

REVISIÓN

Marcaje colinérgico en la corteza cerebral y el hipocampo en algunas especies animales y su relación con la enfermedad de Alzheimer

E. Orta-Salazar^a, C.A. Cuellar-Lemus^a, S. Díaz-Cintra^b y A.I. Feria-Velasco^{a,*}

^a Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara, Zapopan, México

^b Instituto de Neurobiología (INB), Campus UNAM-Juriquilla, Juriquilla, Querétaro, México

Recibido el 24 de septiembre de 2012; aceptado el 4 de octubre de 2012

Accesible en línea el 22 de febrero de 2013

PALABRAS CLAVE

Inervación colinérgica;
Colina acetiltransferasa;
Acetilcolinesterasa;
Corteza cerebral;
Hipocampo;
Enfermedad de Alzheimer

Resumen

Introducción: El sistema colinérgico incluye neuronas localizadas en el cerebro basal anterior y sus axones largos proyectan a la corteza cerebral e hipocampo. Este sistema modula la función cognitiva. En la enfermedad de Alzheimer (EA) y en el proceso de envejecimiento la disfunción colinérgica hay una asociación entre el deterioro cognitivo y el daño progresivo de las fibras colinérgicas, lo que conduce al postulado de la hipótesis colinérgica.

Desarrollo: En la EA se producen alteraciones en la expresión y en la actividad de la colina acetiltransferasa (ChAT) y la acetilcolinesterasa (AChE), enzimas específicas relacionadas con la función del SC. Ambas proteínas juegan un papel importante en la transmisión colinérgica mostrando variaciones en la corteza cerebral y en el hipocampo, tanto por el envejecimiento, como por la EA. En ambas estructuras, los desórdenes demenciales están asociados a la destrucción severa y desorganización de las proyecciones colinérgicas que se encuentran afectadas. Para el estudio de este sistema se han usado marcadores específicos como los anticuerpos contra ChAT y AChE que han sido empleados en las técnicas de inmunohistoquímica de luz y microscopía electrónica en algunas especies animales.

Conclusiones: En este trabajo se hace una revisión de los principales estudios inmunomorfológicos de la corteza cerebral e hipocampo de varias especies animales con énfasis en el SC y su relación con la EA.

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

KEYWORDS

Cholinergic innervation;

Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease

Abstract

Introduction: The cholinergic system includes neurons located in the basal forebrain and their long axons that reach the cerebral cortex and the hippocampus. This system modulates

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: alfredoferia1340@hotmail.com (A.I. Feria-Velasco).

Choline acetyltransferase; Acetyl cholinesterase; Cerebral cortex; Hippocampus; Alzheimer's disease

cognitive function. In Alzheimer's disease (AD) and ageing, cognitive impairment is associated with progressive damage to cholinergic fibres, which leads us to the cholinergic hypothesis for AD.

Development: The AD produces alterations in the expression and activity of acetyltransferase (ChAT) and acetyl cholinesterase (AChE), enzymes specifically related to cholinergic system function. Both proteins play a role in cholinergic transmission, which is altered in both the cerebral cortex and the hippocampus due to ageing and AD. Dementia disorders are associated with the severe destruction and disorganisation of the cholinergic projections extending to both structures. Specific markers, such as anti-ChAT and anti-AChE antibodies, have been used in light immunohistochemistry and electron microscopy assays to study this system in adult members of certain animal species.

Conclusions: This paper reviews the main immunomorphological studies of the cerebral cortex and hippocampus in some animal species with particular emphasis on the cholinergic system and its relationship with the AD.

