que disminuyen muy significativamente su expresión, de forma dosis-dependiente y específicamente revertida por el sustrato de la NOS, L-arginina. Estos resultados apuntan a un efecto regulador dual del NO sobre la expresión de ambas isoenzimas de la NOS, NOS I y NOS II, que podría ser mediado por el factor nuclear NFkB y que podría ser importante en el control farmacológico de estados patológicos que cursan con elevaciones en la concentración de NO intracelular, como los procesos inflamatorios asociados a diversas enfermedades neurodegenerativas. (Trabajo financiado por el proyecto BFI-2003-03886 del MCYT). [1] Vicente S, et al, J Neurosci Res 2002; 69: 327-40.

P371. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE LAS FOSFODIESTERASAS 4 EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN RATAS TRATADAS CON LPS

E. REYES IRISARRI^A, G. MENGOD^A

^ANEUROQUÍMICA. IIBB (CSIC-IDIBAPS). BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2003-02083, LA MARATÓ DE TV3

El incremento de los niveles de AMPc intracelulares produce una reducción en la producción de citosinas proinflamatorias, como el TNF-a. Los inhibidores de las fosfodiesterasas (PDE4), enzimas responsables de la degradación del AMPc, modulan la producción del TNF-a en células inmunitarias. El rolipram, inhibidor específico de las PDE4, presenta efectos antiinflamatorios *in vivo* e *in vitro*. Estos isoenzimas se expresan en el sistema nervioso central y también en células inmunitarias. El principal objetivo de este trabajo es estudiar la participación de las distintas PDE4 en procesos inflamatorios y determinar el fenotipo celular implicado. Se utilizó un modelo de inflamación de ratas tratadas con la endotoxina bacteriana LPS. Mediante hibridación *in situ* estudiamos los niveles de ARNm de las PDE4 y del TNF-a en cerebro y órganos periféricos. En glándula adrenal, hígado y bazo se observaron incrementos de hasta un 600% en los niveles del ARNm de PDE4B y TNF-a. En cerebro no se observaron cambios significativos en los niveles de las PDE4. Con hibridación *in situ* doble, identificamos el tipo celular donde se sobreexpresa la PDE4B: linfocitos y macrófagos. De todas las isoformas analizadas, PDE4B sería la única involucrada en el proceso proinflamatorio en este modelo animal de inflamación con LPS. Conclusión que estaría de acuerdo con el trabajo de Jin & Conti (2002) donde demostraron, con ratones *knockout* de la PDE4B y PDE4D, que la inducción de PDE4B es necesaria para la respuesta del TNF-a al LPS.

P372. CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS POBLACIONES DIENCEFÁLICAS Y PRETECTALES DEL PEZ CEBRA (*DANIO RERIO*)

M. J. MANSO REVILLA^A, A. M. CASTRO CASTRO^B, M. BECERRA ARIAS^C, R. ANADÓN ÁLVAREZ^D

^ADEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA. ^BDEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA. ^CDEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y ECOLOGÍA. ^DDEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y ECOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. A CORUÑA, ESPAÑA

El presente estudio tiene por objeto caracterizar las poblaciones neuronales del diencefalo y pretecho del pez cebra adulto que expresan calretinina. Se emplearon además anticuerpos contra marcadores neuronales complementarios (colina acetiltransferasa, ChAT; descarboxilasa del ácido glutámico, GAD; tirosina hidroxilasa, TH; neuropeptido Y, NPY; hormona liberadora de la tirotropina, TRH; y galanina, GAL). En el epitalmo pueden apreciarse células y fibras inmunorreactivas (ir) a la calretinina (CR-ir) en el órgano parapineal y habénula, esta última contenía además células ChAT-ir y NPY-ir. A nivel talámico aparecen células CR-ir en el núcleo anterior talámico. Caudalmente, pueden apreciarse células CR-ir en los núcleos talámicos central y posterior. Igualmente células y fibras CR-ir fueron observadas en regiones ventromediales del hipotálamo y en el núcleo tuberal posterior, que también contenía células TH-ir y ChAT-ir. El lóbulo posterior hipotalámico muestra una rica innervación GAL-ir y NPY-ir, pero escasa CR-ir. El núcleo difuso y toro lateral muestra células CR-ir, recibiendo ambos una rica innervación CR-ir del núcleo gustatorio secundario. El complejo pregglomerular/cuerpo mamilar presentaba fuerte expresión de CR en células de muchas de sus regiones. El núcleo pretectal superficial parvocelular contenía células CR-ir y GAD-ir, recibiendo una rica innervación ChAT-ir. Células CR-ir aparecían a nivel del núcleo pretectal superficial magnocelular y en el núcleo pretectal accesorio donde formaban una banda oblicua. También se observaron células CR-ir en el pretecho medial, así como en el núcleo del fascículo longitudinal medial. Los resultados obtenidos revelan la utilidad de la CR para el estudio de poblaciones del cerebro de teleosteos.

P373. EXPRESIÓN FUNCIONAL Y SEÑALIZACIÓN DE RECEPTORES DE NUCLEÓTIDOS EN NEURONAS GRANULARES DE CEREBELO

R. PÉREZ SEN^A, C. HERVÁS^B, F. ORTEGA^B, M. MIRAS-PORTUGAL^B

^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR IV. FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID. ^B DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR IV. FACULTAD DE VETERINARIA, UCM. MADRID, ESPAÑA

Los nucleótidos son señales extracelulares que median importantes acciones en la fisiología del sistema nervioso, tanto a nivel neuronal como glial. La población más abundante de la corteza cerebelosa, las neuronas granulares, expresan receptores nucleotídicos, tanto ionotrópicos, P2X (P2X1, 2, 3, 4, 7), que forman canales iónicos permeables al calcio, como metabotrópicos, P2Y (P2Y1, 4, 6, 12), acoplados de manera preferente a la PLC. Las respuestas funcionales de los nucleótidos son dependientes del estado de diferenciación de las neuronas granulares en cultivo. El Bz-ATP, un agonista preferente del receptor P2X7, que se encuentra especialmente localizado en las prolongaciones neuronales, indujo cambios morfológicos en las neuronas granulares en cultivo, que se traducían en una aceleración de la diferenciación. En una primera aproximación hacia las señales intracelulares que podrían estar mediando estos efectos tróficos, estudiamos la cascada de las MAP cinasas, que están implicadas en muchos procesos de diferenciación, así como la GSK-3, una proteína clave en los procesos de reorganización del citoesqueleto. Entre los distintos agonistas nucleotídicos, el Bz-ATP produjo los mayores incrementos en el nivel de fosforilación de las proteínas ERK1/2 y GSK-3, lo que implica la activación e inactivación de dichas proteínas, respectivamente. Además, tras la estimulación continuada con el Bz-ATP, necesaria para inducir los cambios morfológicos, el nivel de fosforilación de las ERK1/2 y la GSK-3 se mantenía elevado. La posible implicación de ambas proteínas en los efectos tróficos mediados por el Bz-ATP, así como su interconexión será abordada en estudios futuros.

P374. SEÑALIZACIÓN DE LA VÍA MEK5-ERK5 EN CÉLULAS NEURONALES

A. M. MORENO IGLESIAS^A, M. UNZETA^B, J. M. LIZCANO DE VEGA^B

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA (BARCELONA). ^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

Las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) juegan un papel fundamental en las transducción intracelular de señales ya que regulan procesos como mitosis, expresión génica y apoptosis celular. Recientemente se han identificado dos nuevos miembros de esta familia, la proteína cinasa ERK5 y su activador MEK5, que configuran una nueva vía de transducción de señales que juega un papel importante en células neuronales. Esta vía se activa en respuesta a señales que promueven la supervivencia celular (neurotrofinas) o en respuesta a estrés oxidativo, implicado en la mediación del daño neuronal producido durante la isquemia cerebral, así como en ciertas enfermedades neurodegenerativas. Por último, el reciente estudio sobre la especificidad de inhibidores de MAP cinasas obliga a revisar alguna de las conclusiones que atribuyen determinadas funciones a la vía clásica de ERK1/2, que bien podrían atribuirse a la inhibición de la vía MEK5-ERK5. El objetivo de este estudio es la identificación de las proteínas que interaccionan con MEK5 y ERK5 y su papel en el control de la actividad de estas cinasas. Para lograr este objetivo se ha utilizado el método TAP (Tandem-Affinity Purification) en células de neuroblastoma SH-SY5Y, que permite la purificación de complejos de proteínas en condiciones nativas. Tras conseguir líneas estables SH-SY5Y que sobreexpresan TAP-ERK5 o TAP-MEK5, las proteínas asociadas se purificaron mediante dos cromatografías secuenciales.

P375. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DISTRIBUCIÓN ANATÓMICA DE LOS MRNAS DE LAS DISTINTAS SUBUNIDADES DE LA GUANILIL CICLASA SOLUBLE EN CEREBROS DE MAMÍFEROS

M.P. PIFARRE^A, A. GARCÍA^B, G. MENGOD^C

^A INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA. ^B INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA. UAB. BELLATERRA. ^C NEUROQUÍMICA. IIBB, CSIC-IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF2003-2083, SAF2001-2540

La guanilato ciclasa soluble (sGC) es la principal diana del NO en el sistema nervioso central (SNC) y el GMP cíclico (GMPc) el mediador de sus importantes acciones neuroreguladoras. La sGC está presente en la mayoría de las células de mamíferos como un heterodímero compuesto por una subunidad alfa y beta. Dos isoformas de cada subunidad, alfa1-2 y beta1-2, han sido clonadas. En este trabajo, hemos estudiado la distribución anatómica de las células que expresan el mRNA de estas

subunidades en cerebro de rata y mono mediante hibridación in situ, utilizando como sondas oligonucleótidos marcados con 33P complementarios al mRNA de las distintas subunidades. Hemos encontrado que la subunidad beta1 es la más abundante en ambas especies y su expresión es máxima en caudado-putamen, núcleo accumbens, tubérculo olfatorio, córtex, giro dentado y capas CA del hipocampo, varios núcleos talámicos e hipotalámicos, amígdala, núcleos motores del tronco encefálico y células de Purkinje y granulares de cerebelo. Por el contrario, el mRNA de la subunidad beta2 no pudo ser detectado. Las subunidades alfa presentan una distribución diferencial, siendo más ubicuo el mRNA de alfa1 que el de alfa2. En rata, alfa1 se expresa en estriado, tubérculo olfatorio, hipocampo y capas externas corticales. En mono, el mRNA de alfa1 se ha encontrado en caudado y putamen, hipocampo y capas internas corticales. La subunidad alfa2 se expresa en cerebelo, todas las capas corticales, caudado y putamen, hipocampo y algunos núcleos del tronco encefálico en ambas especies.

P376. SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR EN LA MIGRACIÓN DE INTERNEURONAS

F. J. MARTINI GONZÁLEZ^A, F. MOYA^B, M. VALDEOLMILLOS^B

^A UNIDAD DE DESARROLLO. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE UMH/CSIC. SAN JUAN DE ALICANTE. ^B UNIDAD DE DESARROLLO. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS UMH/CSIC. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS P102/0314 Y GV 04B405

Nuestro objetivo es estudiar los mecanismos de señalización mediados por calcio en la migración tangencial de interneuronas durante el desarrollo cortical. En su fase migratoria estas neuronas expresan receptores de glutamato (AMPA) y receptores GABA_A cuya activación produce aumentos de [Ca²⁺]_i. Los cambios de calcio intracelular juegan un papel central en la migración neuronal. En células aisladas hemos demostrado que el desplazamiento del núcleo durante la migración ocurre de forma simultánea o inmediatamente después de un aumento local de [Ca²⁺]_i en la prolongación anterior de la célula y cercano al núcleo. En experimentos en cultivos organotípicos de rodajas coronales embrionarias (E14-18) hemos marcado las interneuronas mediante electroporación en áreas de la eminencia ganglionar medial. Después de 24 horas en cultivo, las células fluorescentes se estudiaron para analizar sus propiedades eléctricas mediante *patch-clamp* y las señales de calcio. Resultados preliminares de registros en célula completa muestran que estas interneuronas tienen actividad eléctrica espontánea pero pocos canales dependientes de voltaje. Por otra parte hemos estudiado la distribución de elementos del citoesqueleto (NFL y gammatubulina) y su relación con la polarización del movimiento neuronal así como la distribución de fosfolípidos de inositol (PIP2 y PIP3) en respuesta a modificaciones en los mecanismos de señalización mediados por PI3K.

P377. LA SUPEREXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA ANTIAPÓPTÓTICA BCL-2 EN CÉLULAS PC12 LIMITA LA ENTRADA Y LA SOBRECARGA MITOCONDRIAL DE CALCIO

N. DÍAZ PRIETO^A, S. GALLEGU SANDIN^B, M. GARCÍA LÓPEZ^C, A.G. GARCÍA^D, M.F. CANO ABAD^B

^A FARMACOLOGÍA. HOSPITAL DE LA PRINCESA. MADRID. ^B FARMACOLOGÍA. HOSPITAL DE LA PRINCESA. UAM. MADRID. ^C FARMACOLOGÍA. ^D FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UAM. MADRID, ESPAÑA

La entrada de Ca²⁺ vía canales de calcio no inactivantes del subtipo L produce una sobrecarga mitocondrial de Ca²⁺ que conduce la muerte por apoptosis de la célula cromafín bovina (Cano-Abad et al, 2001). En el estudio presente planteamos la hipótesis de que la proteína antiapoptótica Bcl-2 pudiera prevenir la apoptosis por modificar dicha dishomeostasis cálcica. Para ello nos valimos de células PC12 controles y de otras que sobreexpresan Bcl-2 de forma estable. La estimulación con 75 mM de K⁺ durante 10 s reduce un 70 % la elevación de la [Ca²⁺]_c, medida con ecurina citosólica, en células Bcl-2, en comparación con las células control. Asimismo, la captación mitocondrial de Ca²⁺ ([Ca²⁺]_m), medida con ecurina mitocondrial, se reduce desde 80 μM a 20 μM (células control y Bcl-2, respectivamente). Esta reducción drástica se revierte en presencia de 0,3 μM de BayK8644, un activador de los canales de Ca²⁺ L. Ello sugiere que la Bcl-2 está inactivando dichos canales. Este novedoso mecanismo podría explicar los efectos antiapoptóticos de Bcl-2.

P378. UCP2/3 REGULA LA ACTIVIDAD DE TERMINALES DOPAMINÉRGICOS DE LAS VÍAS NIGROESTRIATALES Y MESOLÍMBICAS. IMPLICACIÓN EN LA TRANSMISIÓN EN VOLUMENA. RIVERA RAMÍREZ^A, K. FUXE^B, T. HORVATH^C, B. GAGO^D, J.J. VALDERRAMA^D, A. PEÑAFIEL^D, A. DE LA CALLE^D^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGICA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA. ^B DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIA. INSTITUTO KAROLINSKA. ESTOCOLMO, SUECIA. ^C DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE YALE. NEW HAVEN, ESTADOS UNIDOS. ^D DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGICA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFI2002-00587; CTS-0161; FUNDACIÓN IMABIS

Las proteínas UCP2/3 en la membrana mitocondrial interna desacoplan la fosforilación oxidativa para la síntesis de ATP liberando energía en forma de calor. Estas proteínas están implicadas tanto en termogénesis como en la regulación de la producción de radicales libres en las mitocondrias, actuando como neuroprotectores. Las proteínas UCP2/3 se localizan en terminales catecolaminérgicos en distintas áreas cerebrales (corteza, núcleo *accumbens* y estriado) y en células dopaminérgicas del mesencéfalo. En virtud de esta localización, se ha propuesto que UCP2/3, generando calor, podría favorecer la difusión de la dopamina en el espacio extrasináptico (transmisión en volumen). Para profundizar en el conocimiento de la función de UCP2/3 en el sistema dopaminérgico, hemos utilizado dos modelos animales: 1) ratas con depleción unilateral de la innervación dopaminérgica mediante inyección del neurotóxico 6-OHDA; 2) ratones deficientes en UCP2. En estos animales se han aplicado técnicas inmunocitoquímicas para la detección de UCP2/3, tirosina hidroxilasa (TH) y transportador de dopamina (DAT). También se han realizado estudios de análisis de imagen para evaluar cambios en la expresión de estos marcadores. Las ratas lesionadas con 6-OHDA presentaron un aumento en el tamaño de los axones varicosos que expresaban UCP2/3 y que fueron identificados como terminales catecolaminérgicos. En los ratones deficientes para UCP2 se observó una disminución en la inmunoreactividad para TH pero no para DAT en las áreas de proyección dopaminérgica de las vías mesolímbica y nigroestriatal. Estos datos sugieren que UCP2/3 participa activamente en la regulación de la transmisión dopaminérgica de las vías ascendentes.

P379. EXOCYTOSIS OF NEUROTRANSMITTERS AFTER ELECTRICAL STIMULATION OF MOUSE ADRENAL GLAND SLICE CHROMAFFIN CELLSA. PÉREZ ÁLVAREZ^A, G. ARROYO^B, A.G. GARCÍA^B, A. ALBILLOS^B^A FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^B INSTITUTO TEÓFILO HERNÁNDEZ. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

Introduction. Ideal physiological experimental conditions, not achieved until now, to study the mechanisms of neurotransmitter release would be the stimulation of the presynaptic nerve terminal in the intact tissue. Here we have taken advantage of the synapse splanchnic nerve-chromaffin cell to approach this issue. **Material and methods.** We have performed for the first time amperometric carbon fiber recordings of mouse chromaffin cells in adrenal gland slices. **Results.** Fast and large spike-like shape events (SSE) were obtained after exogenous superfusion of acetylcholine (ACh) or high K⁺, as well as after field electrical stimulation of the splanchnic nerve. However, out of the three stimuli used, only the electrical stimulation of the splanchnic nerve evoked very long lasting responses, which started with SSE, that switched to flickers-like shape events (FSE), becoming this finally the predominant form of neurotransmitter release. The duration of the flickers was 10 ± 0.8 ms on average. They allowed partial release of the vesicular content at a very high frequency, discharging large amounts of catecholamines per unit of time. Hexamethonium 5 mM antagonized the action of the endogenous ACh on the nicotinic receptor. **Discussion.** Our data constitute the first evidence of transient fusion events, recorded under electrical activation of the presynaptic nerve terminals, that would support secretory cell activity in situation of intense cell stimulation.

P380. EXTRACELLULAR CALCIUM ENTRY AND PROTEIN KINASE A ARE STIMULATED BY H3 AUTORECEPTOR ANTAGONISM/INVERSE AGONISM IN HISTAMINERGIC NERVE ENDINGSD. MORENO DELGADO, J. ORTIZ-DE PABLO, I. BLANCO-FERNÁNDEZ
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. BELLATERRA. BARCELONA, ESPAÑA

Histamine H3 autoreceptors inhibit calcium-calmodulin and cyclic AMP-dependent protein kinases in histaminergic nerve endings of rat brain cortical slices. Thus, it could be expected that suppression of H3 receptor constitutive activity would lead to a stimulation of the effects mediated by these kinases, activating histamine synthesis and release. We show here that thioperamide, a prototypical histamine H3 autoreceptor antagonist/inverse agonist, increased the stimulation of histamine synthesis elicited by depolarization with different concentrations of potassium ions. This effect of thioperamide is mainly due to suppression of H3 receptor constitutive activity -inverse agonism-, as it is not related to the presence of released histamine in the extracellular medium. The N-type calcium channel blocker ω -conotoxin GVIA abolished both thioperamide and depolarization effects. Inhibition of protein kinase A using the myristoyl-PKI 14-22 peptide selectively blocked thioperamide, but not depolarization effects. Unexpectedly, the CaMKII inhibitor myristoyl-autocamtide inhibitor peptide only blocked depolarization effects, but it did not modify thioperamide effects. These results suggest that constitutively active H3 receptors repress N-type voltage sensitive calcium channels and the adenylate cyclase/protein kinase A pathway. However, inhibition of the CaMKII pathway by H3 receptors requires further stimulation by an agonist.

P381. PAPEL DE LA NOS1 EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE CATECOLAMINAS MEDIADA POR RECEPTORES COLINÉRGICOS NICOTÍNICOS, GABÉRGICOS Y GLUTAMATÉRGICOS EN CÉLULAS CROMAFINES BOVINASM.J. OSET GASQUE^A, S. VICENTE RABANEDA^B, R. PÉREZ RODRÍGUEZ^B, A. MARTÍNEZ PALACIÁN^B, A. M. OLIVÁN SIERRA^B, M. P. GONZÁLEZ GONZÁLEZ^C^A DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR II. FACULTAD DE FARMACIA. MADRID. ^B DPTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR II. ^C INSTITUTO DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE FARMACIA. UCM. MADRID, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI-2003-03886 DEL MCYT

El óxido nítrico (NO), sintetizado en las células cromafines por la óxido nítrico sintasa (NOS), de tipo neural (nNOS) o NOS I [1,2], tiene un importante papel inhibidor tónico de la secreción basal de catecolaminas (CA) [2]. En el presente estudio se demuestra que el NO, tanto generado endógenamente como administrado exógenamente, tiene un papel dual sobre la secreción de CA mediada por la activación de distintos tipos de receptores reguladores de la secreción de CA en células cromafines (colinérgicos nicotínicos, gabérgicos y glutamatérgicos). Los efectos del NO sobre la secreción inducida son activadores a bajas concentraciones de NO e inhibidores a altas concentraciones, y son paralelos a las variaciones inducidas sobre los niveles de calcio intracelular. Todos los agentes secretagogos estudiados incrementaron la actividad de NOS y los niveles de GMPc, siendo este efecto en todos los casos dosis-dependiente, específico, e inhibido por los inhibidores de la NOS, lo que muestra claramente la participación del sistema L-arginina/NO/GMPc en el mecanismo de acción a corto plazo por el que estos agonistas inducen la secreción de CA. Por el contrario, a altas concentraciones, el NO tiene un papel inhibidor de la secreción de CA estimulada por todos estos secretagogos, efecto que podría constituir un mecanismo protector frente a un incremento exagerado de la secreción de CA por las células cromafines. [1] Oset-Gasque et al, J Neurochem 1994; 63: 1693-700. [2] Vicente et al, J Neurosci Res 2002; 69: 327-40.

P382. ENTRADA DE CALCIO Y EXOCITOSIS ESTIMULADAS POR PULSOS CUADRADOS DESPOLARIZANTES Y PORPOTENCIALES DE ACCIÓN

J.J. ARNAIZ COT, A.M. GARCÍA DE DIEGO, L. GANDÍA, J.M. HERNÁNDEZ-GUIJO, A.G. GARCÍA

INSTITUTO TEÓFILO HERNÁNDEZ, DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MEC (BFI2003-02722, SAF2004-07307 Y BFU2004-07998)

En sinapsis, la relación entre entrada de Ca²⁺ y liberación de neurotransmisores guarda una relación exponencial, con potencias de 3 a 4. En células neurosecretoras más lentas hay datos que remedan a las sinapsis y otros con potencias entre 1,5 y 2. En este estudio planteamos la cuestión de si la entrada de Ca²⁺ en la célula cromafina bovina guarda una relación lineal o exponencial con la liberación de catecolaminas, utilizando dos patrones de despolarización: (1) Estimulación con potenciales de

acción similares a los que genera la aplicación de pulsos breves de acetilcolina; y (2) pulsos cuadrados despolarizantes. Hemos utilizado la técnica de patch-clamp en su configuración de parche perforado, para medir simultáneamente en la misma célula ICa y Δ Cm. Hemos encontrado que la entrada de Ca^{2+} por canales de Ca^{2+} activados por voltaje (ICa), inducida por un tren de potenciales de acción a 30 Hz, produce una respuesta exocitótica (medida como aumentos de la capacidad del plasmalema, Δ Cm) que guarda una relación lineal con la entrada de Ca^{2+} (QCa). Por otro lado, la relación QCa/ Δ Cm se ajusta a una exponencial con una potencia de 1,5 cuando la célula se estimula con pulsos cuadrados (desde -80 a 0 mV) de duración creciente (10 a 2.000 ms). Los datos sugieren que la exocitosis producida por potenciales de acción se inactiva poco o nada, debido a una baja tasa de inactivación de los canales de calcio en estas condiciones experimentales, lo que garantiza una respuesta secretora más fina y prolongada

TRANSPORTADORES

P383. EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LOS TRANSPORTADORES VESICULARES DE GLUTAMATO VGLUT1, VGLUT2 Y VGLUT3 EN EL HIPOCAMPO POSNATAL DE LA RATA

J.F. LÓPEZ TÉLLEZ^A, D. BAGLIETTO VARGAS^B, I. MORENO GONZÁLEZ^C, L. TRUJILLO ESTRADA^B, A. GUTIÉRREZ^B

^ADEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS/ UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^BDEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^CDEPT. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: FIS P1030214 Y CTS-0161

Durante el desarrollo del hipocampo, el glutamato juega un papel importante en la organización de la citoarquitectura neuronal y en el establecimiento de sinapsis excitadoras. La mayoría de estas sinapsis excitadoras se forman durante el periodo postnatal. A pesar de la similitud funcional de los tres transportadores vesiculares de glutamato (VGluT1, VGluT2 y VGluT3) existen grandes diferencias en cuanto a su distribución y nivel de expresión en el hipocampo adulto. Sin embargo, la expresión de estos transportadores en el hipocampo en desarrollo no es bien conocida. Aplicando técnicas inmunohistoquímicas y de inmunotransferencia hemos analizado la distribución y cuantificado la expresión de estos transportadores en el hipocampo de rata desde el nacimiento (P0) hasta edades adultas (P90). Los tres transportadores están presentes desde P0, aunque con una expresión diferencial, de tal forma que VGluT1 se expresa de forma mayoritaria en todas las regiones del hipocampo a lo largo del desarrollo, mientras que VGluT2 y VGluT3 se expresan de forma minoritaria. VGluT1 y VGluT2 se encuentran exclusivamente a nivel de neuropilo en todas las regiones hipocámpales desde P0 a P90, mientras que VGluT3 se localiza en neuropilo en las dos primeras semanas y después se concentra en la capa de somas de neuronas principales. Dobles inmunomarcajes han demostrado que VGluT3 se expresa también en interneuronas desde edades tempranas. La expresión diferencial de estos transportadores vesiculares durante el desarrollo hipocámpal sugiere una compleja regulación de la liberación de glutamato durante la maduración de las sinapsis glutamatérgicas.

TRANSMISIÓN SINÁPTICA

P384. ACTIVACIÓN TÓNICA DE RECEPTORES PRESINÁPTICOS DE KAINATO Y SU PAPEL EN LA EXCITABILIDAD NEURONAL DEL SISTEMA TALAMOCORTICAL

F.J. URBANO SUÁREZ, J. LERMA GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE NEUROFISIOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, CSIC-UMH. SANT JOAN D'ALACANT. ALACANT, ESPAÑA

El sistema talamocorticotálámico está implicado directamente en los distintos 'status funcionales' del cerebro, caracterizados por un amplio espectro de oscilaciones. Asimismo, el papel de las distintas subunidades de los receptores de kainato (KAR) en el sistema talamocortical es todavía desconocido. En el presente estudio usamos rodajas talamocorticales en combinación con herramientas farmacológicas selectivas para los KAR así como ratones deficientes para las subunidades GluR5 o GluR6. Las neuronas de la capa 4 de la corteza somatosensorial, identificadas visualmente mediante microscopía de IR-DIC, se registraron usando la técnica de registro *whole-cell patch-clamp* durante la estimulación eléctrica del núcleo Ventrobasal del tálamo. En estas sinapsis, se observó una clara depresión por pares

de pulsos a 20 Hz, (PPR = $0,72 \pm 0,03$, a 34°C ; y $0,60 \pm 0,12$ a temperatura ambiente -RT-). Tras la aplicación del antagonista inespecífico CNQX, así como del antagonista específico de los KAR que contienen la subunidad GluR5, LY382884, se observó una reducción de 30% y 20%, respectivamente, en la amplitud del primer pulso. CNQX no cambió el cociente de depresión ($0,65 \pm 0,04$, $p < 0,05$, y $0,72 \pm 0,05$; $p < 0,05$, a 34°C y a RT, respectivamente), mientras que la aplicación de LY382884 lo incrementó hasta $2,45 \pm 0,8$ ($p > 0,05$). Este efecto de CNQX no se observó en ratones deficientes para las subunidades GluR5 o GluR6. Estos resultados sugieren la existencia de un receptor presináptico de kainato, integrado por heterómeros de las subunidades GluR5 y GluR6, que está constitutivamente activado en las sinapsis talamocorticales por los niveles extracelulares de glutámico.