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

Introducción

En el cerebro de los mamíferos, los núcleos colinérgicos se localizan en el prosencéfalo basal (PB), hacia el *septum* medial a través de la banda diagonal de Broca, al núcleo basal de Meynert (NBM), incluyendo a la sustancia innominada. Las neuronas situadas más rostralmente, en el *septum* medial y rama vertical de la banda diagonal de Broca, inervan al hipocampo (vía septo hipocámpica). Las neuronas más caudales que incluyen al NBM y la sustancia innominada, inervan a la corteza cerebral y la amígdala. Los núcleos del PB reciben conexiones recíprocas de estructuras límbicas (orbitofrontal, polo temporal, región medial del lóbulo temporal y la corteza entorrinal). Los núcleos del tronco cerebral (pedúnculo pontino, tegmental y lateral dorsal tegmental, activan la corteza cerebral a través de proyecciones al tálamo. Tanto el PB como el tronco cerebral proyectan al núcleo reticular del tálamo, teniendo los núcleos colinérgicos una extensa influencia directa e indirecta sobre la actividad cortical y límbica. La neurotransmisión del sistema colinérgico (SC) está implicada en los procesos de memoria, aprendizaje y sueño, entre otras funciones¹. Su carencia produce alteraciones en estas funciones, estimándose que puede ser una de las causas de demencia senil o enfermedad de Alzheimer (EA). La biosíntesis de la acetilcolina (C₇H₁₆NO₂) o éster de ácido acético y colina se realiza en el citoplasma del soma y de las terminales presinápticas por medio de la actividad de la enzima colina acetiltransferasa (ChAT) y en la hendidura sináptica es degradada en acetato y colina por la enzima colina acetilcolinesterasa (AChE) para su recaptura en la neurona presináptica^{2,3}. Tanto la ChAT como la AChE son proteínas marcadoras específicas de la actividad fisiológica de las neuronas colinérgicas, y ambas juegan un papel importante en la homeostasis de la acetilcolina neuronal⁴.

En la EA^{3,5,6} se ha reportado una disfunción en el metabolismo colinérgico, así como alteraciones neuronales de innervación, síntesis, degradación y recaptura de la acetilcolina. En el humano, la disminución de las células colinérgicas es un cambio patológico en el cerebro basal anterior⁷⁻¹¹. Aunque no es un acontecimiento inicial en la EA, así como en el proceso de envejecimiento¹², se implica una denervación cortical relacionada con la eliminación de

proyecciones extrínsecas a la corteza cerebral⁶. Lo anterior se manifiesta como disfunción cognitiva, intelectual y social, en progresión propia de la EA con la siguiente sintomatología: agitación, psicosis, depresión, apatía, ansiedad, desórdenes de sueño y del apetito¹²⁻¹⁵. En estos pacientes hay disminución en la producción de la ChAT y de la AChE en la corteza cerebral e hipocampo, y defectos en el transporte axonal de dichas enzimas, por degeneración de neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior (NBM)¹⁶. En estudios cuantitativos del tejido cerebral de pacientes con la EA se observó disminución de las fibras colinérgicas reactivas del 55%, en comparación con el tejido cerebral sano¹⁷. Para el estudio de la innervación colinérgica de la corteza cerebral e hipocampo y su importancia particular de los circuitos neuronales en dichas estructuras, se han utilizado una variedad de especies animales de mamíferos y una combinación específica de anticuerpos para marcadores colinérgicos como la ChAT y la AChE, con lo que se ha demostrado su relación directa en procesos de consolidación de la memoria^{5,6,18-20}.

Marcadores colinérgicos en el cerebro humano

La corteza cerebral del humano posee una compleja y extensa red de axones colinérgicos²¹⁻²³, los cuales inervan, se originan en las neuronas colinérgicas ubicadas en los núcleos celulares del NBM (núcleo de Meynert), ambos presentan inmunoreactividad para las enzimas ChAT y AChE^{22,24-26}; estas se tiñen y se observan con mayor densidad en las capas corticales III y V¹⁷. La mayoría de las neuronas positivas para la AChE son piramidales y se localizan en la capa V cortical¹⁷. En técnicas de inmunohistoquímica realizadas con el anticuerpo para la ChAT muestran una alta densidad de fibras positivas y prolongaciones colinérgicas delgadas en toda la corteza cerebral¹⁷; de manera general, las fibras inmunorreactivas para la ChAT tienen una apariencia gruesa como una cadena de cuentas con terminales punteadas²⁷. Todas las áreas corticales contienen una combinación de axones colinérgicos que se encuentran orientados en sentido horizontal, vertical y oblicuo en la superficie. Las fibras horizontales se localizan en la capa I y en menor cantidad en la capa II. Las fibras orientadas verticalmente se localizan en la mayoría de las capas. Las capas