P385. COMPOSICIÓN SUBUNITARIA DE LOS RECEPTORES DE KAINATO IMPLICADOS EN LA FACILITACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE LAS FIBRAS MUSGOSAS DEL HIPOCAMPO

A. V. PATERNAIN^A, J. LERMA^B

^AUNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, CSIC-UMH. SAN JUAN DE ALICANTE. ^BUNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, CSIC-UMH. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

Los estudios realizados en los últimos años demuestran el papel de los receptores de kainato tanto a nivel postsináptico, como mediadores de la transmisión sináptica excitadora, como presináptico modulando la liberación de neurotransmisor. Hasta muy recientemente se pensaba que la activación de los receptores de kainato presinápticos reduce la liberación de neurotransmisor en las sinapsis de CA1 y CA3 en el hipocampo. Sin embargo, la aplicación exógena de concentraciones bajas de kainato facilita la transmisión sináptica en las Fibras Musgosas (FM) del hipocampo. Incluso, la activación de los receptores presinápticos de kainato en las FM es en parte responsable de la plasticidad sináptica de corta duración en estas sinapsis. Con el fin de determinar el tipo de receptor de kainato implicado en la facilitación sináptica de las FM, hemos usado tanto un antagonista de los KAR que contienen la subunidad GluR5 (LY382884), como ratones deficientes en las subunidades que conforman los receptores de kainato (GluR5, GluR6 y KA2). En rodajas de hipocampo la aplicación de LY382884 fue capaz de reducir la facilitación por frecuencia de los EPSC evocados por pulsos a 25 Hz en las FM. En ratones R5-/- o R6-/-, está facilitación se vio reducida y la aplicación de LY382884 no tuvo efecto en ningún caso. Por el contrario, en los ratones KA2-/- la facilitación fue normal. Nuestros resultados demuestran que el efecto facilitador de los receptores de kainato sobre la transmisión sináptica excitadora en las FM, está mediado por receptores heteroméricos formados por las subunidades GluR5 y GluR6.

P386. LOS ASTROCITOS MODULAN LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA EXCITADORA DURANTE LA HIPOXIA

E. MARTÍN^A, M. FERNÁNDEZ^A, V. CEÑA^A

^AUNIDAD ASOCIADA NEURODEATH UCLM-CSIC, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LAMANCHA. ALBACETE, ESPAÑA

Más allá de la conocida participación de los astrocitos en mantener la homeostasis de las neuronas gracias a la regulación local de las concentraciones de iones y sustancias neuroactivas, la posible intervención de los astrocitos en la comunicación neuronal durante la hipoxia no está determinada. En el presente trabajo hemos estudiado el papel de los astrocitos en la modulación de la transmisión sináptica excitadora durante la hipoxia en neuronas piramidales de CA1, empleando rodajas de hipocampo. Nuestros datos indican que la hipoxia provoca una disminución de las corrientes excitadoras postsinápticas (EPSC) a través de receptores presinápticos de adenosina tipo A1. La perfusión de las rodajas de hipocampo con fluorocitrato, un inhibidor metabólico específico de glía, fue tan efectivo como los antagonistas del receptor de adenosina tipo A1 en mantener la eficacia de la transmisión sináptica excitadora durante la hipoxia. Este hallazgo fue confirmado en cultivos puros de astrocitos, donde la hipoxia produjo un incremento en la concentración de adenosina que fue abolido por el tratamiento con fluorocitrato. Estudios en rodajas de hipocampo y cultivos puros de astrocitos demostraron que durante los episodios de hipoxia, la adenosina es liberada *per se* y no proviene de la conversión extracelular de ATP o cAMP. El uso de los inhibidores del transporte de adenosina no modifica la reducción de los EPSC ni la concentración de adenosina liberada en los cultivos. Durante la hipoxia, la actividad sináptica excitadora es modulada presinápticamente por adenosina liberada desde los astrocitos a través de un mecanismo independiente de transportador.

P387 MODIFICACIÓN DE LA DINÁMICA NEURONAL BAJO EXPOSICIÓN A CAMPOS MAGNÉTICOS DE FRECUENCIA EXTREMADAMENTE BAJAR. PÉREZ BRUZÓN^A, R. PÉREZ BRUZÓN^B, C. MAESTÚ^C, V. LÓPEZ^C, A. DEL MORAL^D, M. J. AZANZA^E, A. DEL MORAL^F^A FUNDACIÓN HUMANISMO Y CIENCIA. FACULTAD DE MEDICINA. ^B FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. ZARAGOZA. ^C INVESTIGACIÓN. FUNDACIÓN HUMANISMO Y CIENCIA. MADRID. ^D LABORATORIO DE MAGNETISMO DE SÓLIDOS. ^E LABORATORIO DE MAGNETISMO. FACULTAD DE CIENCIAS. ZARAGOZA, ESPAÑA

Campos magnéticos sinusoidales (AMF) de frecuencia extremadamente baja (ELF) (0,1-217 Hz) con intensidades entre 1-15 mT, modifican la actividad bioeléctrica neuronal (1). Los registros electrofisiológicos se realizan a temperatura ambiente, en tiempo real, desde neuronas individuales de los ganglios cerebroides de *Helix aspersa*. Se utilizan microelectrodos de vidrio (diámetro de punta menos de 1 mm, consistencia de 2-20 MO, rellenos de acetato de potasio 1M). Los ganglios subesofágicos se sumerge en solución Ringer de moluscos (NaCl 80 mM, KCl 4 mM, CaCl₂ 7 mM, MgCl₂ 5 mM, enriquecida con 10 mM de ácido pirúvico, tampón TRIS-HCl 5 mM, pH = 8). La muestra se disponen el centro de dos carretes de Helmholtz (11 cm de diámetro separados entre sí 5,5 cm). En registros desde neuronas individuales la modificación de la actividad bioeléctrica es máxima cuando la frecuencia del CM está próxima a la espontánea neuronal (2). Hemos registrado actividad oscilatoria y de reclutamiento (1) que, en registros simultáneos desde pares de neuronas escogidas al azar, evolucionan a una actividad típica de sincronización (3). En este trabajo se ha profundizado en la dinámica neuronal y en la génesis de la sincronización, poniéndose de manifiesto la activación de redes neuronales elementales bajo exposición a campo magnético. Se ha desarrollado un modelo físico que explica los resultados obtenidos.

P388. MODULACIÓN POR SEROTONINA DE LAS RESPUESTAS SINÁPTICAS EXCITADORAS EVOCADAS POR FIBRAS CALLOSAS SOBRE NEURONAS CORTICALES EN EL RATÓNJ. A. TROCA-MARÍN^A, E. GEJO-BARRIENTOS^B^A UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. UMH-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ^B UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI2002-03467

Las fibras del cuerpo calloso forman conexiones sinápticas excitadoras sobre las neuronas del neocórtex. Hemos estudiado estas respuestas sinápticas y su modulación por serotonina (5-HT) en rodajas de corteza frontal de *ratón in vitro* (300 micras de grosor). Las corrientes sinápticas excitadoras (EPSC) evocadas por fibras callosas se han registrado mediante *whole cell patch-clamp* (en presencia de 5 microM de bicuculina) en neuronas piramidales y no piramidales identificadas visualmente. La 5-HT y los agonistas serotoninérgicos se aplicaron disueltos en la solución extracelular. En 19 neuronas, la 5-HT (40 microM) produjo un aumento reversible de la amplitud de las EPSC callosas en 6 neuronas (control 28,8 ± 7,4 pA; 5-HT 67,4 ± 14,6 pA; media ± se; $p < 0,05$), una disminución en otras 6 neuronas (control 23,8 ± 4,4 pA; 5-HT 14,3 ± 2,2 pA; $p < 0,05$) y no tuvo efecto en las restantes. Para estudiar los receptores de 5-HT implicados en estos efectos utilizamos agonistas específicos de los receptores 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT) y 5-HT_{2A} (DOI). El 8-OH-DPAT (10 microM) produjo una disminución de las EPSC callosas en 4 de 14 neuronas (de 34,2 ± 7,1 pA a 16,0 ± 2,6 pA; $p = 0,05$) y no tuvo efecto sobre el resto de las neuronas. El DOI (10 microM) produjo un aumento de las EPSC callosas en 4 de 15 neuronas (de 22,4 ± 5,0 pA a 32,5 ± 5,7 pA; $p < 0,005$) y no tuvo efecto sobre el resto de las neuronas. Estos resultados muestran que la 5-HT modula las sinapsis corticocorticales contralaterales mediante receptores de tipo 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} y que estos receptores parecen tener un efecto contrapuesto sobre estas respuestas sinápticas.

P389. ESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES DE LA CORTEZA CEREBRAL DEL RATÓN: VARIACIONES ENTRE ÁREAS CORTICALESR. BENAVIDES-PICCIÓN^A, F. HAMZEI-SICHANI^B, I. BALLESTEROS-YAÑEZ^A, J. DEFELIPE^A, R. YUSTE^B^A NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. INSTITUTO CAJAL. MADRID, ESPAÑA. ^B DEPT. BIOLOGICAL SCIENCES. COLUMBIA UNIVERSITY. NUEVA YORK, ESTADOS UNIDOS

Estudios recientes en primates han demostrado que la estructura de las células piramidales varía entre áreas corticales y especies. En particular, estos estudios muestran que tanto el tamaño como la complejidad de los árboles dendríticos, así como la densidad, y número total de sus espinas dendríticas varía enormemente.

Sin embargo, se desconoce si esta diferenciación de las células piramidales es única de los primates o por el contrario es común a otras especies de mamíferos. En el presente estudio se ha investigado la estructura dendrítica de 90 células piramidales de la capa III de la corteza frontal, temporal y occipital del ratón utilizando, por primera vez, un análisis multidimensional de más de 150 variables morfológicas. Este análisis prueba, de acuerdo con los estudios previos realizados en primates, que la morfología dendrítica es característicamente distinta en diferentes áreas corticales. Además, este estudio muestra que estas diferencias no están relacionadas con la posición física de la neurona en la corteza, por lo que no se podrían explicar asumiendo gradientes rostrocaudales. Estos resultados sugieren que cada área cortical está formada por componentes neuronales específicos.

P390. DISTRIBUTION OF SYNAPTObREVIN/VAMP 1 AND 2 IN RAT BRAINA. RAPTIS RODRÍGUEZ^A, B. TORREJÓN ESCRIBANO^B, I. GÓMEZ DE ARANDA^A, J. BLASI CABÚS^A^A DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y TERAPÉUTICA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE MEDICINA - UNIVERSIDAD DE BARCELONA (CAMPUS DE BELLVITGE). L'HOSPITALET DELLOBREGAT (BARCELONA). ^B SERVEIS CIENTÍFIC-TÈCNICS. CAMPUS DE BELLVITGE. UNIVERSIDAD DE BARCELONA. LEIOA, BIZKAIA, ESPAÑA

The synaptobrevin/VAMP family of proteins, which are essential for neurotransmitter release, are the vesicle donor SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein (SNAP) receptor) proteins first described in synaptic vesicles at nerve terminals. Two synaptobrevin/VAMP isoforms are involved in calcium-dependent synaptic vesicle exocytosis, synaptobrevin/VAMP 1 and synaptobrevin/VAMP 2. However, the functional significance of these two highly homologous isoforms remains to be elucidated. Here we used immunohistochemical, immunofluorescence and confocal microscope techniques to localize the two synaptobrevin/VAMP isoforms in rat brain areas, particularly in nerve terminals. Our results show that the two isoforms are present in the rat central nervous system and that their expression overlaps in some areas. However, a distinct distribution pattern was detected. Synaptobrevin/VAMP 2 is the most abundant isoform in the rat brain and is widely distributed. Although synaptobrevin/VAMP 1 is less abundant, it is the main isoform in particular brain areas (e.g. zona incerta at the subthalamus or nerve terminals surrounding thalamic neurons). The colocalization of synaptophysin with synaptobrevin/VAMP 1 demonstrates the presence of this isoform in subsets of nerve terminals. These results indicate that each synaptic vesicle donor SNARE protein isoform could have a specialized role in the neurosecretory process.

P391. LA ALFA-SINUCLÉINA ESTÁ INVOLUCRADA EN LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA A NIVEL DE LAS CAPAS PLEXIFORMES EXTERNA E INTERNA DE LA RETINA DE VERTEBRADOSA. ANGULO^A, J. MARTÍN-NIETO^B, G. MARTÍNEZ-NAVARRETE^C, M. T. HERRERO^D, N. CUENCA^C^A DEPARTAMENTO INTERUNIVERSITARIO DE ÓPTICA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA. ^C DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ALICANTE. ALICANTE. ^D DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA HUMANA Y PSICOBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI2003-01404, GV04B/452, ONCE, FUNDALUCE

Objetivos. La alfa-sinucleína es una proteína de amplia expresión en el SNC involucrada en la transmisión sináptica y en la plasticidad neuronal. Esta proteína presináptica constituye el componente mayoritario de los cuerpos de Lewy característicos de la enfermedad de Parkinson y varias demencias, atribuyéndosele un papel importante en la neurodegeneración. El objetivo de este estudio es determinar la presencia y distribución de la alfa-sinucleína en la retina de distintos vertebrados. **Métodos.** Se han utilizado técnicas de *immunoblotting* e inmunofluorescencia para determinar la presencia y localización de la alfa-sinucleína en extractos de retina y sobre cortes de criostato y secciones ultrafinas. Se realizaron inmunotinciones dobles o triples para identificar los tipos neuronales específicos que expresan esta proteína. **Resultados.** De entre las diversas fracciones oculares analizadas mediante *immunoblotting*, se detectó expresión de alfa-sinucleína en la retina neural en todas las especies analizadas. Esta proteína se localiza en los fotorreceptores, tanto conos como bastones, especialmente en los discos de sus segmentos externos y en las cintillas sinápticas de sus axones terminales. También se expresa alfa-sinucleína en los somas de células amacrin y bipolares, así como en sus terminales dendríticos localizados en la capa plexiforme interna. **Conclusiones.** La alfa-sinucleína puede estar implicada en la formación de los discos de los segmentos externos de los fotorreceptores y en la transmisión sináptica a nivel de sus axones terminales. También interviene en la transmisión sináptica en la capa plexiforme interna, jugando un papel en la formación o reciclaje de las vesículas presinápticas.

P392. ESTUDIO DE LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA EN LA UNIÓN NEUROMUSCULAR EN UN MODELO ANIMAL DE ATROFIA MUSCULAR ESPINAL

R. RUIZ LAZA, L. TABARES DOMÍNGUEZ

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

Los ratones *nmd* (*neuromuscular degeneration*) presentan una mutación espontánea autosómica con carácter recesivo en el gen denominado *Ighmbp2* (*immunoglobulin m-binding protein 2*). El fenotipo de estos ratones se asemeja en gran medida a la atrofia muscular espinal en humanos (SMA) caracterizada por debilidad muscular progresiva de las extremidades de origen neurogénico, debida a la pérdida de motoneuronas inferiores, lo que conlleva a una disfunción motora grave y muerte prematura. La identificación del gen causante del fenotipo en ratones *nmd* ha sido muy útil para la posterior identificación en el genoma humano del gen causante de uno de los tipos clínicos de SMA en humanos, denominado atrofia muscular espinal con distrés respiratorio (SMARD). Nosotros estamos estudiando este modelo animal *in vitro* mediante técnicas electrofisiológicas y de imagen para comprender mejor la transmisión sináptica en la unión neuromuscular y los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en ésta enfermedad. La cuantificación del tamaño de las placas motoras mediante bungarotoxina-rodamina mostraron una menor superficie de receptores nicotínicos postsinápticos en los animales mutantes ($389 \pm 29 \text{ mm}^2$, $n = 28$ fibras, 2 animales) en relación con los controles ($502 \pm 32 \text{ mm}^2$, $n = 14$ fibras, 2 animales). La frecuencia y el tamaño de los potenciales espontáneos miniatura parecen no estar afectados en los mutantes. La actividad evocada, sin embargo, presenta una serie de alteraciones compatible con un defecto en la neurotransmisión.

P393. SINAPTOLOGÍA DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE LA CORTEZA VISUAL DE RATÓN ADULTO

J.I. ARELLANO CABORNERO^A, A. B. ESPINOSA MARTÍNEZ^B, A. FAIRÉN^B, R. YUSTE^C, J. DEFELIPE^D

^A DEPARTAMENTO DE NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. ^B DEPARTAMENTO DE NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. INSTITUTO CAJAL (CSIC), MADRID. ^C NEUROBIOLOGÍA DEL DESARROLLO. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. ALICANTE. ^D DEPT. OF BIOLOGICAL SCIENCES. COLUMBIA UNIVERSITY. NUEVA YORK, ESPAÑA

Las espinas dendríticas son apéndices que cubren las dendritas de las neuronas principales de la corteza cerebral: células piramidales y células estrelladas con espinas. Los estudios de microscopía electrónica de la neocorteza han descrito tradicionalmente que las espinas dendríticas establecen una sinapsis asimétrica (excitadora), y aproximadamente un 20% de ellas recibe además otra sinapsis que puede ser asimétrica o simétrica (inhibidora). Esta hipótesis es hoy ampliamente aceptada, aunque hasta la fecha no se ha analizado de forma sistemática si todas las espinas dendríticas de la neocorteza establecen sinapsis, o si existen espinas que no presentan sinapsis. En el presente estudio hemos analizado esta cuestión en la corteza visual de ratones adultos (8-12 semanas), a partir del análisis al microscopio electrónico de secciones seriadas de dendritas teñidas con Golgi virado al oro. Se han reconstruido 121 espinas de células piramidales de capa II-III: 90 de ellas pertenecientes a dendritas basales y 31 a la dendrita apical. Los resultados muestran que 3 espinas basales y 4 apicales no presentan sinapsis, indicando en conjunto que un 5,8% de las espinas dendríticas no establecen contactos sinápticos. Considerando que una célula piramidal de capa II-III en la corteza visual de ratón presenta aproximadamente 3.000-5.000 espinas, nuestros resultados indican que cada neurona dispondría de entre 150-250 espinas dendríticas no sinápticas. La existencia de estas espinas no sinápticas sugiere que pueden estar disponibles para el establecimiento de nuevas conexiones sinápticas, un fenómeno que podría estar relacionado con procesos de aprendizaje y memoria.

P394. HUMAN AUTOANTIBODIES AGAINST EARLY ENDOSOME ANTIGEN-1 (EEA1) MODIFY SYNAPTIC TRANSMISSION

S. SELAK, A. V. PATERNAIN, J. LERMA

UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, CSIC-UMH. SAN JUAN DE ALICANTE. ALICANTE, ESPAÑA

Previous studies have shown that patients bearing autoantibodies directed against early endosome antigen 1 (EEA1) develop neurological deficits. EEA1 is a peripheral membrane protein associated with the cytoplasmic face of early endosome and is a key factor controlling vesicle fusion during endocytosis. Although the role of EEA1 in endocytosis of non-neuronal cells has been extensively studied, very little is known about the function of this protein in the nerve tissue. In the neuronal cells, early endosomes are present at both pre-synaptic and post-synaptic nerve terminals where they seem to be involved in recycling of synaptic vesicles and neurotransmitter receptors. To investigate the role of EEA1 antibodies in neurotransmission, we have

purified immunoglobulins from a serum of a patient with neurological disease and a high titer of EEA1 autoantibodies. Electrophysiological recordings of neurons in mouse hippocampal slices were carried out including in the pipette solution containing the purified EEA1 antibodies or the immunoglobulins isolated from a normal human serum. The inclusion of EEA1 antibodies produced a run-up of EPSC recorded from both CA1 and CA3 pyramidal neurons, which was absent in the recordings obtained in the presence of control human immunoglobulins or in the absence of antibodies. In contrast, inclusion of EEA1 antibodies had no effect on inhibitory synaptic responses. This specific effect on excitatory synaptic transmission may be due to the impairment of internalization of specific glutamate receptors and their subsequent accumulation in the synapse. These results may account for the observed neurological deficits.

P395. INTEGRACIÓN DE ESPIGAS DENDRÍTICAS Y SU PAPEL EN LA DECISIÓN DE SALIDA EN CÉLULAS PIRAMIDALES DE CA1 DURANTE ACTIVACIÓN SINCRÓNICA: ESTUDIO COMPUTACIONAL

J. M. IBARZ DEL OLMO^A, I. MAKAROVA^B, Ó. HERRERAS^A

^A DEPT. DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID. ^B FACULTAD DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

El inicio y propagación de espigas dendríticas modifica radicalmente el concepto de integración postsináptica y cuestiona el sitio de toma de decisión de salida celular [1]. Su fuerte comportamiento no lineal las hace muy dependientes de factores experimentales. Hemos realizado un estudio paramétrico para explorar cómo diferentes variables interaccionan durante su inicio y su relación con la salida axonal en un modelo piramidal de CA1 calibrado experimentalmente. Se realizó un análisis cruzado entre el patrón de entrada, excitabilidad relativa de axón y dendritas, presencia y modulación de canales iónicos e inhibición. Corrientes subumbral y espigas se generan tanto en ramas activadas sinápticamente como en otras, cuya integración local produce diferentes modalidades de activación del tronco apical con impacto variable en la salida axónica. La activación sincrónica generó espigas en un número variable de ramas que, en el eje tronco-soma-axón, produjeron una espiga no propagada, pseudosaltatoria, conducción continua (*feed-forward*), o retropropagada (*backpropagation*). Sin embargo, el modo varió enormemente cuando se analizan dos o más variables, hasta hacerse impredecible. La agrupación de entradas en dendritas cercanas y la modulación favorable de la electrogénesis de Na^+ o Ca^{++} favorecen la decisión apical, mientras que la inhibición cambia la decisión de salida al axón y conmuta entre modos de disparo dendrítico. Proponemos que las dendritas actúan como discriminadores de entradas capaces de generar salida inmediata durante algunos pero no otros patrones de entrada, para lo cual es necesaria cierta sincronización. [1] Canals et al, J Neurophysiol 2005; 93: 909-18.

P396. LA FACILITACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GLUTAMATO MEDIADA POR LA ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE KAINATO INVOLUCRA A LA PROTEÍNA QUINASA A EN EL HIPOCAMPO DE LA RATA

A. RODRÍGUEZ MORENO, T. SIHRA

DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY. UNIVERSITY COLLEGE LONDON. LONDRES, REINO UNIDO

FINANCIACIÓN: WELLCOMETRUST(SIHRA) Y EMBO(RODRÍGUEZ-MORENO)

Se han explorado los mecanismos involucrados en la facilitación de la liberación de glutamato mediada por la activación de receptores de kainato. Se han realizado experimentos tanto en sinaptosomas como en rodajas de hipocampo. En sinaptosomas, la aplicación de distintas concentraciones de kainato (10-300 μM) en presencia de SYM2206, produjo un aumento de la liberación de glutamato y en ningún caso se observó una disminución en la misma. En rodajas, concentraciones nanomolares de kainato produjeron un aumento de la liberación de glutamato. Para descartar la posibilidad de que el efecto de kainato sobre la liberación de glutamato se produjera de forma indirecta por la activación de otro tipo de receptores, se llevaron a cabo los experimentos en presencia de un cóctel de sustancias que bloquean los receptores que pudieran mediar este efecto. Kainato fue igualmente efectivo en aumentar la liberación de glutamato. En presencia de CNQX, el efecto de kainato fue impedido. El aumento de la liberación de glutamato en rodajas y en sinaptosomas, mediado por la activación de los receptores de kainato fue ocluido por la estimulación de la adenilato ciclasa y suprimido por la inhibición de la proteína cinasa A. Estos resultados indican que los receptores de kainato presentes en los terminales presinápticos del hipocampo median la facilitación de la liberación de glutamato mediante un mecanismo que conlleva la activación de una cascada que involucra la adenilato ciclasa, aumento de cAMP y activación de la proteína cinasa A.

P397. LA PROTEÍNA CINASA A PARTICIPA EN LA INHIBICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GLUTAMATO MEDIADA POR LA ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE KAINATO EN LAS FIBRAS MUSGOSAS DE HIPOCAMPOJ. V. NEGRETE-DÍAZ, J. M. DELGADO-GARCÍA, A. RODRÍGUEZ-MORENO
DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFI2002-00936 DEL MCYT

Los receptores de glutamato de tipo kainato están presentes en las fibras musgosas del giro dentado del hipocampo, donde modulan la liberación de glutamato. En este estudio se han explorado, en rodajas de hipocampo, los mecanismos que participan en la inhibición de la liberación de glutamato por las fibras musgosas, mediada por la activación de los receptores de kainato. En estas rodajas de hipocampo, la aplicación de kainato produjo una disminución de la amplitud media de las corrientes excitadoras postsinápticas (EPSC) a concentraciones que variaron de 1 a 100 μ M. El análisis del coeficiente de variación (CV) indica un mecanismo presináptico de acción para estos receptores. El efecto de kainato fue antagonizado por CNQX y persistió tras el pretratamiento de las rodajas con un cóctel de antagonistas para receptores cuya activación podría potencialmente mediar la inhibición de la liberación de glutamato observada. Los resultados obtenidos indican que la inhibición de la liberación de glutamato observada es mediada por la activación de receptores presinápticos de glutamato, de tipo kainato. Esta acción de kainato fue suprimida por la inhibición de la proteína cinasa A, mediante H-89 o Rp-cAMP. Estos resultados permiten concluir que los receptores de kainato presentes en los terminales presinápticos en el hipocampo median la inhibición de la liberación de glutamato mediante un mecanismo que involucra a la proteína cinasa A.

P398. MEDIDA EN TIEMPO REAL DE LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA EN LA PLACA NEUROMUSCULAR MEDIANTE IMAGEN DINÁMICAL. TABARES^A, R. RUIZ^A, P. LINARES^A, R. FERNÁNDEZ-CHACÓN^B, G. ALVAREZ DE TOLEDO^A^A DEPARTAMENTO FISIOLÓGICA MÉDICA Y BIOFÍSICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA. ^B DEPARTAMENTO FISIOLÓGICA MÉDICA Y BIOFÍSICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA. SEVILLA, ESPAÑA

Hemos medido en tiempo real el ciclo de las vesículas sinápticas en la placa neuromuscular *in vitro* mediante imagen cuantitativa, en ratones transgénicos que expresan *synaptopHluorin* (spH). SpH es una construcción de la proteína vesicular sináptica *synaptobrevin*, y la proteína fluorescente sensible a pH (pHluorin). SpH emite fluorescencia cuando se expone al pH del medio extracelular (~7,4) y deja de emitir cuando el interior de la vesícula se acidifica (~5,5). La medida de distintos parámetros electrofisiológicos de la transmisión sináptica en ratones que expresan spH no mostraron ninguna diferencia en el tamaño cuántico o la probabilidad de liberación con los controles. La estimulación del terminal nervioso mediante trenes de potenciales de acción a distintas frecuencias (10-100 Hz) produjo la aparición de fluorescencia en determinadas áreas del terminal presináptico, de intensidad proporcional a la intensidad y duración de la estimulación. Paralelamente hubo un incremento progresivo de la superficie fluorescente en el terminal. Tras la finalización del tren de estimulación se produjo una disminución progresiva de fluorescencia hasta llegar a los niveles basales preestimulación, correspondiente a la internalización y acidificación posterior de las vesículas sinápticas. El estudio de la amplitud y cinética de estas respuestas nos está permitiendo medir la tasa de exocitosis y endocitosis de forma simultánea, así como, el tamaño de la población de vesículas que se movilizan con la estimulación.

P399. DENSIDAD Y MORFOLOGÍA DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES DE LA CORTEZA CEREBRAL DEL RATÓNI. BALLESTEROS YÁÑEZ^A, R. BENAVIDES PICCIONE^B, G. N. ELSTON^C, R. YUSTE^D, J. DEFELIPE^E^A NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. ^B NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. INSTITUTO CAJAL, CSIC. MADRID. ^C VISION, TOUCH AND HEARING RESEARCH CENTRE. THE UNIVERSITY OF QUEENSLAND. QUEENSLAND, AUSTRALIA. ^D DEPT. OF BIOLOGICAL SCIENCES. COLUMBIA UNIVERSITY. NEW YORK. ^E NEUROANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. INSTITUTO CAJAL. MADRID, ESPAÑA

Las espinas dendríticas fueron descritas por primera vez por Cajal en 1888 como estructuras que sirven para la conexión entre axones y dendritas. Desde entonces numerosos investigadores han estudiado la morfología, densidad, conexiones sinápticas, plasticidad y función de las espinas. Recientemente, se han encontrado diferencias significativas en densidad y número total de espinas de las células piramidales en distintas áreas corticales y especies, principalmente de primates. Estos estudios sugieren diferencias funcionales de las células piramidales en las

distintas áreas corticales. En el presente estudio hemos analizado la densidad y morfología de las espinas dendríticas en distintas áreas corticales del ratón. Para ello hemos examinado alrededor de 17000 espinas dendríticas procedentes de 90 dendritas basales de neuronas piramidales de la capa III de la corteza frontal (área M2), temporal (A1/S2) y occipital (V1M/V1B). Al contrario de lo que sucede en primates, la densidad de las espinas dendríticas en las tres áreas corticales analizadas del ratón permanece constante, sin embargo, encontramos diferencias en su morfología por áreas, siendo las espinas dendríticas de la corteza frontal de mayor tamaño que las de la corteza temporal y éstas a su vez más grandes que las de la corteza occipital. Estos datos indican que, en la corteza cerebral del ratón, existen aspectos de la estructura de la célula piramidal que varían en función del área (morfología de las espinas), mientras que otros permanecen constantes (densidad de espinas). Estas diferencias podrían estar relacionadas con las diferencias en el procesamiento de información entre áreas corticales y especies.

PLASTICIDAD SINÁPTICA

P400. PLASTICIDAD SINÁPTICA EN SINAPSIS DE LA AMÍGDALA CENTRAL QUE EXPRESAN RECEPTORES DE NMDA CON SUBUNIDADES NR2BM. LÓPEZ DE ARMENTIA, FERNÁNDEZ DE TROCÓNIZ^A, P. SAH^B^A QUEENSLAND BRAIN INSTITUTE. ^B QBI, THE UNIVERSITY OF QUEENSLAND, BRISBANE, AUSTRALIA

Los receptores de NMDA juegan un papel importante en fenómenos de plasticidad sináptica. Recientemente se ha sugerido que las diferentes subunidades que forman el receptor de NMDA participan en distintas formas de plasticidad sináptica. Las neuronas del sector central de la amígdala (CeL) expresan receptores sinápticos de NMDA formados por subunidades NR2B. En este trabajo estudiamos fenómenos de potenciación (LTP) y depresión (LTD) sináptica a largo plazo en neuronas de CeL. En rodajas de cerebro de rata mantenidas *in vitro* se registró la actividad eléctrica con un equipo de *patch clamp*, en la modalidad de *whole cell*. La activación tetánica de las aferencias provenientes del núcleo paraquial producía LTP que no era dependiente de receptores de NMDA, ni de un incremento de calcio postsináptico. La LTP conllevaba una reducción en la facilitación de pulsos pareados (PPF) lo que sugería un incremento en la probabilidad de liberación de neurotransmisor presináptico. La activación de la adenil ciclasa con forskolina potenciaba la respuesta sináptica produciendo una reducción similar en PPF. La LTP quedaba ocluida por la forskolina y se inhibía con H89 un bloqueante de la proteína cinasa A. La estimulación a baja frecuencia de estas aferencias producía LTD que era dependiente de receptores de NMDA y elevación del calcio postsináptico. No había cambios en la PPF tras la inducción de LTD y ésta se inhibía con dos bloqueantes de la proteína fosfatasa, la calcicolina y el ácido ocaídoico. Las aferencias provenientes del núcleo paraquial en CeL muestran LTP presináptica y LTD postsináptica.

P401. INDUCCIÓN COLINÉRGICA DE POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO (LTP) EN SINAPSIS GLUTAMATÉRGICAS DE NEURONAS PIRAMIDALES DE CA1 DE HIPOCAMPO DE LA RATA

D. FERNÁNDEZ DE SEVILLA, M. FUENZALIDA, W. BUÑO

DEPARTAMENTO DE PLASTICIDAD NEURAL. INSTITUTO CAJAL. MADRID, ESPAÑA

La LTP en las sinapsis glutamatérgicas de hipocampo es un modelo universalmente aceptado en el estudio de los mecanismos de plasticidad sináptica que subyacen a ciertos tipos de memoria y aprendizaje. El hipocampo recibe proyecciones colinérgicas que juegan un papel fundamental en estos procesos cognitivos. Utilizando registros electrofisiológicos de *patch clamp* y fluorométricos de calcio (Ca^{2+}) intracelular en rodajas transversales de hipocampo de rata, hemos analizado el papel de la acetilcolina (ACh) en la inducción de LTP en neuronas piramidales de CA1. Las corrientes excitadoras postsinápticas (EPSC) fueron evocadas por estimulación eléctrica de las colaterales de Schaffer, siendo las sinapsis inhibitorias bloqueadas con picrotoxina. La aplicación somática focalizada de ACh (300 ms, 40 psi; picospritz) indujo; 1) un aumento en la concentración de Ca^{2+} intracelular, 2) una corriente de entrada y una inhibición presináptica transitorias seguidas de LTP. Pirenzepina, inhibidor específico de los receptores muscarínicos M1, bloqueó todos los efectos de ACh. La LTP y el aumento de calcio postsináptico se bloquearon con thapsigargina (liberador del Ca^{2+} intracelular), siendo resistentes a APV y MCPG (antagonistas de los receptores de glutamato de NMDA y metabotrópicos, respectivamente). Así, nuestros resultados indican que la ACh es capaz de inducir LTP en las sinapsis glutamatérgicas de CA1 por un mecanismo postsináptico, de origen muscarínico, que estaría mediado por la liberación de calcio desde el retículo endoplásmico.

P402. REGULACION DEL SPIKE TIMING DEPENDENT PLASTICITY POR LA HIPERPOLARIZACION LENTA POST-ESPIGA (SAHP)

M. FUENZALIDA, D. FERNÁNDEZ DE SEVILLA, W. BUÑO

DEPARTAMENTO PLASTICIDAD NEURAL. INSTITUTO CAJAL. MADRID, ESPAÑA

El sustrato neuronal del aprendizaje depende de los cambios en la eficacia de las conexiones sinápticas. De acuerdo con el postulado de Hebb, las sinapsis incrementan su eficacia cuando las neuronas conectadas son activadas simultáneamente. Estudios recientes han demostrado que la asociación entre la actividad pre y postsináptica puede inducir LTP o LTD dependiendo del orden temporal entre los potenciales de acción pre y postsinápticos. Este fenómeno es denominado *spike timing dependent plasticity* (STDP). Hemos investigado la regulación de la STDP, mediada por una conductancia de potasio dependiente de calcio, que genera una hiperpolarización lenta postespiiga (sAHP). Utilizando registros de *patch-clamp* en soma y dendrita de neuronas piramidales de CA1 del hipocampo, generamos LTP o LTD, apareando un potencial postsináptico excitatorio (EPSP) con un potencial de acción retropropagado evocado por la inyección de corriente en el soma. Hemos observado un bloqueo de la inducción de LTP y LTD cuando el STDP se indujo durante la sAHP. Además, el STDP generado durante la sAHP es capaz de revertir el LTP en sinapsis recientemente potenciadas. Nuestros resultados indican, que la sAHP puede jugar un papel importante en la regulación de la ventana temporal de coincidencia entre el EPSP y el potencial de acción postsináptico determinando la polaridad y flexibilidad de las conexiones sinápticas.

P403. ALTERACIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN POR BETA-AMILOIDE: IMPLICACIÓN DE MECANISMOS DE SUSCEPTIBILIDAD SINÁPTICA

J. SANTOS TORRES, A. DE LA FUENTE JUAN, J.M. CRIADO GUTIERREZ, A. SANCHEZ RIOLOBOS, V. GÓMEZ BAUTISTA, J. YAJEYA PÉREZ

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

Los depósitos fibrilares de β -amiloide son uno de los principales marcadores histopatológicos en la enfermedad de Alzheimer, sin que se hayan esclarecido aun los mecanismos celulares y moleculares que los inducen. En el presente estudio se ha evaluado el efecto del péptido β -amiloide sobre la respuesta sináptica excitatoria evocada a nivel del área septal medial en rodajas de cerebro de rata utilizando la técnica de voltaje clamp en la configuración de *whole cell*. La estimulación con intensidades subumbrales en la banda diagonal de Broca genera en las neuronas del septum medial una corriente excitatoria postsináptica (EPSC) que se bloquea con antagonistas para glutamato (CNQX, APV). La aplicación de β -amiloide (1-4 μ M) deprime la respuesta sináptica ($p < 0,01$) sin modificar las características del potencial de acción. Sin embargo, la depresión de EPSC no se observó en todos los casos, lo que sugiere la implicación de factores de susceptibilidad sináptica, no asociada a la transmisión glutamatérgica. La perfusión con bloqueantes muscarínicos (atropina y/o pirenzepina) bloqueó en el 65% de los casos el efecto depresor del β -amiloide, sugiriendo la implicación de los receptores muscarínicos entre los factores que median la sensibilidad sináptica al péptido. Estos resultados apoyarían la hipótesis que sugiere que los déficits cognitivos en las primeras fases del desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, antes de la formación de placas amiloides, podrían asociarse a la alteración sináptica glutamatérgica.

P404. EFECTO SUPRESOR DEL PÉPTIDO β -AMILOIDE SOBRE LA RESPUESTA COLINÉRGICA EVOCADA EN EL COMPLEJO BASOLATERAL AMIGDALINOJ. M. CRIADO GUTIÉRREZ^A, A. DE LA FUENTE JUAN^B, S. ASHENAFI ASAMINEW^B, J. SANTOS TORRES^B, M. HEREDIA CHONS^B, J. YAJEYA^C^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLÓGÍA; FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. SALAMANCA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLÓGÍA; FACULTAD DE MEDICINA. ^C PÉREZ. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

La acumulación del péptido β -amiloide juega un papel fundamental en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer. Numerosos estudios demuestran una clara correlación entre esta enfermedad y el acúmulo del péptido en el SNC, siendo la amígdala una de las primeras estructuras en afectarse. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio sugieren que el β -amiloide afecta la transmisión glutamatérgica a través de los canales de calcio voltaje dependientes. Otros autores, sin embargo, sostienen que su efecto se realiza a través de receptores muscarínicos. Con el fin de evaluar esta posibilidad hemos utilizado la técnica de registro intracelular, en la modalidad de fijación de corriente, en rodajas de amígdala obtenidas de ratas adultas. La estimulación a alta frecuencia (200 Hz, 100 ms) de

la cápsula externa genera en las neuronas amigdalinas una despolarización sostenida que presenta una duración mayor de 150s, y una amplitud variable que depende de la frecuencia y la duración del estímulo. En todos los casos, la duración de la respuesta sobrepasa la duración del tren. La despolarización postestímulo no se bloqueó con CNQX-APV y si lo fue con atropina (1,5 μ M) y pirenzepina (0,5 μ M) lo cual la define como muscarínica. La perfusión con β -amiloide a concentraciones 0,8-1 μ M también bloqueó la despolarización. Estos resultados sugieren una posible participación de los receptores muscarínicos en el efecto del péptido sobre la transmisión glutamatérgica.

P405. CARACTERIZACIÓN ELECTROFISIOLÓGICA DEL HIPOCAMPO EN UN MODELO DE RATA IN VIVO DURANTE PRUEBAS DE APRENDIZAJE ASOCIATIVO Y LTD

M.F. VALENZUELA HARRINGTON, J.M. DELGADO GARCÍA, A. GRUART I MASSÓ

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

En el contexto de aprendizaje asociativo, se sabe que el hipocampo establece una estrecha comunicación con otras zonas corticales sensoriomotoras y prefrontales, tanto en el proceso de adquisición como en el de consolidación de la información. El objeto del presente trabajo ha sido estudiar el procesamiento de la información neural que tiene lugar en el hipocampo en un modelo de aprendizaje asociativo como el condicionamiento clásico del reflejo palpebral. Se implantaron en 20 ratas crónicamente electrodos de estimulación en la vía perforante y electrodos de registro en el giro dentado, CA3 y CA1 del mismo lado. Además, se implantaron electrodos periféricos de estimulación en la rama supraorbitaria del nervio trigémino y electrodos de registro en el músculo orbicular de los párpados. Las ratas se sometieron a sesiones de condicionamiento, que consistieron en la presentación de 60 estímulos condicionados (CS, un tono de 20 ms) y 500 ms después un choque eléctrico como estímulo incondicionado (US, pulso catódico de 0,5 ms). Las sesiones fueron 4 días de habituación, 10 de condicionamiento y 5 de extinción. Se registró la evolución de los potenciales sinápticos evocados en giro dentado, CA3 y CA1 por estimulación de la vía perforante, durante las sesiones de condicionamiento. Los resultados preliminares indican la presencia de una transformación de la información neural durante el aprendizaje en los distintos sitios del hipocampo. Además, el modelo experimental permitió el empleo de fármacos (Ro-25 6981) que bloquean de manera selectiva tanto el aprendizaje asociativo como pruebas electrofisiológicas de inducción de LTD.

P406. PARTICIPACIÓN DE LA SINAPSIS ENTRE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES DE CA3 Y CA1 EN LA ADQUISICIÓN DE APRENDIZAJE ASOCIATIVO EN EL RATÓN DESPIERTOJ.M. DELGADO GARCÍA^A, M.D. MUÑOZ^B, A. GRUART^A^A DIVISIÓN DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA.^B DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID, ESPAÑA

Una propiedad del sistema nervioso central es su capacidad para transformar la actividad funcional de contactos sinápticos determinados durante la adquisición y almacenamiento de nuevas habilidades motoras y/o cognitivas. En ratones despiertos hemos estudiado los cambios dependientes de actividad neuronal que tienen lugar en la sinapsis entre CA3 y CA1 del hipocampo durante la adquisición, extinción, rememoración y recondicionamiento de una prueba de aprendizaje asociativo. Los animales ($n = 120$) se implantaron con electrodos de registro EMGráfico del músculo orbicular de los párpados y electrodos de estimulación y registro en las colaterales de Schaffer y en el *stratum radiatum* de CA1. Se realizó el condicionamiento clásico del reflejo corneal mediante un paradigma de traza. Para ello, se presentó un tono durante 20 ms (EC), seguido 500 ms más tarde por un choque eléctrico aplicado al nervio supraorbitario (EI). Durante el condicionamiento se aplicó un pulso en las colaterales de Schaffer, 300 ms después de la presentación del EC. Se indujo potenciación a largo plazo (LTP) en momentos distintos de las pruebas de aprendizaje y se administró CGP 39551 (antagonista NMDA) durante la inducción de LTP o durante el condicionamiento. Resultados: i) el potencial de campo inducido en CA1 por estimulación de las colaterales de Schaffer aumenta linealmente con el aprendizaje; ii) la LTP impide el aprendizaje; y iii) la administración de CGP impide los dos fenómenos anteriores. Se presenta evidencia experimental in vivo de que la LTP, la plasticidad sináptica dependiente de actividad y el aprendizaje asociativo están íntimamente relacionados.

P407. LA POLIADP RIBOSILACIÓN DE PROTEÍNAS ES NECESARIA PARA LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA EN MAMÍFEROS

A.M. CARRIÓN, A. FONTÁN-LOZANO, J.M. DELGADO-GARCÍA
UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

La poliADP ribosilación de proteínas es un proceso muy conservado durante la evolución animal. Este proceso es realizado por las polimerasas de ADP ribosa (PARP). De estas polimerasas la más ampliamente conservada entre especies es la PARP-1. Hasta la fecha el proceso de poliADP ribosilación ha sido observado durante la muerte celular programada así como en procesos de remodelado cromatínico. Recientemente, la activación de PARP-1 ha sido descrita como un proceso necesario durante el aprendizaje de *Aplysia*. En nuestro laboratorio, hemos estudiado los niveles de poliADP ribosilación en diferentes áreas cerebrales durante las diferentes fases del aprendizaje de reconocimiento de objetos (RO) en ratones. Hemos detectado que tras los procesos de entrenamiento y reactivación la poliADP ribosilación de proteínas aumenta en hipocampo y en corteza peririnal, dos de las áreas relacionada con la memoria de RO. Además, ratones administrados con inhibidores de PARP-1 durante las diferentes fases del proceso de aprendizaje y memoria son incapaces de recordar o reactivar la memoria de RO. A nivel electrofisiológico, la base que subyace a los procesos de aprendizaje y memoria es la potenciación sináptica duradera (LTP). La inducción de LTP en hipocampo produce un aumento de la poliADP ribosilación. Por último, hemos estudiado el aprendizaje en ratones que carecen de PARP-1, hemos comprobado que aunque aprenden son incapaces de establecer memoria duradera de RO. Todos estos resultados indican que procesos relacionados con muerte celular, como la poliADP ribosilación, podrían estar implicado en el establecimiento de memorias duraderas.

P408. AUMENTO EN LA FUNCIONALIDAD DE CAMKII Y EN LA EXPRESIÓN DE SUBUNIDADES DEL RECEPTOR AMPA EN HIPOCAMPO DE RATA POR ANTAGONISTAS 5-HT1A. PAPEL EN LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

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

La serotonina (5-HT) tiene un importante papel en fenómenos de plasticidad sináptica asociados a procesos de aprendizaje y memoria. Es sabido que el antagonismo de receptores 5-HT1A previene déficits cognitivos inducidos por bloqueo colinérgico o de receptores NMDA, pudiendo incluso favorecer la retención de memoria. Sobre esta base, se planteó estudiar los efectos del bloqueo de receptores 5-HT1A sobre distintos eventos moleculares asociados a procesos cognitivos. La administración de los antagonistas 5-HT1A, WAY-100635 y NAN-190, indujo un rápido y significativo incremento en extractos de membranas de hipocampo de rata de los niveles de la forma fosforilada en Thr286 de CaMKII y de las actividades enzimáticas de CaMKII y PKA. A más largo plazo, se observó un aumento en la fosforilación de la subunidad AMPA GluR1 en Ser831 (sitio CaMKII) y Ser845 (sitio PKA). Estos efectos intrínsecos de los antagonistas 5-HT1A no se observaron en ratas con depleción previa de 5-HT por pretratamiento repetido con el inhibidor de triptófano-hidroxilasa, p-cloro-fenilalanina. Al analizar las subunidades AMPA tras un test de evitación pasiva, se encontró que WAY-100635 potenció el aumento asociado al aprendizaje de pGluR1 (Ser831) y pGluR1 (Ser845) en membranas de hipocampo. Los efectos obtenidos pueden correlacionarse, de otra parte, con el aumento en la retención del aprendizaje inducido por WAY-100635 en el test de reconocimiento de objetos. Estos resultados aportan una base molecular determinante de la utilidad propuesta para los antagonistas 5-HT1A en el tratamiento de trastornos cognitivos.

P409. LA CONVERSIÓN DE SINAPSIS SILENTES EN FUNCIONALES DURANTE LA LTP MODIFICA LAS PROPIEDADES DE LIBERACIÓN DE NEUROTRANSMISOR

C. CABEZAS FERNÁNDEZ, W. BUÑO BUCETA
PLASTICIDAD NEURAL INSTITUTO CAJAL, CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS. MADRID, ESPAÑA

La potenciación a largo plazo (LTP) puede resultar de la conversión de sinapsis silentes en funcionales por la expresión de receptores AMPA postsinápticos. Hemos demostrado que las sinapsis silentes y funcionales de las Colaterales de Schaffer (CS) difieren en sus propiedades de liberación, donde el carbachol (CCh) inhibe presinápticamente las sinapsis funcionales pero no las silentes. Además, cambiando p se modifican las sinapsis funcionales pero no las silentes, y no se convierte un tipo de sinapsis en el otro, sugiriendo que, a pesar de que son presinápticamente distintas, el tipo de sinapsis depende principalmente del tipo de receptor postsináptico. Una posible consecuencia de estos resultados es que la

conversión de las sinapsis silentes en funcionales durante la LTP debe ir acompañada de modificaciones presinápticas en la liberación de neurotransmisor. Utilizando 'estimulación mínima' en rodajas de hipocampo de rata, investigamos las modificaciones presinápticas asociadas a la inserción postsináptica de receptores AMPA en las sinapsis silentes durante la LTP. Mostramos que durante la LTP: (i) aparecen corrientes mediadas por AMPA en el potencial de reposo; (ii) aumentan significativamente los parámetros de liberación p y q; (iii) manipulaciones que incrementan p modifican la liberación; y (iv) adquieren sensibilidad a CCh. Estos resultados revelan que la conversión de sinapsis silentes en funcionales es un proceso complejo, donde tanto las propiedades presinápticas como las postsinápticas son modificadas por una señal desconocida que traduce las modificaciones pre y postsinápticas.

P410. CURSO TEMPORAL DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO ANTIDEPRESIVO SOBRE LA EXPRESIÓN DE BDNF Y DE SUBUNIDADES DEL RECEPTOR AMPA EN HIPOCAMPO DE RATA

R. MARTÍNEZ TURRILLAS, J. DEL RÍO ZAMBRANA, D. FRECHILLA MANSO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE NAVARRA. PAMPLONA. NAVARRA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: EC, LHS-M-CT-2003-503474

El incremento en los niveles de expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), así como la modulación de receptores glutamatérgicos AMPA se consideran futuras dianas terapéuticas en el tratamiento de la depresión. Dada la vinculación entre ambos procesos y su participación en vías de señalización implicadas en procesos de plasticidad sináptica, en el presente trabajo se determinó el efecto de dos antidepresivos con distinto mecanismo de acción inicial, desipramina (DMI) y paroxetina (PAR) sobre la expresión de BDNF, así como sobre los niveles totales y en membrana de las subunidades AMPA, GluR1 y GluR2/3, en el hipocampo de rata. La administración crónica (7-21 días) de PAR (5-10 mg/kg) indujo un incremento tiempo- y dosis-dependiente en la expresión de BDNF, así como un aumento dosis-dependiente de los niveles en membrana de las subunidades GluR1 y GluR2/3 tras una administración crónica de 21 días. El antidepresivo DMI (10 mg/kg) aumentó los niveles de GluR1 y GluR2/3 a las tres semanas de su administración. Dosis más altas del fármaco no modificaron las subunidades en estudio, disminuyendo los niveles de las proteínas estructurales PSD95 y a-tubulina, posible consecuencia de alteraciones en la estructura de la membrana. Los resultados observados con PAR sugieren un aumento de la plasticidad sináptica en hipocampo mediante el incremento en la expresión de BDNF, quizá responsable del posterior tráfico de subunidades AMPA hacia la membrana sináptica, constituyendo ambos procesos una posible vía común en el complejo mecanismo de acción intracelular del tratamiento antidepresivo.

P411. CAMBIOS EN LA SINAPSIS NEUROMUSCULAR INDUCIDOS POR LA APLICACIÓN LOCAL CRÓNICA DE UN ANTICUERPO IGM MONOCLONAL ANTIGANGLIOSIDOS

M. SABATÉ MARTÍNEZ, M. SANTAFÉ MARTÍNEZ, N. ORTIZ CASTELLÓN, N. GARCÍA SANCHEZ, M.Á. LANUZA, J.M. TOMÀS I FARRÉ
UNITAT D'HISTOLOGIA I NEUROBIOLOGIA. FACULTAT DE MEDICINA. UNIVERSITAT DE VIRGILI. REUS. LLEIDA, ESPAÑA

En este estudio hemos usado un anticuerpo monoclonal IgM de un paciente con una polineuropatía motora crónica. Este es un anticuerpo específico para gangliosidos complejos (GM2, GalNAc-GD1a y GalNAc-GM1b) con un epítipo común: [GalNAc1-4Gal(3-2aNeuAc)b1]. Mediante técnicas de inmunofluorescencia con este anticuerpo hemos localizado estos gangliosidos en las sinapsis neuromusculares, concretamente en la célula de Schwann y el terminal nervioso. Se ha evaluado el efecto crónico de la aplicación local de este anticuerpo obteniendo fenómenos de remodelación sináptica. Mediante técnicas de registro intracelular convencionales hemos observado alteraciones en la neurotransmisión como la reducción del contenido cuántico y una inmadura expresión de canales de calcio (especialmente canal L) similar a la que sucede durante el desarrollo y la regeneración. El conjunto de estos resultados muestra que los gangliosidos están involucrados en la relación recíproca glía-axón incluyendo la estabilidad estructural y la neurotransmisión.

P412. LOCALIZACIÓN EN EL TERMINAL NERVIOSO DEL SENSOR NEURAL DE CALCIO (NCS-1) EN LA UNIÓN NEUROMUSCULAR DE RATA ADULTA Y EN DESARROLLON. BESALDUCH CANES^A, N. GARCÍA SANCHO^A, M. Á. LANUZA ESCOLANO^A, M. SANTAFÉ MARTÍNEZ^A, A. JEROMIN^B, J.M. TOMÁS I FERRÉ^A^A UNITAT D' HISTOLOGIA I NEUROBIOLOGIA. FACULTAT DE MEDICINA. UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI. REUS, LLEIDA, ESPAÑA. ^B DIV. OF NEUROSCIENCE. BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE. HOUSTON, ESTADOS UNIDOS

El sensor neural de calcio (NCS-1, Frequenin) es una proteína que se une al calcio y está involucrada en la regulación de la neurotransmisión en el sistema nervioso central y periférico. Este estudio presenta la localización e inmunoreactividad de NCS-1 en la unión neuromuscular de rata, en adultos y durante el desarrollo postnatal. Se han realizado técnicas de *western blot* e inmunohistoquímica, utilizando diferentes anticuerpos para la detección de NCS-1. Nuestros resultados demuestran mediante inmunofluorescencia confocal en músculos Levator auris longus y en cortes semifinos, que la localización de NCS-1 corresponde al terminal motor axónico. No hay evidencia de inmunoreacción ni en la parte postsináptica de la unión neuromuscular ni en la célula de Schwann. Estos resultados sugieren que NCS-1 está involucrado en la fisiología de las uniones neuromusculares de mamíferos durante la sinaptogénesis y en la vida adulta.

P413. EXPRESIÓN DE AUTORECEPTORES MUSCARÍNICOS (SUBTIPOS M1, M2, M3 Y M4) EN LAS SINAPSIS NEUROMUSCULARES DE RATAS ADULTAS Y NEONATALES

N. GARCÍA SANCHO, M.M. SANTAFÉ MARTÍNEZ, I. SALÓN CABRÉ, M.Á. LANUZA ESCOLANO, J.M. TOMÁS I FERRÉ

UNITAT D' HISTOLOGIA I NEUROBIOLOGIA. FACULTAT DE MEDICINA. UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI. REUS, LLEIDA, ESPAÑA

Mediante técnicas inmunohistoquímicas, hemos detectado autorreceptores muscarínicos tipos M1, M2, M3 y M4 en las sinapsis neuromusculares tanto de ratas adultas (30-40 días de vida) como neonatos (3-6 días de vida). Estos receptores están localizados en la célula de Schwann y en los terminales nerviosos motores. Con técnicas de registro intracelular convencionales, hemos visto que la liberación de acetilcolina siempre es modificada por antagonistas M1 (pirenzepina y MT-7) y M2 (metocramina y AF-DX 116). Sin embargo, los antagonistas M4 (tropicamida y MT-3) alteran la neurotransmisión en los músculos neonatales y son ineficaces en los músculos adultos. Sorprendentemente, antagonistas M3 (4-DAMP) no afectan a la neurotransmisión en los músculos neonatales ni en los adultos. En conclusión, todos los autorreceptores muscarínicos están presentes tanto en la glía presináptica como en los axones pero solo los subtipos M1 y M2 son siempre funcionales, el subtipo M4 solo es funcional en los músculos neonatales y el subtipo M3 es silente tanto en músculos de neonatos como en adultos.

PROPIEDADES INTRÍNSECAS DE LA MEMBRANA

P414. GRADIENTES DE DESPOLARIZACIÓN LONGITUDINAL Y CORTOCIRCUITO DE MEMBRANA SOSTENIDOS EN EL EJE SOMATODENDRÍTICO DE CÉLULAS PIRAMIDALES DURANTE DEPRESIÓN DE LEO: NO ESTÁN INACTIVASO. HERRERAS^A, L. LÓPEZ-AGUADO^B, C. LARGO ARAMBURU^C, I. MAKAROVA^D, J. M. IBARZ DEL OLMO^E, S. CANALS GAMONEDA^F^A HISTOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. ^B INVESTIGACIÓN. ^C INVESTIGACIÓN. HOSPITALRAMÓN Y CAJAL. MADRID. ^D ESCUELA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID. ^E FACULTAD DE CC. EXPTALES Y DE LA SALUD. UNIVERSIDAD SAN PABLO. C.E.U. BOADILLA DEL MONTE-MADRID. ^F ESCUELA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

La depresión de Leao (DL) (*spreading depression*) es una onda lenta inactivante asociada a migraña y muerte neuronal en penumbra isquémica. El concepto de inactivación neuronal se basa únicamente en registros somáticos. Hemos estudiado sus correlatos subcelulares combinando registros intradendríticos y extracelulares en hipocampo de rata. Durante DL, sólo partes específicas de las neuronas están despolarizadas y eléctricamente cortocircuitadas. Registros intrasomáticos muestran despolarización sostenida completa y descenso máximo de la resistencia de membrana (Ri) tanto si el característico Vo negativo ocurre en uno o ambos árboles dendríticos. Sin embargo, los registros intradendríticos muestran gradientes sostenidos de despolarización decreciente desde el borde de las regiones subcelulares afectadas por Vo negativo hacia las dendritas más distales. Durante la onda DL, el frente de la despolarización se desplaza hacia dendritas más proximales, de forma

que las distales se repolarizan antes del final. La caída de Ri es inicialmente máxima en cualquier locus somatodendrítico pero se recupera parcialmente durante la propia DL. Esta recuperación es mayor y más rápida en dendritas distales, debido a un cierre gradual de conductancias en dirección somatopetal. Las regiones subcelulares más alejadas permanecen eléctricamente excitables y muestran actividad provocada de campo y unitaria. Proponemos que la despolarización neuronal durante DL está causada por un flujo de corriente sostenido a través de porciones amplias pero discretas de membranas cortocircuitadas por un canal aún desconocido y cuya fuerza electromotriz es la despolarización longitudinal desigual. Estos resultados refutan definitivamente la idea de inactivación neuronal completa durante DL. Financiado por MCyT y CAM.

P415. APERTURA SOSTENIDA DE UNA NUEVA CONDUCTANCIA EN SUBREGIONES DENDRÍTICAS: CONDICIÓN NECESARIA PARA LA DEPRESIÓN DE LEOI. MAKAROVA^A, S. CANALS GAMONEDA^B, J. M. IBARZ DEL OLMO^C, I. RODRÍGUEZ CEPEDA^B, F. PANETSOS^D, O. HERRERAS ESPINOSA^B^A FACULTAD DE CC. BIOLÓGICAS. ^D ESC. ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID. ^B HISTOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. ^C INVESTIGACIÓN. HOSPITALRAMÓN Y CAJAL. MADRID, ESPAÑA

La depresión de Leao (DL) (*spreading depression*) es una onda inactivante lenta relacionada con migraña y muerte neuronal isquémica. En trabajo adjunto demostramos a nivel subcelular que la despolarización es un gradiente longitudinal decreciente desde subregiones dendríticas proximales hacia las distales, que contra la creencia generalizada aún mantienen actividad electrogénica. La prolongada duración de este gradiente intracelular (> 30s) y su relación con el voltaje extracelular (Vo) plantea problemas teóricos hasta el momento no resueltos. Utilizando registros intradendríticos y examinando la respuesta a pulsos de corriente mediante descomposición de exponenciales (*peeling*) y un modelo biofísico unitario hemos determinado que existe una apertura de una conductancia de membrana restringida a aquellas porciones subcelulares que desarrollan extracelularmente el característico Vo negativo. La nueva conductancia se comporta como V-independiente, y sufre un patrón espaciotemporal de cierre paralelo al Vo. Utilizando la distribución espacial de Im del modelo unitario hemos calculado el Vo generado en un modelo tridimensional de la región CA1. Tras estudiar la contribución de las conductancias V-dependientes conocidas se demuestra la necesidad de una nueva conductancia distribuida en una subregión amplia pero necesariamente incompleta de la anatomía de cada neurona. Globalmente, los datos indican que la señal macroscópica asociada a la DL no es sino una suma extracelular de corrientes unitarias generadas, mantenidas y controladas activamente por neuronas, en cada una de las cuales se establece una distribución tipo fuente/sumidero clásica. Estos resultados cuestionan la visión tradicional de un desastre homeostático generalizado en el tejido nervioso afectado. Financiado por MCyT y CAM.

P416. ESTUDIO COMPARATIVO IN VIVO E IN VITRO SOBRE EL LUGAR DE DECISIÓN DE SALIDA DEL POTENCIAL DE ACCIÓN EN CÉLULAS PIRAMIDALES DE CA1B. LARROSA DE LOPE^A, L. LÓPEZ-AGUADO^B, O. HERRERAS ESPINOSA^A^A HISTOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITALRAMÓN Y CAJAL. MADRID. ^B ESC. ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

Las dendritas apicales de células piramidales pueden iniciar y conducir potenciales de acción (PA) hasta el axón, refutando el concepto clásico de decisión de salida exclusivamente en el segmento inicial del axón (SIA), basada en los estudios pioneros sobre motoneuronas. En general, la literatura *in vitro* considera que el inicio dendrítico depende de la fuerza y sincronización de la entrada, en contraste con estudios *in vivo*. Hemos realizado una comparación entre ambas preparaciones utilizando registros simultáneos de potenciales provocados en el estrato piramidal y radiado (100 mm) de la región CA1, activando selectivamente bandas aferentes con terminación a diferentes distancias del árbol dendrítico. Como índice se utilizó la latencia relativa de las espigas poblacionales (EP) somática y apical. *In vivo*, el PA se inició siempre a cualquier intensidad en el árbol apical antes que en el SIA, tanto con activación a distintas distancias del árbol apical como selectiva de Schaffer o comisural. *In vitro*, se encontró más variabilidad. El estímulo monopolar inició el PA antes en el árbol apical, mientras que el bipolar lo hizo en el SIA. Distintas rodajas tuvieron un comportamiento heterogéneo. La intensidad de estímulo tampoco guardó una relación directa con el sitio de inicio, que en general fue independiente de aquella. Estos resultados muestran que el sitio de inicio del PA puede cambiar por modulaciones artefactuales debidas principalmente a la preparación utilizada, el tipo de electrodo y modalidad de estímulo, y muestran un descenso de excitabilidad apical *in vitro*. Financiado por MCyT.

**P417. LA ESTIMULACIÓN DEL RECEPTOR A2A DE LA ADE-
NOSINA POTENCIA LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO
INDUCIDA POR LA MICROGLÍA ACTIVADA**J. SERRATOSA SERDÀ^A, E. ANGULO^B, A. EJARQUE^C, V. CASADÓ^B, J. M. TUSELL^D, J. CHEN^E, M. A. SCHWARZSCHILD^F, C. LLUIS^B, R. FRANCO^B, J. SAURA^C^ADEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. ^CDEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. ^DDEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA-CSIC, IDIBAPS. BARCELONA. ^BDEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. UNIVERSIDAD DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA. ^EDEPARTMENT OF NEUROLOGY. BOSTON UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE. ^FDEPARTMENT OF NEUROLOGY. MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL. BOSTON, ESTADOS UNIDOS

La ausencia de receptores A2A o su inhibición farmacológica confieren efectos neuroprotectores. Datos experimentales sugieren que los receptores A2A gliales participan en la neurodegeneración inducida por la estimulación del receptor A2A. En este estudio hemos investigado los efectos de la estimulación del receptor A2A en células gliales control o activadas. Cultivos mixtos (75% astrocitos, 25% microglía) corticales de ratón fueron tratados con el agonista del receptor A2A CGS1680 sólo o combinado con LPS. El CGS1680 potenció la producción de NO y la expresión de NOS-II inducida por LPS. Esta potenciación fue tiempo y concentración dependiente. La potenciación del efecto del LPS producida por CGS1680 se inhibió mediante el antagonista del receptor A2A ZM-241385 y tampoco se produjo la potenciación del CGS1680 en cultivos mixtos gliales procedentes de ratones deficientes en el receptor A2A. En cultivos mixtos gliales tratados con LPS+CGS1680 el inhibidor de la NOS-II 1400W abolió la producción de NO, y la inmunoreactividad para la NOS-II sólo se detectó en la microglía. Experimentos de fijación de ligandos a receptores demostraron la presencia de receptores A2A en la microglía así como su ausencia en astrocitos. Sin embargo, la presencia de astrocitos fue necesaria para que se produjera el efecto potenciador del CGS1680. A la luz de los resultados descritos sobre la neurotoxicidad de la NOS-II y la neuroprotección por inhibición del receptor A2A, los resultados que hemos obtenido sugieren que la atenuación de la producción de NO microglial puede contribuir a la neuroprotección proporcionada por los antagonistas del receptor A2A.

**P418. INDUCCIÓN DE DIFERENTES PATRONES DE ACTIVACIÓN
GLIAL EN RESPUESTA A LA MUERTE NEURONAL POR EXCI-
TOTOXICIDAD O POR APOPTOSIS**K. PÉREZ-CAPOTE, J. SERRATOSA SERDÀ, C. SOLÀ SUBIRANA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE BARCELONA-CSIC, IDIBAPS. BARCELONA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF 2001-2240 Y RED CIEN DEL MCYT

La interacción neurona-glía es muy importante en la respuesta de las neuronas al daño inducido por un estímulo. Además, la activación glial asociada al daño neuronal puede ser crítica en la progresión y la magnitud de dicho daño. Hemos estudiado la activación glial en dos modelos de muerte neuronal, excitotoxicidad y apoptosis, en cultivos neurona-glía de cerebelo de rata. Hemos evaluado posibles alteraciones en parámetros relacionados con la activación glial: activación del factor de transcripción NF-kappaB, producción de óxido nítrico y TNF-alfa, proliferación y fagocitosis. Aunque en los dos modelos se produce la muerte de la mayoría de neuronas tras 24 horas, se observaron diferencias en los parámetros evaluados: 1) no se detectó producción de óxido nítrico en ningún caso, 2) se observó activación de NF-kappaB, producción de TNF-alfa y proliferación glial sólo en el modelo de excitotoxicidad y 3) se observó inducción de fagocitosis en los dos modelos, aunque de manera más rápida en el modelo de apoptosis. Por lo tanto, las células gliales responden a la muerte neuronal por excitotoxicidad con la producción de factores pro-inflamatorios asociada a la proliferación y la fagocitosis. En contraste, la respuesta pro-inflamatoria y la proliferación no se producen en la muerte neuronal por apoptosis y la fagocitosis se induce de manera más rápida. Estos resultados sugieren que la forma en que una neurona muere determina el patrón de activación glial resultante, lo que a su vez influirá en el daño final inducido.

**P419. EL AUMENTO DE CALCIO EN ASTROCITOS GENERA
CORRIENTES LENTAS DE ENTRADA (SIC) MEDIADAS POR
RECEPTORES DE NMDA EN NEURONAS DE HIPOCAMPO**G. PEREA PARRILLA, A. ARAQUE ALMENDROS
DEPARTAMENTO PLASTICIDAD NEURAL. INSTITUTO CAJAL. CSIC. MADRID, ESPAÑA

La liberación Ca^{2+} -dependiente de glutamato por astrocitos está bien descrita en cultivos celulares, donde modula la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica. Las consecuencias funcionales de la liberación de glutamato en preparaciones *in situ* son menos conocidas. Utilizando rodajas de hipocampo de rata y técnicas electrofisiológicas y de imagen de Ca^{2+} , hemos estudiado las consecuencias de la señal de Ca^{2+} astrocitaria sobre la excitabilidad neuronal. Se realizaron pares de registros de neuronas piramidales de CA1 y astrocitos, mientras se registraban simultáneamente los niveles de Ca^{2+} en los astrocitos. Hemos encontrado: 1) Las neuronas piramidales de CA1 mostraron corrientes lentas de entrada (SIC), distinguibles de las corrientes sinápticas por sus características cinéticas. Farmacológicamente se demostró que estas corrientes estaban selectivamente mediadas por la activación de receptores de NMDA. 2) Tanto la frecuencia de los aumentos de Ca^{2+} astrocitarios como de las SIC neuronales aumentó por despolarización de los astrocitos. Estos efectos fueron bloqueados por inyección intracelular de BAPTA en el astrocito registrado. 3) La aplicación local de ATP generó aumentos de Ca^{2+} en varios astrocitos que generaron una o varias SIC. 4) La estimulación sináptica generó aumentos de Ca^{2+} en los astrocitos y aumentó la frecuencia de las SIC. 5) La modulación de la señal de Ca^{2+} por actividad simultánea de sinapsis colinérgicas y glutamatérgicas provocó la modulación de la frecuencia de las SIC. Por tanto, los astrocitos modulan la excitabilidad neuronal *in situ* mediante la liberación Ca^{2+} -dependiente de glutamato, que activa receptores de NMDA en neuronas piramidales.

**P420 CULTIVO *IN VITRO* DE CÉLULAS MICROGLIALES
AMEBOIDES SOBRE LÁMINAS VÍTREAS DE RETINA
EMBRIONARIA DE CODORNIZ**

J. NAVASCUÉS, M. TASSI, R. CALVENTE, J. L. MARÍN-TEVA, M. A. CUADROS, A. SANTOS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BMC2001-3274 DEL MEC

Con objeto de conseguir un sencillo y rápido método de cultivo *in vitro* de células microgliales inmaduras se aislaron láminas de parte vítrea de retinas de embriones de codorniz que contenían la membrana limitante interna (lámina basal) y los pies terminales de células de Müller (PTCM). Células microgliales ameboides que migran sobre los PTCM durante el desarrollo embrionario permanecían adheridas en dichas láminas permitiendo su posterior cultivo *in vitro*. Durante los cuatro primeros días de cultivo se analizaron mediante inmunocitoquímica los caracteres fenotípicos de las células microgliales (identificadas con el anticuerpo QH1) y las transformaciones de los componentes del sustrato, incluyendo la lámina basal (reconocida con antilaminina y antiagrina) y los PTCM (identificados con un anticuerpo anti-integrina-beta1). Las células microgliales proliferaban intensamente, dando lugar a una considerable población a partir de 24 horas *in vitro* (hiv). La lámina basal del sustrato no sufría alteraciones durante los cuatro días de cultivo, mientras que los PTCM eran desorganizados alrededor de las células microgliales por la acción de factores segregados por éstas y posteriormente fagocitados. Los halos de desorganización de PTCM eran observados a 1 hiv y la fagocitosis tenía lugar a partir de 3 hiv. Tras llevar a cabo procesos de fagocitosis, la superficie de las células microgliales se marcaba con antiintegrina-beta1 a partir de 24 hiv. La observación de rastros fagocinéticos en el sustrato y rastros QH1-positivos tras las células microgliales revelaba una considerable motilidad de éstas.

**P421. LA RESPIRACIÓN GLIAL REGULA LA TRANSMISIÓN
SINÁPTICA EN EL HIPOCAMPO POR MEDIO DE ADENOSINA**S. CANALS GAMONEDA^A, O. HERRERAS ESPINOSA^B
^AHISTOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. ^BHISTOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MCYT

La generación de señales eléctricas en el sistema nervioso implica el movimiento de iones a favor de gradientes electroquímicos. La restitución y mantenimiento de estos gradientes supone un alto coste energético. Puesto que las reservas metabólicas del cerebro son muy limitadas, el acoplamiento entre la tasa de producción energética y el consumo (contribuido principalmente por la activación neuronal) debe ser exquisito. Cuando la capacidad energética del tejido es sobrepasada, comienza la toxicidad celular. En este trabajo hemos utilizado rodajas de hipocampo de rata, registros electrofisiológicos de campo e inhibidores metabólicos, para demostrar la

importancia del metabolismo oxidativo glial en el acoplamiento neurometabólico. Empleando una toxina mitocondrial selectiva para glía (fluoroacetato), mostramos que la inhibición de la respiración glial es suficiente para bloquear la transmisión sináptica en el hipocampo, sin afectar a la invasión antidrómica ni al potencial de fibra. El bloqueo de la transmisión ortodrómica es mediado por adenosina y revertido con antagonistas selectivos de receptores A1. Más aún, cuando se mantiene farmacológicamente la actividad sináptica, se precipitan fenómenos de despolarización masiva o *spreading depression* que aceleran la muerte neuronal, demostrando el papel neuroprotector de la adenosina. Teniendo en cuenta el efecto vasodilatador de la adenosina in vivo, nuestros resultados sugieren que los astrocitos, estratégicamente colocados en contacto con la circulación sanguínea (fuente energética) y la actividad sináptica (sumidero energético), son los sensores perfectos para acomodar el consumo y el suministro de energía, impidiendo el desacoplamiento neurometabólico y preservando la viabilidad celular.

P422. LA INTRODUCCIÓN DE TELOMERASA EN LA GLÍA ENVOLVENTE OLFATORIA DE ROEDOR ALARGA SU VIDA MEDIA MANTENIENDO UN FENOTIPO ADECUADO PARA SU USO EN TERAPIA

M. B. LLAMUSÍ TROÍSI^A, M. P. RUBIO RODRÍGUEZ^A, A. RAMÓN CUETO^B

^A UNIDAD DE REGENERACIÓN NEURAL. INSTITUTO DE BIOMEDICINA DE VALENCIA.

^B UNIDAD DE REGENERACIÓN NEURAL. INSTITUTO DE BIOMEDICINA. VALENCIA, ESPAÑA

El trasplante de glía envolvente olfatoria (OEG) positiva frente al receptor p75 promueve la reparación funcional e histológica en ratas con la médula espinal lesionada. Sin embargo, la OEG adulta es presenesciente. Inmediatamente tras su puesta en cultivo muestran actividad S-B-galactosidasa asociada a senescencia (SA-B-Gal) y, poco después, pierden la expresión de p75 y otras propiedades. Para alargar la vida media de la OEG, hemos introducido la subunidad catalítica de la telomerasa de ratón (mTert) en estas células. Durante todo el periodo estudiado, la mTert-OEG se divide más deprisa que los controles sin telomerasa, llegando a alcanzar 3 duplicaciones poblacionales por semana. Tras reanudar su división, los cultivos de mTert-OEG comenzaron a expresar p75, siendo el 60% de las células positivas a partir de la cuarta semana. Además, la OEG modificada mantiene más tiempo una morfología juvenil, continúa expresando marcadores típicos como GFAP, S100 y O4, y también presenta SA-B-Gal. Por tanto, la mTert-OEG tras periodos largos in vitro se comporta como la OEG no modificada recién sembrada. Ocho semanas tras reanudar su división, los cultivos de mTert-OEG entran en senescencia. Posteriormente, algunos de los cultivos entran en crisis y otros se immortalizan espontáneamente, comportándose igual que la OEG no modificada en periodos mucho más tempranos. En conclusión, la mTert-OEG presenta un fenotipo similar al de la OEG utilizada en los estudios de trasplante. Por lo tanto, la introducción de telomerasa en la OEG parece un método fiable para extender la vida media útil de estas células.

7. SISTEMAS SENSORIALES

NOCICEPCIÓN

P423. LA ADMINISTRACIÓN INTRAOPERATORIA DE OPIOIDES AUMENTA LA HIPERALGESIA Y LA ALODINIA INDUCIDAS POR LA CIRUGÍA, EN UN MODELO DE DOLOR POST-INCISIÓN QUIRÚRGICA EN EL RATÓN

D. CABAÑERO FERRI^A, E. CÉLÉRIER^B, R. MALDONADO^C, M. V. MILANÉS^D, M. PUIG^A

^A ANESTESIOLOGÍA. ^B ANESTESIOLOGÍA. HOSPITAL DEL MAR, IMIM. BARCELONA.

^C NEUROFARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD POMPEU FABRA. BARCELONA. ^D FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

Introducción. La administración sistémica de opioides induce hiperalgesia / alodinia en modelos animales y en el hombre. La cirugía induce también hiperalgesia / alodinia, sin que se conozca de momento si la administración de opioides como anestésicos modifica la duración e intensidad del dolor postoperatorio. **Objetivo.** El objetivo del estudio es determinar si la administración intraoperatoria de opioides modifica el dolor postoperatorio en un modelo de dolor tras incisión en el ratón. **Métodos.** Utilizamos ratones CD1 a los que se practicó una incisión plantar bajo anestesia general (sevoflurano ± opioide), en condiciones similares a las utilizadas en humanos. En el postoperatorio y durante 7 días

consecutivos, evaluamos la hiperalgesia térmica (plantar test), mecánica (Randal y Sellitto) y la alodinia mecánica (Von Frey). Los opioides fentanilo (0,05 mg/kg), alfentanilo (1 mg/kg) o remifentanilo (0,04 mg/kg) fueron infundidos subcutáneamente durante la cirugía (30 minutos). Para la evaluación estadística utilizamos un modelo mixto de datos anidados. **Resultados.** Tanto la cirugía como los opioides (individualmente) inducen hiperalgesia térmica (pero no mecánica) y alodinia mecánica de larga duración (4-7 días). La infusión intraoperatoria de remifentanilo o fentanilo incrementó significativamente ($p=0,021$) la intensidad y duración (> 7 días) del dolor postoperatorio en todas las pruebas realizadas. El efecto pronociceptivo del alfentanilo fue menor. **Conclusiones.** La administración de opioides incrementa la intensidad y duración de la hiperalgesia/alodinia postoperatorias en el ratón. Estos hallazgos validan el modelo murino y constituyen la base para el estudio de la prevención/reversión del efecto pronociceptivo de los opioides en el postoperatorio.

P424. CANALES DE LEAKAGE EN NEURONAS NOCICEPTIVAS IMPLICADOS EN LA GENERACIÓN DE HIPEREXCITABILIDAD Y DOLOR NEUROPÁTICO

X. GASULL CASANOVA^A, A. GUAL SALA^A, E.T. WALTERS^B

^A LAB. NEUROFISIOLOGIA. FACULTAD DE MEDICINA-IDIBAPS, UNIVERSIDAD DE BARCELONA. BARCELONA, ESPAÑA. ^B DEPT. INTEGRATIVE BIOLOGY AND PHARMACOLOGY. MEDICAL SCHOOL, UNIVERSITY OF TEXAS-HSC. HOUSTON, ESTADOS UNIDOS.

Diferentes canales de K⁺ de *leakage* de la familia KCNK se han implicado en el control del potencial de membrana y la excitabilidad neuronal. En neuronas sensoriales de Aplysia, el canal de K⁺ tipo S (Ks) es análogo a TREK-1 en mamíferos. El trabajo estudia la regulación de Ks en neuronas sensoriales tras axotomía periférica, su participación en la aparición de hiperexcitabilidad somática y sus consecuencias funcionales. La hiperexcitabilidad persistente y la actividad espontánea en neuronas nociceptivas contribuye a la aparición de hiperalgesia y dolor neuropático. Se realizaron registros electrofisiológicos en neuronas mecanonociceptivas del ganglio pleural 5-10 días después de realizar axotomías unilaterales en los nervios pedales o lesiones del campo receptor. Comparadas con las neuronas no lesionadas, las neuronas axotomizadas mostraron una mayor resistencia de entrada, menor corriente necesaria para llegar al umbral del potencial de acción, dispararon un mayor número de potenciales de acción y mostraron postdespolarización. La axotomía redujo la corriente Ks, sugiriendo una menor expresión de estos canales, pero se mantuvo su característica regulación por mediadores como el AMPc y el ácido araquidónico. Paralelamente, lesiones en el campo receptivo de estas neuronas produjeron aparición de hiperexcitabilidad somática y presencia de postdescarga, que desapareció progresivamente tras regeneración funcional de las terminaciones sensoriales y recuperación del reflejo del sifón. Los resultados muestran que la aparición de hiperexcitabilidad somática, mediada por disminución de Ks, y la presencia de postdescarga son adaptaciones funcionales que permiten la aparición de sensibilización e hiperalgesia como sistema de protección de las zonas lesionadas.

P425. ANALGESIA INDUCIDA POR LA ADMINISTRACIÓN PERIFÉRICA DE OPIOIDES EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN ARTICULAR EN EL RATÓN. TOLERANCIA OPIOIDE

L. HERNÁNDEZ SÁNCHEZ^A, M. L. LAORDEN^B, M. PUIG RIERA DE CONÍAS^A

^A ANESTESIOLOGÍA. HOSPITAL DEL MAR, IMIM. BARCELONA. ^B DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA, ESPAÑA

Introducción. Recientemente hemos demostrado que la administración crónica de morfina induce tolerancia en un modelo murino de monoartritis por CFA. En estas condiciones experimentales aumenta la expresión de receptores opioides mu (ROM) en el tejido inflamado y en la médula espinal (western blot). **Objetivo.** El objetivo del estudio es establecer si existe tolerancia cruzada entre agonistas opioides tras su administración periférica (subplantar, sp), en el mismo modelo experimental. **Métodos.** La inflamación fue inducida por inyección de CFA en una de las patas posteriores del ratón (CD1), evaluando el efecto antinociceptivo mediante el test de Randall & Sellitto. Estudiamos el efecto de la administración aguda de morfina, fentanilo, buprenorfina y DPDPE inyectados sp. La tolerancia se obtuvo mediante la implantación subcutánea de un comprimido de 75 mg de morfina. **Resultados.** En ausencia de inflamación, los opioides sp carecen de efecto. Durante la inflamación, todos inducen antinocicepción con DE50 (microgramos totales) de: morfina 47 ± 4, fentanilo 0,86 ± 0,17, buprenorfina 0,42 ± 0,11, DPDPE 121,7 ± 34. En presencia de inflamación y tolerancia, la morfina sp no induce analgesia. Sin embargo, los demás agonistas producen antinocicepción aunque disminuye su potencia (el fentanilo disminuye 7 veces, buprenorfina 3 y DPDPE 4,5), demostrando tolerancia

cruzada parcial con la morfina. **Conclusiones.** Durante la inflamación periférica, la administración de agonistas μ y δ induce antinocicepción. Aun a pesar de la sobreexpresión de ROM periféricos durante la inflamación, aparece tolerancia a los efectos de la morfina. Sin embargo, la tolerancia es parcial para los efectos del fentanilo, la buprenorfina y el DPDPE.

P426. EXAMINACIÓN SENSORIAL CUANTITATIVA DE LOS SIGNOS DE DOLOR NEUROPÁTICO

S. HUELDES ALONSO^A, C. PEÑACOBIA PUENTE^B, J. R. CABRERA FERIA^C, F. CALDERÓN MUÑOZ^C, J. S. TAYLOR^D

^A UNIDAD DE NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL. HOSPITAL NACIONAL DE PARAPLÉJICOS DE TOLEDO. TOLEDO. ^B FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD. UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS. ALCORCÓN, MADRID. ^C UNIDAD DE DOLOR Y ESPASTICIDAD. ^D UNIDAD DE NEUROLOGÍA EXPERIMENTAL. HOSPITAL NACIONAL DE PARAPLÉJICOS DE TOLEDO. TOLEDO, ESPAÑA

Aunque la historia clínica del dolor neuropático después de la lesión medular ha sido bien documentada (Siddall et al, Pain 2003; 103: 249-57; Finnerup et al, Brain 2003; 126: 67-70), la posterior caracterización y documentación de sus signos durante la fase aguda de la lesión medular puede conducir a un mayor entendimiento de los mecanismos responsables para su inicio y mantenimiento. Estudios previos sugieren el papel de una zona de hiperexcitabilidad neuronal de la médula espinal en el área del trauma en el desarrollo del dolor neuropático después de la lesión medular, cuya localización exacta no es aún conocida (Finnerup et al, *op. cit.*). Para el estudio de esta hipótesis utilizamos dos de las categorías de dolor neuropático después de la LM: al nivel (dolor en los dermatomas al nivel del trauma) y por debajo del nivel de lesión medular (dolor en los dermatomas por debajo del trauma). Aquí presentamos los datos preliminares obtenidos usando una examinación sensorial cuantitativa en un grupo de pacientes que presentan una lesión medular entre C2-D10, completa o incompleta, con una intensidad de dolor usual mayor que 3 (máximo 10) y con la presencia de dolor neuropático al nivel/por debajo del nivel de lesión. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado previamente aprobado por el comité ético de investigación clínica del hospital. Presentaremos datos de prevalencia de alodinia, hiperalgesia y sumación temporal, examinando la interrelación entre dolor espontáneo y dolor evocado al nivel y por debajo del nivel de la lesión medular.

Tabla P429

	Sin lesión	0 h	6 h	12 h	24 h
WT (n = 4)	34,38 ± 9,53	34,27 ± 7,54	42,39 ± 14,87	34,05 ± 8,89	49,27 ± 13,59
KO (n = 4)	7,54 ± 1,93	7,42 ± 2,22	6,88 ± 1,63	6,94 ± 2,17	9,58 ± 2,69
t de Student	p = 0,033	p = 0,014	p = 0,055	p = 0,025	p = 0,029

P427. EL BLOQUEO FUNCIONAL SUBCRÓNICO DEL RECEPTOR CANNABINOIDE TIPO 1 COMO POSIBLE MECANISMO ANTINOCICEPTIVO

J.L. SÁEZ-CASSANELLI; J.M. DELGADO-GARCÍA, A.M. CARRIÓN
DIVISIÓN NEUROCIENCIAS, UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE. SEVILLA, ESPAÑA

Recientemente hemos descrito que los ratones sometidos durante tres meses a una dieta intermitente (DI) desarrollan analgesia en modelos nociceptivos agudos, comparados con ratones alimentados *ad libitum* (AL). Análisis de expresión de moléculas relacionadas con el dolor en médula espinal de ratones sometidos a DI, comparado con ratones alimentados AL, mostraron cambios significativos en la expresión de prodinorfina (incremento), el receptor opioide kappa (incremento) y el receptor cannabinoide tipo 1 (descenso) (CB1-R). En base a este descubrimiento, administramos subcrónicamente AM281 (5 mg/kg), un bloqueante del CB1-R. La administración de AM281 no provocó cambios en la conducta de los animales cuando se administró una sola dosis. Sin embargo, la administración de AM281 durante 10 días consecutivos produjo antinocicepción en modelos de dolor agudo, en comparación con ratones inyectados con vehículo. Asimismo, estos ratones no modificaron su coordinación ni la actividad locomotora. Análisis de la expresión en las astas dorsales espinales de ratones tratados subcrónicamente con AM281, respecto de los ratones tratados con vehículo, mostraron cambios similares a los obtenidos en ratones sometidos a DI. Por último, administrando antagonistas de los receptores opioides, encontramos que una sobre activación del sistema opioide kappa espinal es responsable de la analgesia provocada por la administración subcrónica de AM281. En conjunto, estos datos sugieren que la administración de bloqueantes del CB1-R, podrían constituir nuevas herramientas terapéuticas capaces de aliviar el dolor.

P428. ESTUDIO AUTORADIOGRÁFICO DE LOS CAMBIOS EN LA SEÑALIZACIÓN SEROTONÉRGICA VIA RECEPTORES 5-HT1B ESPINALES TRAS LESIÓN NERVIOSA PERIFÉRICA

Á. DÍAZ MARTÍNEZ, M. L. ROJO ANTUÑA, A. RODRÍGUEZ-GAZTELUMENDI, M. E. CASTRO FERNÁNDEZ, R. MOSTANY IBÁÑEZ
FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF 2002-03189; INSTITUTO UPSA DEL DOLOR; IFIMAV-FUNDACIÓN MARQUÉS DE VALDECILLA 2005

A nivel espinal, la serotonina puede mostrar tanto acciones pro- como antinociceptivas dependiendo de la contribución relativa de uno u otro subtipo de receptores de 5-HT según el tipo de dolor. En este sentido, los receptores 5-HT1B espinales presentan acciones duales en el dolor no patológico aunque su acción pronociceptiva se ve incrementada en el dolor con hiperalgesia mecánica. Hemos estudiado en médula espinal de rata los cambios en la densidad y funcionalidad de receptores 5-HT1B espinales tras lesión nerviosa periférica, que induce dolor neuropático caracterizado por alodinia e hiperalgesia mecánica. La densidad autorradiográfica de receptores 5-HT1B se determinó con [125I]GTI y la funcionalidad mediante la fijación de [35S]GTgammaS tras la activación de receptores 5-HT1B por el agonista GTI. Los mayores niveles de fijación de [125I]GTI y de estimulación de la fijación de [35S]GTgammaS por el agonista GTI se localizaron en las láminas más externas del asta dorsal. En el grupo de animales con dolor neuropático se observó un incremento significativo de la densidad de receptores 5-HT1B en el asta dorsal espinal, a nivel lumbar (+15-20% vs. grupo control) asociado a un incremento significativo en la estimulación de la fijación de [35S]GTgammaS (114% vs. fijación basal en animales control y 140% vs. fijación basal en animales con neuropatía). Estos resultados demuestran la existencia de una mayor señalización serotonérgica via receptores 5-HT1B espinales tras lesión nerviosa periférica, lo que podría contribuir a las manifestaciones sindrómicas del dolor neuropático.

P429. LA EXPRESIÓN DEL NEUROPÉPTIDO α -CGRP EN EL GANGLIO TRIGÉMINO NO SE MODIFICA TRAS LA LESIÓN EXPERIMENTAL DEL EPITELIO CORNEAL

A. ARACIL MARCO, C. L. LUNA GARCÍA, S. QUIRCE VÁZQUEZ, C. BELMONTE MARTÍNEZ, J. GALLAR MARTÍNEZ. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS, UMH-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ALACANT, ESPAÑA

Objetivos. Cuantificar el contenido de α -CGRP en el ganglio trigémino, a diferentes tiempos tras la lesión del epitelio corneal. **Material y métodos.** En ratones *knockout* para el gen del α -CGRP (KO; Salmon et al, 1999), y en los de sus correspondientes cepas origen (WT), se realizaron desepitelizaciones corneales unilaterales, con n-heptanol, y se sacrificó a los animales inmediatamente tras la lesión, o a las 6, 12 o 24 horas tras ésta. Se extrajeron ambos ganglios trigéminos, y se procesaron siguiendo el método propuesto por Ahmed et al (1994), para la cuantificación por ELISA (SPIBIO, Francia) de su contenido en α -CGRP. Los datos se expresan como media $\pm$ eem, en pg/mg de tejido seco. **Resultados.** La concentración de α -CGRP en los ganglios trigéminos de los ratones WT fue significativamente mayor que en los de los KO. Aunque la concentración de α -CGRP en los ratones WT tendió a incrementar a diferentes tiempos tras la lesión, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (ANOVA). Los datos se resumen en la tabla. **Conclusión.** La concentración de α -CGRP en el ganglio trigémino no parece modificarse tras la lesión del epitelio corneal.

P430. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS ACCIONES ANALGÉ- SICAS DE AMITRIPTILINA, FLUOXETINA Y VENLAFAXINA EN UN MODELO ANIMAL DE MONONEUROPATÍA PERIFÉRICA

M.L. ROJO ANTUÑA^A, R. ANTONIO^B, A. PAZOS CARRO^B, Á. DÍAZ MARTÍNEZ^B

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. ^B FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: SAF 2002-03189; INSTITUTO UPSA DEL DOLOR; IFIMAV-FUNDA-
CIÓN MARQUÉS DE VALDECILLA.

La eficacia analgésica de los antidepresivos en el dolor neuropático depende de su capacidad para inhibir la recaptación de 5-HT y NA. Se han descrito modelos animales de dolor neuropático con distintos grados de lesión nerviosa periférica que no siempre exhiben idénticas manifestaciones de alodinia-hiperalgesia mecánica o similar respuesta farmacológica a analgésicos. En este trabajo hemos caracterizado el perfil analgésico de antidepresivos prototipo (tríciclico: amitriptilina; fluoxetina: inhibidor de recaptación de serotonina; venlafaxina: inhibidor dual de recaptación de 5-HT/NA; dosis = 2,5-5-10 y 20 mg/kg i.p.) en un modelo de lesión nerviosa recientemente descrito que implica la lesión selectiva de las ramas peroneo y tibial del nervio ciático. En este modelo se observa la aparición de alodinia táctil valorada mediante la respuesta de retirada de la pata trasera a la presión ejercida por monofilamentos de vonFrey (respuesta de retirada a 2-4 g de presión vs. 12-15 g en ratas control) e hiperalgesia mecánica evaluada en el test de Randall-Selitto (respuesta de vocalización a presión mecánica, 120-140 g vs 240-300 g en ratas control). La alodinia táctil fue atenuada (aumento del 70-80% en umbral de respuesta) de forma dosis dependiente por amitriptilina, por las dosis más altas (10 y 20 mg/kg) de venlafaxina (+50-60%) y de forma leve por la dosis mayor de fluoxetina (+30-40%). Todos los antidepresivos aliviaron de forma dosis dependiente y completamente la hiperalgesia mecánica, mostrando amitriptilina y venlafaxina mayor potencia que fluoxetina.

P431. CAMBIOS EN LA SENSIBILIDAD DOLOROSA TRAS LA BULBECTOMÍA OLFATORIA BILATERAL EN RATA Y SU RE- VERSIÓN POR FLUOXETINA

A. RODRÍGUEZ-GAZTELUMENDI, M. L. ROJO ANTUÑA, Á. PAZOS CARRO, Á. DÍAZ MARTÍNEZ

FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. SANTANDER, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: SAF2002-03189

La bulbectomía olfatoria bilateral en rata provoca un serie de modificaciones conductuales que son revertidas mediante el tratamiento crónico con antidepresivos y que van asociadas a cambios en diversos sistemas de neurotransmisión implicados en la depresión, muy en particular el sistema serotoninérgico. La 5-HT controla variadas respuestas conductuales, entre ellas la transmisión y procesamiento del dolor tanto a nivel supraespinal como espinal. La disfunción serotoninérgica que caracteriza al síndrome de bulbectomía olfatoria podría conllevar cambios en la sensibilidad dolorosa y al tratamiento del dolor. En este estudio hemos analizado el umbral de respuesta a estímulos térmicos (test de *tail-fllick*) en ratas bulbectomizadas así como el efecto de la administración crónica de fluoxetina sobre el umbral nociceptivo en comparación con su acción antidepresiva. El síndrome de bulbectomía olfatoria se manifestó a las 2 semanas de la cirugía olfatoria como un aumento en la actividad exploratoria (deambulaciones) en el test de campo abierto. En el grupo de ratas bulbectomizadas se observó una disminución en el umbral de respuesta a estímulos térmicos de intensidad moderada (latencia de 8,3 vs. 6,8 s del grupo control) y de intensidad alta (4,3 vs. 5,2 s del grupo control). La eficacia antidepresiva de la fluoxetina (10 mg/kg/día, s.c.) no apareció hasta transcurridas al menos 2 semanas del inicio del tratamiento. La fluoxetina ya mostró efecto analgésico al 4 día de inicio del tratamiento, de mayor intensidad al avanzar el tratamiento hasta conseguir un umbral de respuesta a estímulos térmicos similar al grupo control.

P432. ANTINOCICEPTIVE ACTION OF INTRATHECAL L-DOPA IN AN ANIMAL MODEL OF NEUROPATHIC PAIN

N. COBACHO^A, A.B. SERRANO^B, J.R. GONZÁLEZ-ESCALADA^C, C.L. PAÍÑO^D

^A SERV. NEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. ^B SERV. ANESTESIA Y REANIMACIÓN. ^C UNIDAD DEL DOLOR. ^D SERV. NEUROBIOLOGÍA-INVESTIGACIÓN. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: N.C. RECIBE UNA BECA DE LA FUNDACIÓN UPSA

Several studies suggest that descending monoaminergic systems modulate pain at spinal cord level. Increase of extracellular L-DOPA levels probably enhances dopaminergic and noradrenergic synaptic release and this might result in pain

modulation. We have tested if intrathecally administered L-DOPA has antinociceptive actions on chronic neuropathic pain. Neuropathic pain was produced in the left hindlimb of adult male rats by chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve [1], the right hindlimb serving as control. Innocuous tactile (von Frey monofilaments) and cold stimuli (acetone spray) were applied to each hindlimb plant to check for the development of allodynia before (baseline) and 14 days after CCI. An injection of 50 nanomoles of L-DOPA diluted in 20 microliter of HBSS or vehicle was then made intrathecally by direct lumbar puncture [2]. Allodynia was then tested at 15, 90, 180 min. and 24h after L-DOPA injection. Both tactile and cold allodynia consistently developed in left legs 14 days after CCI. Intrathecal L-DOPA completely inhibited allodynia at 15 minutes after injection. Antinociception decreased but was still significant at 90 and 180 minutes after injection and disappeared at 24h. By contrast, vehicle-injected rats did not show changes. These results show that an increase of L-DOPA levels in CSF produces antinociceptive effects in neuropathic pain and support the development of strategies using L-DOPA-releasing cells as intrathecal biological minipumps in its treatment. [1] Bennett et al, Pain 1988; 33: 87. [2] De la Calle et al, Brain Res Bull 2002; 59: 245.

P433. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LAS TERMINA- CIONES SENSORIALES DE LA CÓRNEA SENSIBLES A CAMBIOS DE TEMPERATURA

M.C. ACOSTA BOJ^A, C.L. LUNA GARCÍA^B, J. GALLAR MARTÍNEZ^A, C. BELMONTE MARTÍNEZ^A

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. ^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ALACANT, ESPAÑA

Objetivos. Estudiar, mediante registro extracelular unitario de terminaciones sensoriales en la córnea del ojo, el efecto de cambios de temperatura sobre las terminaciones de frío (TCF). **Material y métodos.** Se utilizó la preparación del ojo de cobaya *in vitro*, registrándose 164 TCF. Los ojos fueron colocados en una cámara de registro y perfundidos con solución a 32 °C. Se registró, aplicando sobre la córnea un microelectrodo de vidrio (~50 µm diámetro) relleno de la misma solución. La estimulación térmica se realizó cambiando la temperatura de la solución de perfusión desde 32 °C a 20 °C y 52 °C analizándose variaciones en la frecuencia de disparo (imp/s) evocados por dichos cambios. Se probó también el efecto del mentol (0,1 mM) y la capsaicina (1 µM). **Resultados.** Todas las TCF tenían actividad espontánea a 32 °C (8,1 ± 0,3 imp/s), que aumentó significativamente al enfriar (umbral: 28,7 ± 0,2 °C y frecuencia máxima: 19,4 ± 0,6 imp/s, alcanzada a 26,1 ± 0,2 °C) y disminuyó al calentar (silenciándose completamente a 36,4 ± 0,4 °C). Un 33% de las TCF presentaron 'respuesta paradójica' al alcanzar los 44,1 ± 0,8 °C (n = 61). Enfriando desde 52 °C los TCF comenzaron a disparar al alcanzar los 41,1 ± 0,4 °C. El mentol aumentó significativamente la frecuencia de disparo en todos los casos (42/42), la capsaicina sólo en el 60% (33/55). **Conclusiones.** Las TCF se comportan como las fibras sensoriales de frío de la piel o la mucosa oral o nasal, siendo particularmente sensibles a cambios dinámicos de temperatura. Su patrón de descarga sugiere que son responsables de las sensaciones de frescor y frío evocadas en la superficie del ojo por cambios de temperatura.

P434. RESPUESTA PARADÓJICA EN TERMINACIONES SENSORIALES DE LA CÓRNEA SENSIBLES A FRÍO

C.L. LUNA GARCÍA^A, M.C. ACOSTA BOJ^B, J. GALLAR MARTÍNEZ^C, C. BELMONTE MARTÍNEZ^A

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. ^C INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT.

^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ. SANT JOAN D'ALACANT. ALACANT, ESPAÑA

Objetivos. Estudiar, mediante registro extracelular unitario, las características de la respuesta paradójica (RP) de las terminaciones sensoriales de la córnea del ojo sensibles al frío. **Material y métodos.** Se utilizó la preparación del ojo de cobaya *in vitro*, colocando los ojos en una cámara de registro y perfundiéndolos con solución a 32 °C. Se registró los impulsos en las terminales nerviosas, aplicando sobre la córnea un microelectrodo de vidrio (~50 µm diámetro) relleno de la misma solución. La estimulación térmica se realizó cambiando la temperatura de la solución de perfusión desde 32 °C a 20 °C y 52 °C, analizándose las variaciones en la frecuencia de disparo (imp/s) evocados por dichos cambios. Se probó el efecto de capsaicina (1 µM); capsacepina (10-50 µM) y rojo de rutenio (10-100 µM). **Resultados.** Un 33% de las terminaciones de frío presentaron RP al alcanzar los 44,1 ± 0,8 °C, siendo sus características de respuesta al frío iguales a las de las terminaciones que carecen de RP. El 13,3% de las terminales sin RP respondieron a capsaicina, pero de las que tenían RP, respondieron el 94,7%. Capsacepina y

rojo de rutenio bloquearon la respuesta a capsaicina, pero no la RP. *Conclusiones.* Un 30% de las terminaciones corneales de frío tienen RP al calentamiento en el rango nocivo. Tal RP parece asociada a la expresión de canales TRPV1 dada su vinculación con la sensibilidad a capsaicina. No obstante la ausencia de bloqueo por rojo de rutenio sugiere que el calor ejerce un efecto complejo sobre la excitabilidad de las terminaciones corneales de frío.

P435. EFECTO ANTINOCICEPTIVO SUPRAESPINAL DE LA ADENOSINA Y SU RELACIÓN CON LOS RECEPTORES KAPPA
G. RAMOS-ZEPEDA, J.F. HERRERO

FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

La N-ciclopentil adenosina (CPA) es un agonista selectivo de los receptores A1 de la adenosina. Sus acciones antinociceptivas supraespinales y su interacción con los sistemas opioides no son conocidos en detalle, por lo que hemos estudiado el efecto espinal y supraespinal de la CPA en unidades motoras de ratas Wistar macho con inflamación de tejidos blandos (250-330g). Las UMA fueron activadas con estimulación nociceptiva mecánica y eléctrica (wind-up) y fueron estudiadas en animales intactos, espinalizados y sham-espinalizados. La CPA (10 a 320 µg/kg i.v.) no modificó la actividad nociceptiva en ratas espinalizadas. En animales intactos, sin embargo, se observó una inhibición completa de las respuestas, con DE50 de 92 ± 2 µg/kg. La CPA fue 10 veces más potente en animales sham-espinalizados (DE50 de $8,3 \pm 1$ µg/kg; $p < 0,001$). Estos resultados sugieren que el efecto antinociceptivo de la CPA se ejerce esencialmente a niveles supraespinales. El antagonista de los receptores A1 CPT no revirtió el efecto de la CPA, aunque su administración previa evitó el efecto. La actividad de la CPA fue totalmente revertida, pero no prevenida, por dosis altas (1 mg/kg) del antagonista opiáceo naloxona, lo que sugiere una interacción secundaria del sistema de la adenosina con receptores opioides. Dosis de naloxona selectivas para el receptor opioide µ (100 µg/kg) no antagonizaron el efecto de la CPA. Sin embargo, el antagonista selectivo de los receptores opioides kappa, nor-BNI, revirtió el efecto de la CPA. Nuestros datos muestran que el efecto antinociceptivo central de la CPA está relacionado con la activación de receptores opioides, preferentemente de tipo kappa.

P436. COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE CPA Y GABAPENTINA EN ANIMALES NORMALES, CON SENSIBILIZACIÓN POR ARTRITIS Y POR NEUROPATÍA
M.M. CURROS-CRIADO, J.F. HERRERO

FISIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

La N-ciclopentil adenosina (CPA) es un agonista del receptor A1 de la adenosina con efecto antinociceptivo en situaciones de inflamación de tejido blando. La gabapentina es un análogo del ácido g-aminobutírico (GABA), utilizado en clínica para el tratamiento del dolor neuropático. Nosotros quisimos saber si estos fármacos son efectivos en el dolor fisiológico y en situaciones de artritis, y comparar su efecto en el caso de la neuropatía. Registramos reflejos nociceptivos de retirada como unidades motoras aisladas, activadas por estimulación mecánica y estimulación eléctrica repetitiva de alta intensidad, en tres grupos de ratas Wistar macho (229-378 g): intactos, monoartritis (carragenina) y mononeuropatía (ligadura parcial del nervio ciático). La CPA (30-960 nmol/kg i.v.) disminuyó las respuestas a estimulación mecánica y eléctrica en los tres grupos de animales, con DE50 de 67 ± 1 , 53 ± 1 y 52 ± 1 nmol/kg para ratas normales, monoartríticas y neuropáticas, respectivamente. Su efecto depresor de la presión arterial fue intenso. La gabapentina (40-1280 µmol/kg i.v.) sólo disminuyó las respuestas en los animales neuropáticos, con una DE50 de 406 ± 3 µmol/kg y con apenas efecto sobre la presión arterial. El fenómeno de *wind-up*, característico de las neuronas medulares, fue completamente inhibido por la CPA en las tres situaciones experimentales. La gabapentina tan sólo lo inhibió en neuropatía. En conclusión, la CPA resultó ser un agente antinociceptivo muy efectivo en los tres grupos de animales. La gabapentina sólo tuvo efecto en los animales neuropáticos. El efecto de ambos fármacos es preferentemente central, sobre las neuronas de la médula espinal.

P437. POTENCIACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE OPIÁCEOS MU Y KAPPA POR DOSIS SUBANALGÉSICAS DE NITROPARACETAMOL (NCX-701)

F.J. AHUIR TORRES^A, G.B. GAITÁN RAPOSO^B, J.F. HERRERO GONZÁLEZ^C

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ DE HENARES. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

El fentanilo y el U-50488 H son opiáceos agonistas de los receptores mu y kappa respectivamente, con una gran capacidad analgésica, aunque su efecto es de corta duración. Hemos estudiado la posible potenciación y duración de su efecto con dosis subanalgésicas del antiinflamatorio no esteroideo donador de óxido nítrico nitroparacetamol (NCX-701). Utilizamos el estudio de reflejos nociceptivos de retirada utilizando la técnica de registro electrofisiológico de unidades motoras aisladas (UMA). Las unidades se activaron mediante estimulación mecánica nociva y eléctrica de alta intensidad, que genera el fenómeno de *wind-up*. Los experimentos fueron realizados en ratas Wistar macho (260-320 g) anestesiadas con alfa-cloralosa. En ausencia de NCX-701, el fentanilo inhibió las respuestas nociceptivas mecánicas con una DE50 de 18 mg/kg recuperando en 20 minutos. En presencia de NCX-701, la DE50 fue de 5.2 mg/kg, más de 3 veces inferior a la observada en ausencia de NCX-701, y no recuperó en 45 minutos. La potencia antinociceptiva del U-50488 H fue mayor en presencia de NCX-701 aunque la diferencia no fue significativa. La duración del efecto se incrementó de forma semejante a la observada con fentanilo. El fenómeno de *wind-up*, característico de neuronas nociceptivas, fue potenciado de forma similar a las respuestas a la estimulación mecánica. En conclusión, dosis subanalgésicas de NCX-701 incrementan la intensidad y duración del efecto antinociceptivo de los opiáceos, en especial de los agonistas del receptor mu, a través de una acción sobre las neuronas de la médula espinal.

P438. MODULACIÓN CENTRAL Y PERIFÉRICA DEL EFECTO ANALGÉSICO DE LA MEDETOMIDINA EN SITUACIÓN DE INFLAMACIÓN

C. MOLINA CAMACHO^A, J. F. HERRERO GONZÁLEZ^B

^A DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. FACULTAD DE MEDICINA/UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

La medetomidina (MED) es un agonista α2-adrenérgico con alta efectividad analgésica, especialmente en inflamación. Se desconoce la implicación de zonas supraespinales en su efecto analgésico y si existe una interacción del sistema α2-adrenérgico con inhibidores de ciclooxigenasas. Estudiamos el efecto antinociceptivo de MED (0,3 a 9,6 mg/kg i.v.) en dos grupos de ratas macho Wistar con inflamación plantar por carragenina: intactas ($n=8$) y espinalizadas ($n=7$) empleando la técnica del registro de unidades motoras aisladas. El efecto analgésico de MED fue más intenso en los animales intactos, tanto en respuestas a estimulación mecánica nociva ($8 \pm 3\%$ del control con 4,8 mg/kg frente a $28 \pm 7\%$ con 9,6 mg/kg en espinalizados), como en el fenómeno de *wind up* (reducción similar). En una segunda serie de experimentos estudiamos el efecto de MED en ausencia ($n=7$) y en presencia de dosis subanalgésicas de paracetamol ($n=7$) o nitroparacetamol (NCX-701; $n=6$). La combinación de MED con NCX-701 provocó un efecto casi 3 veces más potente (DE50: 0,45 mg/kg) que el observado sólo con MED o en combinación con paracetamol (DE50: 1,2 mg/kg). El efecto de MED con NCX-701 fue más duradero que en los otros dos casos, no observándose recuperación a los 90 minutos. Esta potenciación no se observó en el fenómeno de *wind up*, característico de las neuronas medulares. En conclusión, el efecto de MED está fuertemente influenciado por la integridad de las conexiones supramedulares. Además, la administración de dosis subefectivas de NCX-701 provoca un incremento significativo de la potencia y duración de su efecto analgésico.

P439. INTERACCIÓN ENTRE DISTINTOS SISTEMAS DE MODULACIÓN PARA CONTROLAR EL MODO DE RESPUESTA EN LAS CÉLULAS DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL (NGL) DEL GATO

J. CUDEIRO ^A, K. GRIEVE ^B, C. DE LABRA ^A, C. RIVADULLA ^A

^ANEUROCOM. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA. ^BFACULTY OF LIFESCIENCES. UNIVERSITY OF MANCHESTER. MANCHESTER, REINO UNIDO
FINANCIACIÓN: MCYT (BF12002-03200)

La respuesta en ráfagas de las células talámicas se asoció clásicamente a estados de sueño. Sin embargo, evidencias recientes demuestran que las ráfagas también están presentes en estados de alerta e incluso se ha postulado que tienen una función importante a la hora de detectar nuevos estímulos. En este trabajo investigamos las relaciones entre los diferentes sistemas que podrían estar modulando el paso de modo tónico a ráfagas. Combinamos registros extracelulares en el NGL, de gatos anestesiados y paralizados, con la eycción de agonistas-antagonistas de los distintos receptores presentes en el tálamo, y con la estimulación magnética transcranial (EMT) en la corteza visual primaria. Nuestros resultados muestran que: i) en todas las células existe un porcentaje de potenciales de acción en ráfagas, intercalados con potenciales de acción tónicos; ii) la eycción de fármacos que hiperpolarizan la célula aumenta este porcentaje; iii) el incremento se produce de forma abrupta, posiblemente cuando se alcanza cierto grado de hiperpolarización; iv) en ningún caso se alcanza un estado únicamente de ráfagas (los niveles máximos fueron del 55%). Los experimentos con EMT muestran que el bloqueo de la actividad cortical también puede aumentar el porcentaje de potenciales de acción en ráfagas. Estos resultados ponen de manifiesto, in vivo, una compleja trama de sistemas neuromoduladores, incluyendo sistemas excitadores e inhibidores, con capacidad para modificar el tipo de respuesta en el tálamo, aunque la importancia de cada uno con respecto a los demás posiblemente cambie en función del estado de atención en cada momento.

P440. MODULACIÓN DEL TÁLAMO VISUAL POR ACETILCOLINA Y ÓXIDO NÍTRICO: UN ESTUDIO MEDIANTE REGISTROS INTRACELULARES IN VIVO

J. MARIÑO, N. ESPINOSA, C. DE LABRA, J. CUDEIRO

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

En el gato, las neuronas de proyección del núcleo geniculado lateral del tálamo (NGL) son moduladas por aferencias corticales (directamente y a través del núcleo perigeniculado, (NPG)) y por axones procedentes de la región parabraquial del tronco encefálico (PB), cuyas terminales liberan acetilcolina (ACh) y óxido nítrico (NO). Nuestro grupo ha descrito un efecto facilitador del NO en la respuesta del NGL y NPG a la estimulación visual. El objetivo del presente trabajo es revelar los posibles mecanismos sinápticos de acción del NO sobre las células talámicas. Se realizaron registros intracelulares in vivo en neuronas talámicas de gatos anestesiados. La región PB se activó mediante microestimulación eléctrica. Se estudió la respuesta a la estimulación visual y a la activación del tronco en condiciones control y tras la inhibición sistémica de los efectos colinérgicos mediante la administración de atropina i.v., y de los efectos nitrérgicos mediante la administración i.p. de 7-nitroindazol. La eycción local (mediante microiontoforesis) en el NGL de ACh y atropina se utilizó como control para calibrar el alcance de la inhibición sistémica. La estimulación eléctrica en la región PB indujo efectos sinápticos excitadores sobre neuronas del NGL e inhibidores sobre células del NPG. La amplitud de estos efectos dependió de la intensidad y frecuencia de estimulación. La aplicación sistémica de atropina y 7-nitroindazol produjo modificaciones en la amplitud de los potenciales sinápticos evocados. Los resultados indican que el NO puede colaborar en la modulación postsináptica que las fibras del tronco ejercen sobre el NGL y NPG.

P441. MODIFICACIONES DE LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL NÚCLEO GENICULADO LATERAL DURANTE LA ESTIMULACIÓN VISUAL

C. DE LABRA, C. RIVADULLA, N. ESPINOSA, J. MARIÑO, J. CUDEIRO

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

El óxido nítrico (NO) es un neurotransmisor gaseoso que facilita la transmisión de la información visual en el núcleo geniculado lateral (NGL). En el gato, el NO es liberado por los terminales colinérgicos de grupos neuronales localizados en el tronco del encéfalo. El objetivo de este estudio fue cuantificar los niveles de NO en el tálamo de gatos anestesiados y paralizados durante la presentación de

un estímulo visual (enrejado sinusoidal). Se registró la actividad neuronal extracelular junto con las variaciones en la concentración de metahemoglobina (que es un indicador de NO); para esto último se empleó la técnica de espectrofotometría *in vivo*. Nuestros resultados muestran, en el 66% de los registros realizados ($n = 32$), un aumento en la concentración de NO durante estimulación visual. Observamos que la repetición del protocolo de estimulación visual provocó en algunos casos efectos sumatorios sobre la concentración de NO registrada. No se observó una correlación directa entre la respuesta neuronal y las variaciones en los niveles de NO. En un pequeño porcentaje de casos (9%) registramos una disminución en los niveles de NO como consecuencia del estímulo visual. En nuestros experimentos se ha medido por primera vez la liberación de NO in vivo como resultado de la estimulación sensorial. Estos resultados confirman que el NO presente en el LGN contribuye al procesamiento de la información visual en el circuito tálamo cortical y sugiere su posible implicación en procesos reguladores de amplio rango temporal.

P442. CÉLULAS REELINA POSITIVAS EN LA RETINA DE CARPÍN

E. GARCÍA-PINO ^A, E. CAMINOS ^A, A. VELASCO ^B, M. MARCHENA ^B, E. CID ^B, J.M. LARA ^B

^AÁREA DE HISTOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, CRIB, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA. ALBACETE. ^BBIOLOGÍA CELULAR. INCYL, UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC (BF12003-05989), FIS (PI021730) Y JCYL (SA23/04, SA131/04)

La reelina es una glicoproteína de matriz extracelular implicada en la migración neuronal durante el desarrollo del sistema nervioso central y, en el adulto, participa en la neurotransmisión, en la plasticidad sináptica y en la memoria. Su función la desempeña a través de una ruta de señalización mediada por la fosforilación de la proteína *disabled1* (Dab-1). En este trabajo caracterizamos el patrón de expresión de la reelina en la retina de un teleosteo adulto, el carpín (*Carassius auratus*), cuyo sistema nervioso tiene capacidad de crecer a lo largo de toda la vida del animal. Esta retina presenta zonas con características embrionarias, al tiempo que otras completamente maduras; además, en las zonas maduras, genera nuevos fotorreceptores que modifican la arquitectura sináptica de las capas plexiformes. Hemos analizado la distribución de reelina en la retina de carpín adulto utilizando un anticuerpo monoclonal antireelina (clon 142). Posteriormente, caracterizamos las células positivas para reelina realizando dobles marcajes fluorescentes con los anticuerpos anticalbindina, anticalretinina y antitirosina hidroxilasa. Hemos identificado una población muy concreta de células inmunorreactivas localizada en la zona más vitreal de la capa nuclear interna y algunas otras en capa de células ganglionares. Además, esta subpoblación difiere de aquellas positivas a calbindina y a calretinina. Nuestros resultados sugieren que, por su localización, su distribución y su morfología, las células inmunorreactivas a reelina son una subpoblación de células amacrinas relacionadas con células interplexiformes.

P443. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA REELINA Y DAB1 EN EL CARPÍN

M. J. HERRERO-TURRIÓN ^A, E. GARCÍA-PINO ^B, J. AIJÓN ^C, A. VELASCO ^C, J.M. LARA ^C

^ANEUROBIOLOGÍA MOLECULAR. ^BBIOLOGÍA CELULAR. INCYL, UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA. ^CFACULTAD DE MEDICINA, CRIB, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA. ALBACETE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC (BF12003-05989), FIS (PI021730) Y JCYL (SA23/04, SA36/04)

La transmisión de la señal visual depende de la organización de las células de la retina en las distintas capas: nucleares y sinápticas. Por otra parte, la ruta de señalización reelina-Dab1 está implicada en la posición final de las neuronas y, específicamente, en el patrón sináptico de la retina. La reelina es una glicoproteína muy grande (sobre 380 kDa) secretada a la matriz extracelular y de actividad mediada por su unión a Dab1. El objetivo del presente trabajo es clonar y caracterizar, al menos parcialmente, los cDNA de la reelina y Dab1 en el carpín (*Carassius auratus*). Para ello, a partir de mRNA totales extraídos de retina de carpín, sintetizamos cDNA (retrotranscripción) y mediante la combinación de distintas parejas de cebadores degenerados, específicos para cada gen, llevamos a cabo diferentes PCR obteniendo los clones deseados. Secuenciados estos clones, demostramos que, en carpín, tanto la reelina como Dab1 presentan una homología relativamente alta con las secuencias ya clonadas en otras especies. Así, la reelina clonada presenta una homología del 90% en su secuencia aminoácida al compararla con la clonada en el pez zebra (*Danio rerio*). Además, en este trabajo se ha clonado por primera vez en un teleosteo la molécula Dab1 y, en general, su secuencia proteica contiene las mismas características (sitios potenciales de fosforilación en tirosina y un dominio PTB) que las homólogas de amniotas.

P444. PROLIFERACIÓN CELULAR Y EXPRESIÓN DE GENES DE DESARROLLO DURANTE LA REGENERACIÓN DE LA RETINA PERIFÉRICA DE TELEÓSTEOS

E. CID LEDESMA, M. PARRILLA MONGE, M. MARCHENA FERNÁNDEZ, J. LARA PRADAS, A. VELASCO ARRANZ

DEPT. BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: JCYL, MCYT, FIS Y FUNDALUCE

La retina de teleosteos adultos posee tres poblaciones neurogénicas: progenitores neurales y precursores de bastones en la retina central, y retinoblastos en el margen retiniano formando la zona periférica germinal (ZPG). Trabajos previos demuestran que la ZPG regenera tras una criolesión. El objetivo de este trabajo es analizar, en dos especies (carpín y tenca), la proliferación celular y la expresión de genes implicados en determinación y diferenciación celular durante la regeneración. Mediante cuantificación de DNA por citometría de flujo determinamos la tasa de proliferación; RT-PCR cuantitativa permite comparar niveles de expresión en genes *homeobox* (*pax6*, *chx10*, *six3* y *brn3b*), *bHLH* (*neuroD* y *her6*) y *forkhead* (*foxn4*); y la técnica inmunocitoquímica detecta el antígeno nuclear de células proliferativas, la histona H3 fosforilada y la proteína Pax6. Estos métodos demuestran que entre 7 y 30 días tras lesión la proliferación es máxima, aparece una extensa ZPG y aumenta el número de progenitores incluso en las zonas más alejadas de la lesión. La expresión de todos los genes estudiados se reduce durante los primeros 15 días y posteriormente aumenta en todos los casos superando el nivel control. El pico máximo es más tardío que el de proliferación. El marcaje de Pax6 desaparece de la retina periférica; se recupera a partir de los 15 días y su intensidad aumenta en los progenitores de la ZPG y el epitelio ciliar. Concluimos que durante el proceso proliferativo-regenerativo los diferentes genes estudiados están implicados en la reconstrucción de la retina.

P445. ALTERACIÓN DE LAS POBLACIONES NEURONALES Y GLIALES EN LA RETINA DE UN RATÓN DEFICIENTE DE PAX6 (SEYDEY)A. VELASCO ARRANZ^A, G. GONZÁLEZ CURTO^B, M. PARRILLA MONGE^B, J. LARA PRADAS^B, J. ALIÓ Noguera^A^A DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA. ^B DEPT. BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

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

El ratón mutante SeyDey presenta una mutación semidominante que afecta al gen *pax6* y a genes próximos. La proteína Pax6 es un factor de transcripción fundamental durante el desarrollo del ojo. El objetivo de este estudio es el análisis de las modificaciones en las poblaciones neuronales y gliales en el ratón mutante +/SeyDey. Se utilizaron ratones mutantes heterocigotos (+/SeyDey) adultos y homocigotos sin la mutación (+/+). Los animales se manipularon según lo establecido en la directiva del Consejo de las Comunidades Europeas. Para analizar los distintos tipos neuronales se emplearon anticuerpos contra las proteínas: Pax6, PKC, TH, RT97, Calbindina D-28K, parvalbúmina y calretinina. Para la neuroglia se utilizaron marcadores anti-S100, anti-GS y anti-GFAP y para la microglia se realizó una tinción con TritonX100 y anti-IgG de ratón. La retina de los animales mutantes no tiene una organización laminar clara y presenta rosetas, o retinas secundarias, en el interior de la retina principal. No se aprecia claramente la salida de los axones de las células ganglionares y el nervio óptico es de menor grosor. En la retina de los animales mutantes se han encontrado todos los tipos neuronales y gliales retinianos, pero su número y localización no corresponden a los patrones de las retinas control. Concluimos que los genes afectados por la mutación SeyDey son claves para la formación correcta de la retina y la organización de sus distintos tipos celulares.

P446. DESARROLLO DE LAS CONEXIONES TECTALES AFERENTES EN LA LAMPREA DE MARM.C. DE ARRIBA PÉREZ^A, B. TELLERÍA COUÑAGO^B, M.Á. POMBAL DIEGO^C^A GRUPO NEUROLAM. ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR, DEPARTAMENTO BIOLOGÍA FUNCIONAL Y CC DE LA SALUD., ^C GRUPO NEUROLAM, ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR, DEPARTAMENTO BIOLOGÍA FUNCIONAL Y CC DE LA SALUD. FACULTAD DE BIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE VIGO. ^B GRUPO NEUROLAM. ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR, DEPARTAMENTO BIOLOGÍA FUNCIONAL Y CC DE LA SALUD. FACULTAD DE BIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE VIGO. VIGO, ESPAÑA

Existen marcadas diferencias morfológicas entre las larvas y las lampreas adultas debidas al gran desarrollo que sufren durante la metamorfosis. A nivel encefálico

uno de los sistemas más afectados es el visual, en el cual el techo óptico (TO; principal centro retinorecipiente) aumenta considerablemente de tamaño. Por otra parte, el TO recibe una amplia variedad de aferencias, siendo un importante centro integrador de diferentes tipos de información sensorial. En este trabajo estudiamos los cambios de las poblaciones tectopetales durante el desarrollo larvario y en relación con su organización en ejemplares adultos. Para ello, se realizaron inyecciones unilaterales in vitro con BDA en el TO de larvas de *Petromyzon marinus* de distintos estadios clasificadas según su longitud corporal. Nuestros resultados muestran que la mayoría de las células marcadas retrógradamente se localizan periventricularmente, apareciendo más células migradas a medida que avanza el desarrollo. Además, en varios núcleos prosencefálicos, el número de neuronas tectopetales marcadas en larvas es bastante inferior al observado en adultos. Por otra parte, muchas de las aferencias originadas en el tronco cerebral aparecen en larvas pequeñas, mientras que otros núcleos, como el palio medial o la eminencia talámica, se marcan por primera vez en larvas premetamórficas. En conjunto, estos resultados prueban que muchas aferencias tectales se establecen tempranamente, mientras que otras, sobre todo de origen prosencefálico, lo hacen más tarde.

P447. SISTEMA DE PREPROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN VISUAL PARA NEUROPROTESIS VISUALESS. ROMERO GARCÍA^A, A. MARTÍNEZ ÁLVAREZ^B, C. MORILLAS GUTIÉRREZ^B, F.J. PELAYO VALLE^B, E. FERNÁNDEZ JOVER^C^A DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA. ESCUELA UNIVERSITARIA POLITÉCNICA DE LINARES- UNIVERSIDAD DE JAÉN. LINARES (JAÉN). ^B DEPARTAMENTO ARQUITECTURA Y TECNOLOGÍA DE COMPUTADORES. UNIVERSIDAD DE GRANADA. GRANADA.^C INSTITUTO DE BIOINGENIERÍA. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ. ELCHE. ALICANTE, ESPAÑA

Objetivos. Presentamos una plataforma hardware/software para (a) Codificar y transformar la información visual en impulsos eléctricos, (b) Optimizar los parámetros de estimulación, (c) Realizar una reasignación automática del mapa de estimulación, que corrija las deformaciones del espacio visuotópico, y (d) Realizar experimentos psicofísicos que puedan ser útiles en futuras neuroprótesis visuales. **Material y métodos.** El sistema consta de un PC o una FPGA que se encarga de transformar la información visual en diferentes patrones espacio temporales y formas de estimulación (pulsos bifásicos, monofásicos, simétricos, asimétricos, etc.). El sistema permite el direccionamiento y la estimulación simultánea de 128 canales de información y se puede conectar a diferentes tipos de matrices de microelectrodos. **Resultados.** El sistema permite realizar un ajuste automático de los parámetros de estimulación para cada canal y una serie de experimentos psicofísicos para caracterizar las sensaciones visuales que se pueden producir. El cálculo de la dirección del electrodo que debe ser activado para producir un fosfeno en una posición concreta se realiza de manera automática. **Conclusiones.** La estimulación eléctrica de diferentes partes de la vía visual (retina, nervio óptico, corteza visual) puede representar una alternativa útil para proporcionar información del entorno y/o leer caracteres grandes en sujetos con diferentes discapacidades visuales. El sistema que presentamos permite codificar la información visual y transformarla en trenes de impulsos eléctricos optimizados para la estimulación de las neuronas de la vía visual. Además permite realizar diferentes experimentos psicofísicos y se puede adaptar específicamente para cada sujeto.

P448. DESARROLLO TEMPORAL DE LOS CAMPOS RECEPTORES VISUALES DE ÁREAS V1 Y MST

M.C. ROMERO, A.F. CASTRO, M.A. BERMÚDEZ, R. PÉREZ, F. GONZÁLEZ DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. A CORUÑA, ESPAÑA

Objetivo. Estudiar la evolución temporal de la conformación de los campos receptores (RF) visuales en áreas corticales V1 y MST. **Material y métodos.** Se registraron extracelularmente 49 células en V1 y 17 en MST en dos monos *rhesus*. La estructura temporoespacial de los RF se obtuvo mediante la técnica de correlación cruzada invertida entre la aparición de un *spike* y la posición del estímulo en el campo visual. La ventana temporal fue de 200 ms. La evolución temporal del RF se obtuvo calculando el inicio y la desaparición del RF. **Resultados y conclusiones.** En V1, a los 38 ms *prespike* al menos el 50% de las células ya tenían su RF estructurado y a los 59 ms el 100%. El RF se mantuvo estructurado en el 100% de las células hasta 68 ms, mientras que el 50% de ellas lo mantuvieron hasta los 84 ms *prespike*. En el área MST, el 50% conformaron su RF a los 105 ms y lo mantuvieron hasta los 173 ms. En esta área el 100% de las células mantuvieron el RF estructurado desde 142 a 151 ms *prespike*. En V1 el campo se mantuvo estructurado durante 46 ms en al menos el 50% de las células mientras que en MST se mantuvo durante 68 ms. Estos resultados muestran las latencias que hay en el procesamiento de la información visual en las diferentes áreas corticales e indican el tiempo requerido para procesar la información en cada una de ellas.

P449. ANÁLISIS DEL ORIGEN Y EXTENSIÓN DE LA INERVACIÓN TALÁMICA DE LA CAPA I DESDE NÚCLEOS VISUALES DEL TALAMO EN LA RATA ADULTA

J.P. RUBIO GARRIDO^A, C. PORRERO^B, F. CLASCÁ^B

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

Objetivos. La arborización de axones talamocorticales en la capa I de la corteza cerebral (TC1) constituye un sistema paralelo y funcionalmente complementario a la arborización talámica en las capas intermedias de la corteza. Se ha propuesto que TC1 es crucial en fenómenos de atención. Sin embargo la información sobre su organización anatómica es muy limitada. Aquí hemos investigado el origen y extensión de los axones TC1 procedentes de los núcleos visuales del tálamo de la rata. **Material y métodos.** En 20 ratas adultas marcamos los somas TC1 mediante depósitos epipiales de *fast-blue* aplicados sobre distintos puntos de todo el hemisferio cortical. En otros 12 experimentos, inyectamos en el tálamo dextrano biotinilado de 10000 MW para marcar los axones TC1. **Resultados.** Una gran parte de las neuronas del núcleo geniculado lateral (GL) y lateral posterior (LP) invierten la capa I de la corteza cerebral. Las neuronas del GL invierten la capa I de la corteza visual primaria, mientras que neuronas del LP, especialmente las localizadas en la división rostromedial, extienden sus axones de un modo disperso sobre gran parte del hemisferio cerebral, con un foco especialmente denso en el campo ocular frontal. **Conclusiones.** A través de su capa I, cualquier punto de la corteza cerebral recibe simultáneamente información de un gran número de núcleos talámicos. La organización del sistema TC1 es consistente con su posible papel en la modulación desde el tálamo visual de la actividad en extensas zonas de la corteza occipital, parietal frontal y límbica.

P450. LA PROTEÍNA CINASA DYRK1A ES ESENCIAL PARA LA MORFOGÉNESIS DE LA RETINA

A. LAGUNA TUSET^A, J.M. DELABAR^B, P. DE LA VILLA POLO^C, M. ARBONÉS DE RAFAEL^A

^A PROGRAMA GENES Y ENFERMEDAD. CENTRE D'REGULACIÓ GENÒMICA. BARCELONA, ESPAÑA. ^B LABORATOIRE EA3508. UNIVERSITÉ DENIS DIDEROT. PARÍS, FRANCIA. ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

El fenotipo de ratones transgénicos de ganancia y pérdida de función de Dyrk1A indica que la dosis de este gen es esencial para la correcta morfogénesis y funcionalidad del cerebro. La retina es una estructura del sistema nervioso que expresa niveles elevados de Dyrk1A durante su desarrollo. En este trabajo se muestra que Dyrk1A se expresa en poblaciones celulares específicas de la retina de ratones adultos. Se ha analizado a nivel morfológico la retina de ratones adultos Dyrk1A^{+/+} con un único alelo funcional del gen, y de ratones transgénicos (TgYAC152f7) que sobrepresen el gen DYRK1A humano. Los ratones Dyrk1A^{+/+} presentan una reducción del tamaño de los ojos y de la retina respecto a sus controles de camada. Aunque la laminación general es normal, el número de células en las capas nuclear interna (CNI) y ganglionar (CCG) está específicamente reducido respecto al total. De modo interesante, los ratones TgYAC152f7 presentan retinas más gruesas que las de sus controles debido a un aumento específico en el número de células en las capas CNI y CCG. El análisis inmunohistoquímico de ambos modelos muestra poblaciones celulares particularmente afectadas en la CNI (células bipolares de bastón, amacrinas y gliales de Müller) y en la CCG (células ganglionares y amacrinas desplazadas). Se observan además cambios en la morfología de los procesos neurales en las capas plexiforme externa e interna de los ratones analizados. Nuestros resultados muestran que alteraciones en la dosis génica de Dyrk1A afectan al establecimiento de una morfología correcta en la retina de ratón.

P451. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA RED CORTICAL REVELADAS POR LA PROPAGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA ACTIVIDAD EMERGENTE

N. MONTEJO CERVERA^A, R. REIG^A, M.V. SÁNCHEZ-VIVES^B

^A INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALCANT. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ^B INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALCANT. UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ-CSIC. SANT JOAN D'ALACANT. ALCANT, ESPAÑA

La red neuronal cortical *in vitro* genera actividad rítmica espontánea cuando se mantiene en una solución de concentraciones iónicas similares a las que existen *in situ* y a 37 °C (Sánchez-Vives et al, Nat Neurosci 2000; 3: 1027). Esta actividad rítmica consiste en ráfagas de actividad (< 1 Hz) en el neocórtex, intercaladas con periodos silentes. Los periodos de actividad se inician en las capas infragranulares, debido a que sus niveles más elevados de actividad espontánea reclutan a las neuronas

circundantes a través de la activación de las conexiones recurrentes (Compte et al, J Neurophys; 89, 2707). La dinámica espaciotemporal de la propagación de la actividad en la corteza es el resultado de la integración de las propiedades funcionales (sinápticas, intrínsecas, etc) y citoarquitectónicas de la red. Para analizar esta dinámica en detalle hemos registrado actividad espontánea en rodajas de corteza cerebral de hurón con una matriz de 64 electrodos (MED 64, Panasonic; 150 y 400 micras entre electrodos). Aquí presentamos los resultados obtenidos en corteza visual, identificamos el foco en el cual se inicia la actividad en oscilaciones sucesivas y la variabilidad del mismo. El bloqueo progresivo de la inhibición induce una aceleración de la velocidad de propagación desde unos 10 mm/s en control hasta 100 mm/s en ausencia de inhibición, resultando en un patrón de activación espacial menos restringido. Interpretamos estos resultados en el marco del balance excitación/inhibición y la activación de corrientes de membrana y matemáticamente, mediante simulaciones en una red neural de Morris-Lecar.

P452. CARACTERIZACIÓN DE LAS RESPUESTAS NEURONALES ANTE ESTÍMULOS VISUALES COMPLEJOS EN EL NÚCLEO GENICULADO LATERAL DE LA RATA

I. RODRÍGUEZ CEPEDA^A, N. PERALES CASTELLANOS^B, C. SÁNCHEZ RAMOS^C, I. MAKAROVA^D, O. HERRERAS^E, F. PANETSOS^B

^A DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. SERVICIO DE HISTOLOGÍA. ^D DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. SERVICIO DE HISTOLOGÍA. ^E DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN. SERVICIO DE HISTOLOGÍA. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. ^B DEPARTAMENTO DE MATEMÁTICA APLICADA. ^C ÓPTICA FISIOLÓGICA. ESCUELA UNIVERSITARIA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

El objetivo principal del presente trabajo es la caracterización electrofisiológica del LGN de la rata y el comportamiento de sus neuronas ante estímulos de diferente complejidad. Para ello, hemos realizado registros extracelulares multiunitarios en el LGN de ratas Wistar anestesiadas con uretano, mediante microelectrodos de tungsteno, estimulando con flash y secuencias de barras en movimiento. Hemos determinado las latencias, número de espigas y actividad oscilatoria de las respuestas provocadas por el flash y hemos estudiado la distribución espacial de los registros en el LGN en función de dichas características. Los estímulos complejos nos han permitido estudiar el comportamiento de las neuronas en función de la orientación, velocidad y resolución espacial de los mismos, observando un incremento de la latencia en la mayoría de los casos y frecuencias de oscilación en todos los rangos excepto a. En cuanto al coeficiente de variación de la frecuencia media de disparo de la población observamos que tiene una relación inversamente proporcional a la velocidad de la secuencia de barras, que disminuye cuando la resolución aumenta, excepto en el caso de una orientación de 90°, y que para una orientación de 0° es mayor que para una de 45° o 90°.

P453. LA CONEXINA-36 JUEGA UN IMPORTANTE PAPEL EN LA COMUNICACIÓN INTERNEURONAL RETINIANA EN LA VISIÓN ESCOTÓPICA DE VERTEBRADOS

G. MARTÍNEZ-NAVARRETE^A, A. ANGULO^B, J. MARTÍN-NIETO^C, N. CUENCA^A

^A DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA. ^B DEPARTAMENTO INTERUNIVERSITARIO DE ÓPTICA. ^C DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE ALCANT. ALCANT, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFI2003-01404, GV04B/452, ONCE, FUNDALUCE

Objetivos. Las conexinas pertenecen a una familia de proteínas que forman las sinapsis de tipo *gap junctions* en el sistema nervioso. Mutaciones en genes que codifican diversos tipos de conexinas son responsables de enfermedades neurodegenerativas como la sordera y neuropatías periféricas. El objetivo de este estudio es determinar la localización y distribución de la conexina-36, específica del SNC, en la retina de diversos vertebrados. **Métodos.** Se utilizaron técnicas de inmunofluorescencia para determinar la presencia y localización de la conexina-36 en cortes de criostato de retinas de vertebrados de varias especies. Se realizaron dobles inmunotinciones con diversos anticuerpos con el fin de identificar los distintos subtipos neuronales retinianos que expresan conexina-36. **Resultados.** Se identificaron puntos inmunorreactivos de conexina-36 entre los fotorreceptores en la capa plexiforme externa de la retina. En la capa plexiforme interna la conexina-36 se localiza en las dendritas de las células amacrinas AII. En estas células forma canales homólogos entre células AII y hemicanales entre células AII y células bipolares. En retinas de especies sin células amacrinas AII se observa una disminución de los niveles de la conexina 36 en la capa plexiforme interna. **Conclusiones.** La conexina-36 se localiza en las *gap junctions* de las capas plexiformes externa e interna de la retina de vertebrados. La conexina-36 participa en la comunicación interneuronal en la retina de vertebrados, especialmente en mamíferos con visión escotópica, donde toda la información visual procedente de los bastones pasa a través de las células amacrinas AII.

P454. CAUSAS MOLECULARES QUE DISPARAN LA MUERTE DE LAS CÉLULAS GANGLIONARES DE RETINA AL LESIONAR EL NERVIÓ ÓPTICO: ANÁLISIS DE LA REGULACIÓN DEL TRANSCRIPTOMA

M. AGUDO^A, P. SOBRADO^B, S. MAYOR^B, I. CÁNOVAS^B, E. AGUILERA^B, E. RAMÍREZ^B, A. HARRISON^C, F. HALLBÖÖK^D, M. VIDAL-SANZ^A

^A DEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^B DEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. MURCIA. ^C DEPARTMENTS OF MATHEMATICAL SCIENCES & BIOLOGICAL SCIENCES. UNIVERSITY OF ESSEX. ESSEX, REINO UNIDO. ^D DEPARTMENT OF NEUROSCIENCE. UPPSALA UNIVERSITY. UPPSALA, SUECIA.

En mamíferos adultos, el nervio óptico (NO) lesionado es incapaz de regenerar espontáneamente y de reestablecer la función visual. Es más, la axotomía induce durante las dos semanas posteriores a la lesión, la degeneración de los axones y la muerte masiva de estas neuronas, las células ganglionares de retina (CGR). Esta muerte impide cualquier posibilidad de recuperación funcional. Muchos estudios han explorado la posibilidad de rescatar las CGR axotomizadas administrando factores neurotróficos, neurotrofinas y substancias antiapoptóticas. Una de las mejores estrategias es la inyección de BDNF o NT4/5, ambas proteínas aumentan el número de CGR que sobreviven a la axotomía, aunque este efecto es transitorio. Así, un punto clave que aún permanece sin resolver es conocer la identidad de los factores génicos que desencadenan esta muerte asociada a la lesión del NO. Para intentar contestar a esta pregunta, hemos analizado, utilizando arrays de DNA (Affymetrix, rae 230.2) cómo se regula el transcriptoma de retinas lesionadas vs. retinas control en rata adulta a lo largo de distintos tiempos postaxotomía: 1, 3 y 15 días. Nuestros resultados muestran que, en retina adulta, la axotomía induce grandes cambios en la regulación génica y hasta 4200 genes cambian su patrón de expresión, de los cuales más de la mitad son desconocidos. El agrupamiento funcional de los genes conocidos revela que múltiples procesos están alterados, desde el metabolismo básico, comunicación celular, transporte y transcripción, hasta cascadas de señalización tan importantes en supervivencia como las de la apoptosis y de la MAPK/p38.

P455. CORRELACIÓN ENTRE ACTIVIDAD NEURONAL Y METABÓLICA EN RESPUESTA A ESTIMULACIÓN VISUAL EN EL NÚCLEO GENICULADO LATERAL DEL GATO IN VIVO

C. RIVADULLA, C. DE LABRA, N. ESPINOSA, J. MARIÑO, J. CUDEIRO NEUROCOM. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA, ESPAÑA
FINACIACIÓN: MCYT (BFI2002-03200)

La resonancia magnética funcional y la tomografía por emisión de positrones, son sólo dos de las numerosas técnicas de imagen basadas en la medición de los cambios vasculares que se producen como consecuencia de la actividad cerebral. A pesar de la expansión de este tipo de técnicas y de que los principios fisiológicos sobre los que se asientan fueron descritos hace más de 100 años, todavía no se conoce en profundidad la relación existente entre las señales medidas y la actividad neuronal. En este trabajo, con el objetivo de profundizar en el conocimiento de esa relación, realizamos simultáneamente registros extracelulares de neuronas individuales y análisis espectrofotométrico de la concentración de oxihemoglobina en el núcleo geniculado lateral del gato anestesiado y paralizado durante la presentación de distintos estímulos visuales. Nuestros resultados muestran un aumento de la concentración de oxihemoglobina durante la estimulación visual (43 ± 19 media $\pm$ SEM, $n = 16$). Este incremento se correlaciona de forma muy precisa con la respuesta visual, medida simultáneamente como potenciales de acción extracelulares. Así, por ejemplo, el aumento de la respuesta visual debido a un aumento de contraste en el estímulo visual es acompañado por un cambio proporcional en la señal de oxihemoglobina. Esta relación tan estrecha entre oxihemoglobina y actividad celular abre la puerta a nuevos mecanismos de regulación de la actividad neuronal con una cinética de actuación lenta cuya acción se desarrollaría sobre el lecho capilar en lugar de sobre las propias células.

P456. PRESENCIA DE CUERPOS CONVOLUCIONADOS EN LAS NEURONAS DE LA REGIÓN VISUAL DEL NÚCLEO RETICULAR TALÁMICO

V. REQUENA GALLEGÓ^A, A. C. PELÁEZ GONZÁLEZ^B, E. GARCÍA REQUENA^C, S. FONTANA^D, D. BERMÚDEZ FLORES^A

^A DEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. ^C DEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^B DEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. MÁLAGA. ^D CÁTEDRA DE HISTOLOGÍA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA. CÓRDOBA, ARGENTINA

Objetivos. Describir los cuerpos convolucionados (CCV) en las neuronas de la región visual del núcleo reticular talámico (NRT) y analizar sus cambios en distintas etapas de la vida. **Material y métodos.** Se han utilizado ratas albinas Wistar de 3, 24 y 28 meses de edad y se han aplicado las técnicas convencionales de microscopía electrónica. **Resultados y conclusiones.** Se describe por primera vez la presencia de cuerpos convolucionados en las somas neuronales de la porción visual del NRT. Su frecuencia es variable con la edad, especialmente a los 24 meses. En los CCV se distinguen tres niveles de organización, claramente establecidos en neuronas de los animales de 3 meses. En todos los niveles, los túbulos más externos se continúan con cisternas de RER. En las neuronas de 24 meses los CCV tienden a ser extensos y empaquetados, adoptando los túbulos la apariencia del segundo nivel de organización. En neuronas ancianas (animales de 28 meses), la mayor parte de los CCV contienen túbulos cortos, dilatados y orientados al azar, alejándose de los patrones de organización observados en otras etapas. Se establece la relación entre las características de los cuerpos convolucionados con los requerimientos neuronales en distintas etapas vitales.

P457. PROYECCIONES DE ÁREAS UNI Y POLIMODALES DEL LÓBULO TEMPORAL ROSTRAL A LA CORTEZA ENTORRINAL EN EL PRIMATE

A. MOHEDANO-MORIANO^A, A. MARTÍNEZ- MARCOS^B, P. PRÓ-SISTIAGA^B, M.M. ARROYO-JIMÉNEZ^B, P. MARCOS^B, E. ARTACHO-PÉREZ^B, R. INSAUSTI^B

^A LAB. ANATOMÍA. DEPARTAMENTO CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE. ^B LAB. ANATOMÍA. DEPARTAMENTO CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA

La corteza entorrinal (EC) forma parte del sistema de memoria declarativa del lóbulo temporal medial. Anatómicamente, la corteza entorrinal está recíprocamente conectada con el hipocampo y es la vía principal, por donde la información procedente de otras áreas de alto grado de asociación accede a éste. Por otro lado, la parte rostral del lóbulo temporal (RTL) es una región donde confluyen corteza asociativas de tipo unimodal (olfativo, visual y auditivo) y polimodal. Es, sin embargo, una región pobremente caracterizada anatómicamente, al contrario de lo que ocurre con el área más ventromedial del lóbulo temporal donde se localiza la corteza entorrinal. El presente estudio pretende caracterizar la conectividad de las regiones del RTL, específicamente con la EC, en los procesos de aprendizaje y memoria. Se han utilizado un total de 10 animales (*Macaca fascicularis*) en los que se ha inyectado aminodextrano biotinilado (BDA) en diferentes regiones del RTL (2 inyecciones en el labio dorsal del surco temporal superior (sts), 5 en el área TE y 2 en el área auditiva), todas las inyecciones mostraron marcaje en la EC, que evidencia cierta topografía. Las inyecciones en sts, área auditiva rostral y en área TE proyectan hacia la porción rostral de EC; sin embargo, las inyecciones en el área auditiva lateral proyectan hacia regiones más caudales. Estos resultados evidencian que la EC es la puerta por donde la información polisensorial y unimodal procedente del RTL accede al hipocampo, participando en los procesos del aprendizaje y memoria.

TACTO Y PROCESAMIENTO SOMATOSENSORIAL

P458. LA ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA DE LAS CÉLULAS DE HESSE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL ANFIOXO (*BRANCHIOSTOMA LANCEOLATUM*) PUESTA DE MANIFIESTO MEDIANTE ANTICUERPOS CONTRA LA HORMONA LIBERADORA DE LA GONADOTROPINA (GNRH)A. M. CASTRO CASTRO^A, M. J. MANSO REVILLA^B, N. SHERWOOD^C, R. ANADÓN ÁLVAREZ^D^A DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR. ^B ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA, ESPAÑA.^C DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE VICTORIA. VICTORIA, CANADÁ.^D DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y ECOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. SANTIAGO DE COMPOSTELA. A CORUÑA, ESPAÑA

Los ocelos de Hesse del cordón nervioso o médula espinal del anfioxo están constituidos por una célula pigmentaria y otra fotorreceptora cuya ultraestructura recuerda más a los fotorreceptores rabdoméricos de invertebrados que a los fotorreceptores de la retina y órgano pineal de vertebrados. Para el estudio de los sistemas GnRH del anfioxo (*Branchiostoma lanceolatum pallas*) se emplearon ejemplares adultos fijados con paraformaldehído al 4% y seccionados en criostato, así como una batería de anticuerpos contra GnRH de ascidias y de diversos peces (lamprea, carpín dorado, salmón, pez gato y elasmobranchio). En particular el anticuerpo policlonal contra la GnRH-I de lamprea permitió marcar selectivamente los fotorreceptores rabdoméricos de los ocelos de Hesse y sus proyecciones, desconocidas hasta ahora. Las células fotorreceptoras envían lateralmente delgados axones, rectos y lisos, que se comban ventralmente volviéndose de tipo arrosariado, decusándose y alcanzando la zona lateral de la sustancia blanca espinal, donde a media altura se acumulan y forman un pequeño fascículo longitudinal contralateral. Colaterales de estos procesos se dirigen al neuropilo ventral, aunque no parecen contactar con axones gigantes de Rohde. No se observaron otras estructuras inmunorreactivas a este anticuerpo en tejidos periféricos. Además, antisueros frente a la GnRH de pez gato y elasmobranchio marcaron las células de Joseph (fotorreceptores rabdoméricos localizados dorsalmente en el cerebro del anfioxo). Los resultados obtenidos muestran por primera vez inmunorreactividad a la GnRH en células fotorreceptoras de un cordado, permitiendo estudiar sus proyecciones cruzadas.

P459. CONEXIONES VISUALES ENTRE EL LÓBULO TEMPORAL ROSTRAL Y OTRAS ESTRUCTURAS DE LA VÍA VISUAL VENTRAL DENTRO DEL LÓBULO TEMPORAL EN PRIMATES (*MACACA FASCICULARIS*)P. PRÓSTIAGA^A, A. MOHEDANO MORIANO^B, A. MARTÍNEZ MARCOS^B, M. D. M. ARROYO JIMÉNEZ^B, P. MARCOS^B, E. ARTACHO PÉRULA^B, R. INSAUSTI^B^A LAB. ANATOMÍA. DEPARTAMENTO CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE. ^B LAB. ANATOMÍA. DEPARTAMENTO CIENCIAS MÉDICAS. FACULTAD DE MEDICINA. UCLM. ALBACETE, ESPAÑA

La información visual llega a la corteza visual primaria (V1) procedente de la retina. Desde allí, esta información es procesada por dos vías anatómicamente y fisiológicamente diferenciadas: una vía dorsal y otra ventral. La vía dorsal va hacia la corteza parietal y analiza elementos espaciales de la imagen (dónde). La vía ventral va hacia la corteza temporal inferior y procesa 'qué' son los estímulos. El presente trabajo pretende analizar la conectividad dentro de esta vía visual ventral, entre niveles rostrales y caudales del lóbulo temporal. Para ello, se inyectaron 4 macacos con trazadores anterógrados (amino dextrano biotinilado) y retrógrados (*fast blue* y diamidino *yellow*). Las inyecciones se localizaron en la parte rostral del lóbulo temporal (labio ventral del surco temporal superior (STS) y área TE próxima a la corteza peririnal) y el marcaje se analizó en áreas visuales más caudales dentro del lóbulo temporal. Las inyecciones retrógradas dieron marcaje en niveles caudales del lóbulo temporal tales como el fondo del surco temporal superior (STGf), área temporal (TE y OB) o corteza parahipocámpica posterior (TF) y parasubiculo (PaS). Las inyecciones anterógradas dieron lugar a marcaje en áreas que incluían STGf, TE, OB o núcleo caudado. Las inyecciones retrógradas en el LTR evidencian la continuidad de la vía visual ventral hasta niveles del LTR y las anterógradas confirman que estas conexiones son recíprocas.

P460. ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO COMPARATIVO DE LOS NÚCLEOS PR5, SPO5 E SPI5 DE LA RATA CON ESTÍMULOS DE AIRE

V. GARCÍA GONZÁLEZ, A. MORENO CELA, A. SÁNCHEZ JIMÉNEZ, F. PANETSOS PETROVA

DEPARTAMENTO MATEMÁTICA APLICADA. ESCUELA UNIVERSITARIA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

La innervación directa de las vibrisas que reciben los núcleos Pr5, Spo5 e Spi5 del núcleo sensorial del trigémino se procesa de forma distinta en cada uno de ellos y se proyecta por vías distintas hacia el tálamo y el mesencéfalo y el cerebelo. En el presente trabajo se ha realizado un estudio comparativo de las características electrofisiológicas de las neuronas de los tres núcleos que responden a estimulación de las vibrisas por pulsos de aire de una manera relativamente natural. Los tres núcleos presentan una homogeneidad en cuanto a los tipos de neuronas y diferencias significativas en cuanto a las características electrofisiológicas de sus neuronas. Cada uno de ellos está formado por tres grupos de neuronas (silentes, de baja frecuencia de disparo y de alta frecuencia) y difieren en la proporción de las neuronas y en las características de las mismas (frecuencia media de disparo, tónicas y fásicas, latencias, etc.).

P461. IDENTIFICACIÓN DE ESTÍMULOS TÁCTILES CON COMPLEJOS PATRONES ESPACIO-TEMPORALES EN EL NÚCLEO GRÁCIL DE LA RATAV. BONACASA MARTÍN^A, N. PERALES CASTELLANOS^A, I. RODRÍGUEZ CEPEDA^B, V.A. MAKAROV^C, F. PANETSOS^C^A DPTO MATEMÁTICA APLICADA. ^C DPTO DE MATEMÁTICA APLICADA. ESCUELA UNIVERSITARIA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID. ^B DPTO INVESTIGACIÓN. HISTOLOGÍA. HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL. MADRID, ESPAÑA

Para estudiar las propiedades y mecanismos neuronales que median el procesamiento y codificación de los estímulos táctiles, analizamos las respuestas de las neuronas del núcleo grácil de rata provocadas por estímulos mecánicos complejos que se aplican sobre la pata posterior. Dichos estímulos pretenden tener una semejanza mayor a estímulos reales que simples pulsos mecánicos lo que nos permite estudiar la discriminación y reproducibilidad de estímulos. Registramos la actividad neuronal en el núcleo grácil con electrodos simples y múltiples aplicando diferentes secuencias temporales y espaciales de estimulación en distintos puntos de la pata. Con ello conseguimos acotar el poder de resolución temporal (discriminación de estímulos en función de la frecuencia de estimulación) y espacial (discriminación en función de la separación entre pines). Estudiando las respuestas de las neuronas dependiendo del patrón de estimulación hemos determinado los patrones de disparo que caracterizan la direccionalidad de la estimulación, la magnitud de superficie estimulada y el paso de estímulos continuos a discretos (vibración táctil). En este contexto hemos determinado la contribución de las frecuencias de disparo y de los intervalos interespiga en la codificación de los estímulos. Nuestros resultados sugieren que la actividad oscilatoria y la generación de diferentes patrones espaciotemporales en el núcleo grácil en función de la estimulación podrían ser características fundamentales del procesamiento de la información sensorial de bajo nivel y jugar un papel importante en la selección de los parámetros que caracterizan el estímulo.

P462. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN PROVENIENTE DE LAS VIBRISAS EN EL NÚCLEO TRIGÉMINO DE LA RATA EN FUNCIÓN DE LA FRECUENCIA DE ESTIMULACIÓN

A. MORENO CELA, V. GARCÍA GONZÁLEZ, A. SÁNCHEZ JIMÉNEZ, F. PANETSOS PETROVA

DEPARTAMENTO MATEMÁTICA APLICADA. ESCUELA UNIVERSITARIA DE ÓPTICA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID, ESPAÑA

En ratas, las vibrisas conforman una entrada sensorial de alta resolución funcionalmente asociada a determinados ritmos involucrados en el procesamiento de la información somatosensorial de las vibrisas (4-12 Hz en *whisking* y 15-25 Hz palpando superficies). Estudios recientes han descrito una modulación en la actividad dependiente de la frecuencia de estimulación en Vpm y SI, pero nadie ha estudiado este comportamiento en el núcleo sensorial del trigémino. Para ello hemos realizado registros extracelulares en Pr5, Spo5 e Spi5 ante pulsos de aire sobre una única vibrisa a diferentes frecuencias desde 1 Hz hasta 40 Hz. Los resultados indican que las neuronas de Pr5 e Spi5 realizan varios procesos de filtrado (*low-pass*, *high-pass* y *band-pass*) mientras que las de Spo5 transmiten la información de las vibrisas sin filtrarla en absoluto. Pr5 e Spi5 son complementarios en las frecuencias de filtrado

el primero dejando pasar frecuencias entre 7 y 11 Hz y el segundo entre 3 y 8 Hz, complementando por tanto los óptimos de respuesta dentro de las frecuencias de *whisking*. También se dejan pasar frecuencias por encima de los 30 Hz en un 20% de las neuronas del Pr5 y 8% de las neuronas del Spi5.

P463. LA PRIVACIÓN CRÓNICA DE ENTRADAS SENSORIALES SE TRADUCE EN CAMBIOS ESTRUCTURALES EN LA CORTEZA CEREBRAL: UN ESTUDIO EN EL CAMPO DE BARRILES DE LA RATA ADULTA

C. AVENDAÑO^A, R. MACHÍN^B

^ADEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. MADRID. ^BMORFOLOGÍA. UAM. MADRID, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: BFU2004-05233-BFI, DEL MEC

La privación sensorial sin manipulación directa de receptores o vías nerviosas ha permitido descubrir aspectos importantes de la plasticidad anatómica y funcional del cerebro. La mayor parte de estos estudios se han centrado en los sistemas visual y somestésico durante etapas precoces del desarrollo postnatal. En este estudio presentamos datos estereológicos a nivel óptico (Nissl y citocromo oxidasa) y ultraestructural en el campo de barriles (BF) de la corteza de ratas de 3,5 meses mantenidas en cajas estándar y sin manipulación sensorial (grupo INT), o que se sometieron a recorte periódico de sus vibrasas derechas entre 1 y 3,5 meses postnatales (grupo DESAF). El volumen del BF osciló entre 8,2 y 10,2 mm³, sin diferencias significativas entre lados o grupos. En INT se observaron diferencias interhemisféricas, especialmente respecto a la fracción de volumen ocupada por dendritas y espinas (mayor en capas II, III o V en el lado izquierdo) y axones (menor en el lado izquierdo). En DESAF la mayoría de esas diferencias se borraban o incluso se invertían. Las densidades de superficie de membranas caracterizadas también mostraron diferencias interhemisféricas: las densidades presinápticas asimétricas y las espinas presentaron más superficie en capas V y III, respectivamente, del lado izquierdo en INT, pero no en DESAF. Diferencias entre grupos y con selectividad de capa se detectaron en varios parámetros relativos a las espinas, los axones, el espacio extracelular y las densidades presinápticas.

P464. PROYECCIONES AXONALES A LA ÁREAS CORTICALES SOMATOSENSORIMOTORAS DEL CONEJO

J.L. BUENO LÓPEZ, T. FUENTES DE LA CUERDA, A. ALEJO, J.L. MENDIZÁBAL ZUBIAGA, P. PRÓ SISTIAGA, C. REBLET
DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA. VIZCAYA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: MEC-BSA2001-1179 Y 9/UPV00212.327-15837/2004 Y FUNDACIÓN GANGOTTI

Las conexiones presentadas han sido poco estudiadas en el conejo. Aquí calculamos además la presencia de pirámides invertidas entre neuronas proyectantes. Conejos adultos recibieron inyecciones de 1% CTb (0,2-0,4 mL) en córtex somatosensorial primario (SI), transición entre córtex somatosensorial y visual (S-V) y córtex precentral medial (PrCM) y lateral (PrCL). Inyecciones en PrCM: marcado retrógrado importante en PrCL, SI, SII, córtex límbico anterior y escaso en córtex prefrontal y límbico posterior. Inyecciones en PrCL: abundante marcado retrógrado en SI y menor en SII, PrCM, córtex prefrontal y límbico anterior. Inyecciones en SI: marcado retrógrado en áreas SII, PrCL y S-V tras inyecciones posteriores; tras inyecciones mediales, en PrCM, córtex cingular anterior (especialmente su área más rostral), área 25 (prefrontal) y córtex peririnal (todas áreas asociativas polimodales de alto orden). Inyecciones en S-V: marcado retrógrado mayor en SI y VI, menor en SII y escaso en VII; a diferencia de inyecciones en SI, poco marcado en PrCL y PrCM. El marcado retrógrado en claustró insular fue menor tras inyecciones en SI, S-V y PrCL y amplio tras inyecciones en PrCM. Estas últimas marcaron además células en claustró endopiriforme anterior y amígdala basolateral. Hubo numerosas pirámides invertidas marcadas entre neuronas infraganglionares proyectantes. Su porcentaje respecto al total de éstas fue mayor en proyecciones originadas en áreas asociativas (S-V, VII, SII) a SI, y en proyecciones desde PrCL a S-V y VI-VII a PrCM. Los resultados mejoran la parcelación del córtex motor del conejo y sugieren que PrCM contiene un área motora suplementaria.

P465. PROYECCIONES AL CLAUSTRO Y A LA CORTEZA CEREBRAL DE NEURONAS INTERSTICIALES DE LA SUSTANCIA BLANCA Y ZONA SUBEPENDIMARIA VENTRICULAR EN EL CONEJO

C. REBLET, I. BLANCO SANTIAGO, A. ALEJO, T. FUENTES DE LA CUERDA, J. L. MENDIZÁBAL ZUBIAGA, J. L. BUENO LÓPEZ
DEPARTAMENTO DE NEUROCIENCIAS. FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO. LEIOA. VIZCAYA, ESPAÑA
FINANCIACIÓN: 9UPV/EHU 00212.327-15837/2004

En la zona endimaria y subependimaria (ZE y ZSE) del conejo joven hay células que expresan MAP2 y son generadas prenatalmente (Reblet et al, 2003). El objetivo de este estudio es averiguar si estas neuronas son de proyección larga. Conejos jóvenes (~ 2 meses) recibieron inyecciones de 1% CTb (0,2-0,4 mL) en el córtex somatosensorial primario (SI), visual primario (VI), límite somatosensorial-visual (S-V), límbico anterior (24b) y precentral medial y lateral (PrCM y PrCL). En dos animales se inyectó CTb en el claustró insular (CI). Tras las inyecciones se marcaron retrógradamente neuronas en la sustancia blanca subcortical (SBs) situada entre ZSE anterolateral y lateral y CI. (Estas neuronas se marcaron en menor proporción tras inyecciones en CI). Tras inyecciones en 24b y PrCM se observaron además neuronas marcadas en ZSE. Entonces el número de células marcadas en SBs fue mayor. Con estas inyecciones se marcaron también fibras bajo el lugar de inyección. Parte de estas fibras se dirigían hacia el ventrículo lateral, donde se continuaban con células parecidas a ependimocitos. Estas células se restringían a una región del ventrículo lateral. El resto de fibras marcadas se dirigían al núcleo caudado donde formaban extensos campos terminales. Los resultados muestran por primera vez que algunas células de la SBs proyectan al córtex (especialmente el límbico). También, que en la ZSE anterolateral existen neuronas con proyección larga al córtex límbico.

SISTEMA AUDITIVO

P466. EXPRESIÓN DE SINAPTOFISINA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO COCLEAR EN EL RATÓN C57BL/6J

M. V. BARTOLOMÉ PASCUAL^A, M. A. VICENTE-TORRES^B, P. GIL LOYZAGA^B

^ADEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA Y OTORRINOLARINGOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. MADRID. ^BDEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGÍA Y OTORRINOLARINGOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

El receptor auditivo sufre un proceso degenerativo durante el envejecimiento. En la especie humana se denomina presbiacusia, y consiste en una pérdida de audición progresiva y bilateral, generalmente simétrica, y afecta a todas las frecuencias perceptibles por el receptor auditivo, especialmente a las frecuencias agudas (espira basal). La sinaptofisina es un glicoproteína (38 kDa), dependiente de Ca⁺⁺ localizada en la membrana de las vesículas presinápticas. En este estudio se analizó y cuantificó la presencia de SY-38 en la cóclea durante el proceso de envejecimiento en ratones C57BL/6J de 1 a 24 meses de edad. El proceso degenerativo en estos ratones es muy similar al observado durante la presbiacusia. Las cócleas se procesaron con técnicas de inmunocitoquímica, utilizando un anticuerpo anti SY-38 (Novocastra), para microscopía óptica y electrónica. El análisis morfométrico se realizó en secciones midmodiolares con un sistema Leica Q500MC. La pérdida de sinapsis en la cóclea es un proceso gradual y progresivo comenzando en los contactos sinápticos con las células ciliadas externas y posteriormente con las células ciliadas internas. Este proceso se inicia en la base (altas frecuencias) y avanza hasta la espira media coclear. La porción apical de la cóclea (bajas frecuencias) mantiene siempre la distribución de SY-38 en todas las cócleas analizadas. Agradecimientos: Proyecto Complutense 2005.

P467. AFERENCIAS COLINÉRGICAS A LAS NEURONAS DE LA RAÍZ COCLEAR PUEDEN REGULAR LA INHIBICIÓN PREPULSO EN EL REFLEJO DE SOBRESALTO AUDITIVOM. A. MERCHÁN CIFUENTES^A, R. GÓMEZ NIETO^B, M. E. RUBIO^C, D. E. LÓPEZ GARCÍA^B^A INCYL^B DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELY PATOL/INCYL. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA^C DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY AND NEUROBIOLOGY. UNIVERSITY OF CONNECTICUT. STORRS. CONNECTICUT, ESTADOS UNIDOS
FINANCIACIÓN: FIS P102/1697; JCYL/FSE; SA 084/01 Y BFI2003-09147-C02-01

El reflejo auditivo de sobresalto (RAS) es una respuesta natural de defensa que implica una serie de contracciones rápidas de los músculos esqueléticos en respuesta a un estímulo acústico intenso e inesperado (Landis y Hunt, 1938). El RAS sufre diversas formas de plasticidad, una de las más importantes es la inhibición por estímulo previo (IEP), disminución normal de la respuesta auditiva de sobresalto por un estímulo acústico intenso cuando éste es precedido por un preestímulo no desencadenante del RAS. Si un preestímulo acústico provoca este fenómeno inhibitorio, debe existir una proyección entre un núcleo auditivo y alguno de los componentes del circuito del RAS, las neuronas de la raíz coclear (NsRC) o la formación reticular pontina (NRPC) modulando el circuito. Aunque la mayoría de los autores se inclinan a considerar el NRPC como el núcleo sobre el que se realiza esa modulación, trabajos previos en nuestro laboratorio apuntan a que la modulación se realice sobre las NsRC y por tanto sea ésta la responsable de la inhibición prepulso. Nuestro estudio sugiere que la proyección colinérgica entre el núcleo ventral del cuerpo trapezoide, NVCT, núcleo auditivo del complejo olivar superior, y las NsRC puede ser un elemento importante del circuito neuronal que regula la IEP del RAS en ratas. Sin excluir otros núcleos, hemos demostrado dicha proyección mediante la inyección de trazadores neuronales, junto con técnicas inmunohistoquímicas y el posterior análisis de las secciones en el microscopio óptico, electrónico y confocal.

P468. CAMBIOS PLÁSTICOS EN LAS RESPUESTAS NEURONALES DEL COLÍCULO INFERIOR DE LA RATA TRAS UN TRAUMA ACÚSTICO

M.A. IZQUIERDO GÓMEZ, O. HERNÁNDEZ GONZÁLEZ, M.A. MERCHÁN CIFUENTES, M. SÁNCHEZ MALMIERCA

UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA AUDITIVA. LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DE LA AUDICIÓN. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: DGES: BFI-2003-09147-02-01 Y JCYL-EU SA040/40

El colículo inferior (CI) es una estructura de integración y análisis precortical de la información procedente de los núcleos inferiores de la vía auditiva. Se ha demostrado que lesiones mecánicas de la cóclea dan lugar a cambios plásticos de la organización tonotópica en la corteza auditiva, pero no está claro si esos cambios reflejan fenómenos plásticos originados en núcleos inferiores como el CI. Por ello, nuestro objetivo principal es dilucidar si las neuronas del CI pueden sufrir cambios plásticos inducidos por un trauma acústico. Para ello, hemos utilizado ratas a las que hemos provocado un trauma acústico (utilizando un tono puro de alta intensidad, superior a 100 dB SPL). Tras la lesión, los animales permanecen durante al menos 40 días en condiciones ambientales normales. Antes de realizar los registros neuronales en el CI medimos los potenciales de acción compuestos del nervio auditivo (PAC) para evaluar la zona y magnitud de la lesión. Nuestros resultados preliminares muestran cambios en las respuestas espectrales y temporales de las unidades neuronales así como en la organización tonotópica del CI (las neuronas situadas en láminas de isofrecuencia adyacentes a la zona de proyección de los receptores lesionados sufren un cambio en su mejor frecuencia de respuesta). Nuestro análisis se centra en estudiar si estos cambios son debidos al componente residual de la respuesta tras la lesión o por el contrario son producto de una resintonización neuronal que pueda considerarse como un fenómeno plástico real.

Tabla P470

Gen diana	ERG	ABR
C3H	Ciego	Normal
IRS-2	Alterado	Sordo
Grf-1	Alterado	Normal
Lpa-1	Normal	Alterado
Igf-1	Normal	Sordo

P469. MECANISMOS DE INHIBICIÓN IMPLICADOS EN EL ANÁLISIS ESPECTRAL DE NEURONAS EN EL COLÍCULO INFERIOR DE LA RATA

S. CRISTAUDO, M.A. IZQUIERDO GÓMEZ, M.S. MALMIERCA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DE LA AUDICIÓN. INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: DGES: BFI-2003-09147-02-01 Y JCYL-EU SA040/40. S.C. POSEE UNA BECA PREDOCTORAL DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

El análisis espectral de un sonido es una de las tareas fundamentales del sistema auditivo para el procesamiento de la información acústica. Las neuronas auditivas poseen campos receptivos donde se puede observar la sensibilidad de una neurona a diferentes rangos de frecuencias e intensidades. Una forma de estudiar estos campos receptivos es mediante el análisis de los mapas de frecuencias (Mdf) de las neuronas. En este trabajo, hemos analizado los campos receptivos de las neuronas del colículo inferior en la rata anestesiada con uretano (1,5 g/kg). Para ello, tras aisladas unidades neuronales, construimos Mdf presentando 960 estímulos combinados de diferentes frecuencias e intensidades de manera aleatoria. Como los Mdf determinan la frecuencia idónea de las neuronas, a continuación repetimos el Mdf presentando a la vez un segundo estímulo consistente en un tono puro de baja intensidad a la frecuencia ideal de la unidad para simular actividad espontánea. De esta forma podemos revelar áreas de inhibición. Nuestros resultados preliminares muestran que hay una gran cantidad de neuronas (~52%) que presentan áreas de inhibición en su respuesta, algunas de las cuales son compatibles con bandas de inhibición lateral. Así, podemos concluir que el análisis espectral en el colículo inferior se produce, en parte, gracias a procesos inhibitorios generados a nivel local.

P470. ANÁLISIS FUNCIONAL NO INVASIVO DE LOS SISTEMAS AUDITIVO Y VISUAL EN RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTER. CEDIEL ALGOVIA^A, J. CONTRERAS-RODRÍGUEZ^A, R. RIQUELMGALIANA^A, R. BARHOUM^B, P. DE LA VILLA^B, I. VARELA-NIETO^A^A NINE. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. FACULTAD DE VETERINARIA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. ^B DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. UNIVERSIDAD DE CALALÁ DE HENARES. ALCALÁ DE HENARES. MADRID, ESPAÑA

Los ratones modificados genéticamente son modelos habituales en la investigación biomédica básica y aplicada. Se están utilizando, por ejemplo, para el estudio de la genética del desarrollo del sistema nervioso, la comprensión de sus alteraciones y en el estudio de los mecanismos de acción de nuevos fármacos. El análisis genético, bioquímico y al nivel molecular de estos modelos es accesible para muchos grupos de investigación, sin embargo, la mayoría de estos grupos no dispone de las aproximaciones experimentales no invasivas necesarias para analizar *in vivo* su fenotipo. Para abordar este aspecto, tradicionalmente se han utilizado los estudios de comportamiento, y más recientemente, las técnicas de imagen. Una alternativa a estos métodos es el estudio de los sistemas neurosensoriales *in vivo*, que permite diagnosticar con una mayor precisión las alteraciones asociadas al déficit génico o a la manipulación realizada. Estamos aplicando y desarrollando técnicas de valoración neurofuncional no invasiva (*non invasive neurofunctional evaluation*, NINE), de las funciones visual y auditiva (ABR). Las pruebas de electroretinografía (ERG), proporcionan información cuantitativa y temporal sobre la evolución y pérdida de capacidad visual. Las pruebas de ABR, proporcionan información sobre la funcionalidad de las estructuras neurales auditivas periféricas y sobre la vía acústica central. El ABR posibilita la determinación del umbral auditivo y de la velocidad de conducción del estímulo auditivo entre los distintos núcleos del tronco cerebral. Estos parámetros se encuentran muy afectados en algunas alteraciones severas del desarrollo y pueden ser valorados *in vivo* de un modo rápido y cuantitativo. Por último, la imagen de resonancia magnética nuclear nos permite analizar *in vivo* las características morfológicas del modelo en estudio, así como cuantificar perfiles bioquímicos de distintos marcadores metabólicos. En su conjunto, estas aproximaciones permiten abordar estudios del sistema nervioso muy dirigidos y sobre un menor número de animales. Mostraremos algunos ejemplos de NINE en animales genéticamente modificados.

P471. NEUROANATOMÍA COMPARADA DE LA COLUMNA LONGITUDINAL TECTAL (CLT)

M.A. APARICIO VAQUERO, M.A. MERCHÁN, E. SALDAÑA

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN (INCYL). UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

La columna longitudinal tectal (CLT) es un núcleo largo y delgado que recorre longitudinalmente el techo mesencefálico muy próximo a la línea media, desde el

extremo caudal de la comisura del colículo inferior, hasta el extremo rostral de la comisura del colículo superior. Como ha sido caracterizada únicamente en la rata, es razonable preguntarse si existe en otros mamíferos. Hemos aplicado una combinación de técnicas neurohistológicas para estudiar la CLT de algunas de las especies de mamíferos con mayor interés para las investigaciones biomédicas, entre las que se incluyen roedores, lagomorfos, carnívoros y primates. En todas las especies estudiadas, la CLT puede distinguirse de los núcleos que la rodean (colículo superior, sustancia gris periacueductal y colículo inferior) por sus propiedades citoarquitectónicas. El hecho de que esté presente en los principales órdenes de mamíferos terrestres, y que en todos ellos posea un tamaño notable, sugiere que se trata de una estructura común a la mayoría de los mamíferos, si no a todos ellos. El crecimiento experimentado por la CLT a lo largo de la evolución filogenética es proporcionalmente menor que el de otras regiones encefálicas, incluido el propio techo mesencefálico. Aunque desconocemos el significado biológico del núcleo, este dato sugiere que desempeña funciones básicas, compartidas por la inmensa mayoría de los mamíferos, y que probablemente no está ligado a conductas específicas, derivadas de sofisticados fenómenos evolutivos.

SISTEMAS QUÍMICOS

P472. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA PRIMERA ESTACIÓN DE RELEVO DEL SISTEMA VOMERONASAL EN EL RATÓN

P. SÁNCHEZ QUINTEIRO

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA. FACULTAD DE VETERINARIA. UNIVERSIDAD DE SAN TIAGO. LUGO, ESPAÑA

El bulbo olfatorio accesorio (BOA) es la primera estación de relevo del sistema vomeronasal (SVN) y guarda una gran semejanza estructural con el bulbo olfatorio principal (BOP), aunque es de tamaño considerablemente menor (1.100 L x 700 A x 650 H) en el adulto y sus estratos no están tan bien definidos como sería de esperar, entre otras razones por su peculiar forma (similar a un semióvalo). El objetivo prioritario de este trabajo es analizar las peculiaridades morfológicas del BOA en el ratón (BALB/c) en los primeros días de vida. Se han realizado cortes sagitales de los bulbos y las técnicas de OMP, MAP, GAP, GFAP, así como tinciones alternativas de Nissl. Es costumbre que en el BOA se consideren indistintamente las células mitrales y las células en penacho (M/T) y, precisamente, esta población celular es la que define la evolución del BOA, evolución notable desde el nacimiento hasta el estadio P13-P15, edad a partir de la cual se aprecian escasas modificaciones. La extensión de los axones de los nervios vomeronasales al interior del bulbo, así como la proyección de las dendritas de las células M/T nos lleva a plantear entre otras cosas que, con la metodología seguida en este estudio y contrariamente a lo que se supone, en el BOA no existe una definición clara del llamado 'gradiente rostrocaudal'.

P473. CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS ADAPTADORAS HOMER EN EL BULBO OLFATORIO DE LA RATA TRAS DEPRIVACIÓN SENSORIAL

M.V. BARBADO GONZÁLEZ, J.M. GARCÍA BRIÑÓN, M. VIDAL GARCÍA, C. GÓMEZ RODRÍGUEZ, J.R. ALONSO PEÑA

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE CASTILLA Y LEÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

La localización de mGluR1a en las neuronas está mediada por interacciones con las proteínas adaptadoras Homer, de las que existen varias isoformas. Las diferentes isoformas están implicadas en el anclaje del mGluR1a a diferentes dominios intracelulares, y la competición entre ellas determina la localización y el acoplamiento o desacoplamiento del receptor con la maquinaria interna que regula la salida de calcio desde el retículo endoplásmico y con ello su funcionalidad. En el presente trabajo estudiamos las modificaciones en la expresión de las proteínas Homer tras privación sensorial relacionándolas con los cambios en expresión y distribución del mGluR1a en estas mismas condiciones. Para ello realizamos técnicas de inmunofluorescencia y *western blotting* en bulbos olfatorios de ratas control y otras sometidas a privación olfatoria neonatal durante 60 días. En condiciones normales, las proteínas Homer se expresan fundamentalmente en los extremos distales de las dendritas que se arborizan en el interior de los glomérulos. Tras el proceso de privación se observa un incremento de la intensidad de marcaje para la isoforma 1b/c en estos mismos elementos, además de aparecer expresión de novo en los somas de células yuxtaglomerulares. La isoforma 2, por el contrario, sufre una caída en su expresión que se traduce en una menor intensidad de marcaje en la capa glomerular. Estos datos sugieren la participación de Homer2 en el anclaje del mGluR1a a las

porciones distales de las dendritas de las células yuxtaglomerulares, mientras que Homer1a/b participaría en la redistribución del receptor a los dominios dendrítico proximal y somático.

P474. ORGANIZACIÓN DEL COMPLEJO AMIGDALINO EN ANUROS

N. MORENO, R. MORONA, J.M. LÓPEZ, M. MUÑOZ, L. DOMÍNGUEZ, A. GONZÁLEZ

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE BIOLOGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID, ESPAÑA

Actualmente se está llevando a cabo una reevaluación del complejo amigdalino de anuros, inicialmente definido como un único núcleo posteriormente subdividido en medial y lateral, en base a técnicas neuroquímicas, hodológicas y de expresión génica. Así, distintos territorios amigdalinos han sido identificados en anuros comparables con sus homólogos en amniotas. Estudios durante el desarrollo indican que éste incluye núcleos de origen palial, subpalial y mixto y los datos hodológicos e inmunohistoquímicos apoyan sus homología con los núcleos amigdalinos de similar origen en amniotas. Por esto, la amígdala lateral, se corresponde con la porción ventral del palio ventral y comparte muchas características hodológicas e histoquímicas con los derivados ventropaliales amigdalinos del complejo basolateral de amniotas, como la innervación olfativa, la relación con otros núcleos amigdalinos o la proyección al hipotálamo ventral vía la *stria terminalis*. La amígdala medial muestra marcadores paliales y subpaliales que podrían corresponder a una población mixta, pero con una homogeneidad hodológica, constituye el principal centro vomeronasal secundario que proyecta al hipotálamo ventral y recibe una importante innervación peptidérgica. Finalmente, la amígdala central es un derivado subpalial que constituye la subdivisión autónoma del complejo amigdalino como en amniotas, presentando conexiones con centros autónomos como el núcleo del tracto solitario o el área parabraquial. Ésta nueva caracterización del complejo amigdalino de anuros consolida la idea de la existencia un patrón común de organización amigdalina en tetrápodos, incluyendo patrones de expresión para diferentes marcadores durante el desarrollo y en el adulto así como características hodológicas y neuroquímicas.

P475. ALTERACIONES EN LA CORRIENTE MIGRATORIA ROSTRAL DE LOS RATONES +/-SEYDEY

G. GONZÁLEZ CURTO, J. VALERO GOMÉZ-LOBO, A. RODRIGO MURIAS, F. CALVO BALTANÁS, E. WERUAGA PRIETO, J.R. ALONSO PEÑA

LABORATORIO DE PLASTICIDAD NEURONAL Y NEURORREPARACIÓN. UNIVERSIDAD DE SALAMANCA. SALAMANCA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: DGI, JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN, FUNDACIÓN MAM

La mutación SeyDey afecta al gen Pax6, un factor de transcripción que regula la expresión de moléculas implicadas en la migración y adhesión celular. Los ratones +/-SeyDey presentan una disminución en el tamaño del bulbo olfatorio (BO) y un menor número de interneuronas, principalmente células periglomerulares y granos. Estos son los tipos celulares en los que se diferencian los neuroblastos que migran a través de canales astrocitarios hacia el BO por la corriente migratoria rostral (CMR). Estudiamos la organización de la CMR en ratones +/-SeyDey adultos. Animales mutantes y control fueron inyectados con BrdU para identificar células proliferativas. Se realizaron inmunofluorescencias triples con marcadores neuronales, gliales, de migración, diferenciación, proliferación y muerte celular. Los animales mutantes presentan una desorganización de los canales gliales y una dispersión de las células pertenecientes a la CMR, que va acompañado de un aumento en el número de células BrdU positivas localizadas fuera de los tubos gliales. Además, hay cambios significativos en algunos de los marcadores utilizados, incluyendo marcadores gliales (GFAP), neuronales (calretinina), y de migración (PSA-NCAM). La haploinsuficiencia de Pax6 afecta a la migración de neuroblastos por la CMR, produciendo una caída de interneuronas nuevas en el BO y alteraciones en la organización celular en las regiones adyacentes a la CMR.

P476. ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LAS CONEXIONES DEL SISTEMA GUSTATORIO EN EL CONDRÓSTEO ACIPENSER BAERI

G. HUESA RODRÍGUEZ, J. YÁÑEZ SÁNCHEZ

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR. UNIVERSIDAD DE A CORUÑA. A CORUÑA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC, BFU2004-03144

En los peces, el sistema gustatorio procesa la información recibida a través de los receptores generalmente distribuidos en la cavidad orofaríngea, y que pueden localizarse además en la superficie corporal. Hemos analizado el sistema gustatorio

del esturión, un representante actual de los vertebrados primitivos, para conocer sus conexiones encefálicas y compararlas desde un punto de vista evolutivo. Para el estudio de las conexiones, hemos utilizado un trazador neuronal lipofílico (DiI) aplicándolo sobre tejido previamente fijado en paraformaldehído. Los axones de los nervios gustatorios terminan unilateralmente en la columna viscerosensorial localizada en el rombencéfalo, donde las áreas de proyección primaria correspondientes a cada nervio (VII, IX, X) aparecen ligeramente solapadas. Las neuronas de esta columna viscerosensorial proyectan a su vez unilateralmente a la región del istmo, terminando en el denominado complejo gustatorio visceral secundario, y hacia el tegmento mesencefálico, donde los axones marcados aparecen distribuidos de manera dispersa. Asimismo, la aplicación del trazador en el complejo gustatorio visceral secundario reveló una conexión recíproca con su núcleo homónimo contralateral, así como proyecciones eferentes ipsilaterales con el toro lateral, hipotálamo y telencéfalo ventral. La eferencia directa de este núcleo ístmico al telencéfalo sólo se ha descrito en esturión y en algunos peces teleosteos. Las proyecciones gustatorias primarias y secundarias en esturión parecen presentar una cierta organización topográfica, característica que parece estar conservada en diferentes grupos de vertebrados, a diferencia del patrón de las conexiones del complejo gustatorio visceral.

P477. CORRIENTES DE FUGA DE POTASIO EN LAS CÉLULAS QUIMIORRECEPTORAS DEL CUERPO CAROTÍDEO DE CONEJO: MODULACIÓN POR QUIMIOESTIMULANTES

L. ALMARAZ, E. GEIJO-BARRIENTOS

UNIDAD DE NEUROFISIOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS DE ALICANTE, UMH-CSIC, SAN JUAN DE ALICANTE, ALICANTE, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: BFI2002-03467

Hasta el momento, el estudio de los mecanismos eléctricos implicados en la activación de las células quimiorreceptoras del cuerpo carotídeo (CC) en el conejo se ha limitado al estímulo hipóxico y a sus efectos sobre las corrientes iónicas dependientes de voltaje. En este trabajo hemos investigado las respuestas de voltaje y de corriente de membrana de estas células frente a otros quimioestimulantes como el dinitrofenol (DNP) y la acidosis. Los registros electrofisiológicos se han realizado con la técnica de *patch-clamp* en su configuración de parche perforado en células mantenidas en cultivos primarios 3-48 horas. En *current-clamp*, las células quimiorreceptoras bañadas con solución control (20% O₂; pH 7,42) presentan un Em de -49 ± 2 mV (media $\pm$ se; $n = 12$). La acidificación del medio extracelular (pH 6,6) o la adición de DNP (200 microM) produce una despolarización de 11 ± 1 mV y 10 ± 1 mV respectivamente ($n = 6$). En *voltage-clamp*, la aplicación de rampas de voltaje (entre -100 y -30 mV) a células fijadas a -50 mV muestra que ambos estímulos bloquean una corriente de salida no dependiente de voltaje que revierte a potenciales próximos a -80 mV (EK calculado en nuestras condiciones experimentales = -80 mV) y persiste en presencia de TEA (10 mM), 4-AP (3 mM) y 0 Ca^{2+} extracelular; el Erev de esta corriente se desplaza hacia potenciales más positivos al aumentar la concentración de K⁺ extracelular. Nuestros resultados muestran que en el CC de conejo, las corrientes de fuga de potasio participan en los procesos de transducción sensorial.

P478. EXPRESIÓN DE RECEPTOR D2 DE DOPAMINA EN LOS GLOMÉRULOS OLFATORIOS DEL BULBO OLFATORIO DE LA RATA

C. CRESPO RUPÉREZ, M. GUTIÉRREZ-MECINAS, F.J. GRACIA-LLANES, J.M. BLASCO-IBÁÑEZ, A.I. MARQUÉS-MARÍ, F.J. MARTÍNEZ-GUIJARRO
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR, UNIVERSIDAD DE VALENCIA, BURJASOT, VALENCIA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC (BFU2004-00931/BFI), GENERALIDAD VALENCIANA (GV04A-076 Y GRUPOS 03/119)

La dopamina juega un papel fundamental en el procesamiento de la información olfatoria que tiene lugar en los glomérulos olfatorios y este papel está mediado por receptores de tipo D2. En base a estudios autorradiográficos y electrofisiológicos, se piensa que, en el neuropilo glomerular, los receptores D2 se encuentran en los terminales del nervio olfatorio, desde donde modularían la entrada de información sensorial al cerebro. Sin embargo, la localización subcelular de estos receptores en los elementos que integran el neuropilo del glomérulo no ha sido analizada con anterioridad. Nuestro objetivo es analizarla combinando métodos inmunocitoquímicos y microscopía electrónica. Los resultados de este estudio demuestran que los receptores D2 de dopamina se encuentran a nivel presináptico en diferentes elementos del neuropilo glomerular, que incluyen: terminales del nervio olfatorio, dendritas de células principales y gémulas de una población de células periglomerulares gabérgicas y dopaminérgicas. Además, en numerosas

ocasiones, aparecen asociados a las especializaciones presinápticas de estos elementos. Estos datos sugieren un amplio rango de acción de la dopamina en la modulación de la olfacción a nivel glomerular, mediante mecanismos presinápticos que podrían incluir: reducción de la liberación de glutamato desde los terminales axónicos del nervio olfatorio hacia las dendritas de células principales y periglomerulares; reducción de la liberación de glutamato desde las dendritas de células principales hacia las dendritas de células periglomerulares; modulación de la neurotransmisión de una población de células periglomerulares gabérgicas y dopaminérgicas.

P479. EXPRESIÓN DE GUANILATO CICLASA SOLUBLE EN UNA POBLACIÓN ESPECÍFICA DE CÉLULAS PERIGLOMERULARES QUE CONTIENEN CALBINDINA D-28K EN EL BULBO OLFATORIO DE LA RATA

F.J. GRACIA-LLANES, M. GUTIÉRREZ-MECINAS, C. CRESPO, J.M. BLASCO-IBÁÑEZ, A.I. MARQUÉS-MARÍ, F.J. MARTÍNEZ-GUIJARRO

DEPARTAMENTO BIOLOGÍA CELULAR, UNIVERSIDAD DE VALENCIA, BURJASOT, VALENCIA, ESPAÑA

FINANCIACIÓN: MEC (BFU2004-00931/BFI), GENERALIDAD VALENCIANA (GV04A-076 Y GRUPOS 03/119)

Los glomérulos olfatorios son estructuras de neuropilo donde tiene lugar el relevo sináptico de la información olfatoria entre los axones del nervio olfatorio y los penachos dendríticos de las células principales del bulbo olfatorio. En los circuitos del glomérulo, existe una subpoblación de células periglomerulares que producen óxido nítrico y se ha propuesto que este gas podría modular la integración sináptica de la información sensorial en su entrada al cerebro. Sin embargo, todavía no se conoce el papel específico que el óxido nítrico desempeña en esta modulación; de hecho, ni siquiera se sabe cuáles son las dianas sobre las que actúa dentro del glomérulo. Gran parte de las acciones del óxido nítrico en el cerebro están mediadas por la activación del enzima guanilato ciclasa soluble con la consiguiente síntesis de GMP cíclico que actúa como segundo mensajero. En este estudio, nuestro objetivo es caracterizar las dianas sobre las que actúa el óxido nítrico en los glomérulos olfatorios activando la síntesis de GMP cíclico. Para ello, analizamos la expresión de las subunidades alfa1 y beta1 de la guanilato ciclasa soluble en los elementos que integran el neuropilo glomerular. Nuestros resultados indican expresión en una subpoblación específica de células periglomerulares que además expresan la proteína ligante de calcio calbindina D-28k. La caracterización neuroquímica de estas células y su conectividad dentro del glomérulo olfatorio revelan un nuevo vínculo entre transmisión sináptica y no sináptica en el bulbo olfatorio.

SISTEMAS SENSORIALES EN INVERTEBRADOS

P480. CAMBIOS EN EL NÚMERO DE SINAPSIS MODIFICAN LA PERCEPCIÓN OLFATIVA EN DROSOPHILA

A. ACEBES, A. FERRÚS

NEUROBIOLOGÍA DEL DESARROLLO, INSTITUTO CAJAL, MADRID, ESPAÑA

Deseamos conocer qué relación hay entre número de sinapsis y magnitud de la respuesta comportamental. Estudios previos con el gen *gigas/TSC2* mostraron que el aumento en el número de sinapsis sensoriales aumentaba la percepción olfativa. La búsqueda de genes implicados en actividad sinaptogénica ha generado dos nuevas herramientas: a) la sobre-expresión del gen de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) en grupos neuronales específicos produce un aumento de un 300% en el número de sinapsis y b) la sobre-expresión del gen de la glicógeno sintasa cinasa-3 (GSK3) induce una pérdida de sinapsis cercana al 30%. Aquí, hemos empleado dos líneas GAL4 de neuronas centrales olfativas: a) interneuronas locales y b) neuronas de proyección. Estas líneas han sido cruzadas con líneas UAS que permiten sobreexpresar las proteínas PI3K y/o GSK3 exclusivamente en esas neuronas. Morfológicamente no se ha observado ningún cambio en el número y patrón de proyección. Sin embargo, se observa un aumento (PI3K) o una disminución (GSK3) en la señal sináptica y número de ramificaciones axonales. Los resultados comportamentales muestran diferencias significativas en curvas dosis-respuesta en a) individuos en los que hay un descenso en el número de sinapsis de las interneuronas locales y b) un aumento del número de sinapsis en neuronas de proyección. Se utilizará imagenografía cuantitativa para visualizar la transmisión sináptica in vivo. Además, se están analizando los efectos en áreas de integración sensorial, como los *corpora pedunculata* y el protocerebro lateral, implicadas en el aprendizaje y la memoria olfativa. Están en curso experimentos de aprendizaje asociativo.