Tabla 1 Fibras colinérgicas en primates

Tipo I	Son espesas y tienen pocas varicosidades, tienen trayectorias rectas y poseen numerosas fibras positivas a ChAT
Tipo II	Se observan fibras tipo I difusas y numerosas varicosidades
Tipo III	Son delgadas, poseen numerosas varicosidades con trayectorias ramificadas

ChAT: colina acetiltransferasa.

superficiales (I, II y III) contienen gran densidad de innervaciones colinérgicas²².

En el hipocampo humano se encuentra inmunorreactividad para la ChAT y la AChE en las fibras de la fimbria y en la sustancia blanca subcortical del giro parahipocampal adyacente a la vía alveolar. Las fibras que se orientan hacia la región CA1 y el giro parahipocampal son delgadas y tienen una distribución radial²⁷. La inmunorreactividad para la ChAT es más intensa en el estrato radial, y en la capa de células piramidales presenta un marcaje finamente punteado, y fibras delgadas orientadas al azar con axones gruesos hacia estas células que provienen del giro parahipocampal. La inmunorreactividad de estas fibras es poco intensa en la capa CA1, así como en el estrato *oriens* y en el estrato lacunoso molecular²⁷. Las fibras inmunorreactivas positivas para AChE son delgadas; tanto en el estrato *oriens* como en las fibras musgosas del giro dentado²⁸ y densas en el estrato piramidal de las áreas CA2 y CA3. En el giro dentado, las fibras inmunorreactivas para la ChAT y para la AChE se localizan en 2 capas: una banda de células granulares y otra compuesta por fibras transversales con marca densa²⁷. La capa molecular contiene una densidad uniforme de fibras reactivas para la ChAT, estas se orientan de manera paralela a la capa de células granulares. En la capa molecular, las fibras

inmunorreactivas para la ChAT están orientadas en el eje rostro caudal y a este nivel el marcaje es tenue²⁷. La inmunorreactividad para la AChE es más densa en la capa de las células granulares, como una banda delgada adyacente a esta y en la capa de células piramidales existe innervación moderada en el complejo subicular^{27,28}. Las capas polimórfica y molecular presentan una distribución homogénea y aleatoria de la inmunorreactividad²⁸ (fig. 1).

Marcadores colinérgicos en el cerebro del primate

En la corteza cerebral del primate se observa la innervación inmunorreactiva para la ChAT distribuida de manera heterogénea con fibras y terminales que provienen del NBM²⁹. En las regiones motoras, la AChE tiene un patrón característico en las capas V y VI, donde las fibras se encuentran orientadas de forma radial y los cuerpos celulares reactivos en la capa VI³⁰.

En el hipocampo de algunas especies de primates no se observan neuronas positivas a la ChAT en la formación hipocampal, ya que el marcaje está restringido a fibras y varicosidades, y estas fibras se han clasificado por tipos, según su distribución y sus características morfológicas (tabla 1).

La inmunorreactividad para la ChAT se localiza en el área CA3 hasta el giro dentado y disminuye la densidad de fibras en el área CA2³¹, y fibras positivas para la ChAT en el *subiculum* y por encima de CA1 en la región de células piramidales hasta la capa molecular. Este marcaje es continuo con las fibras localizadas en el estrato lacunoso molecular y la mayoría de las fibras inmunorreactivas son horizontales y de tipo II. El marcaje de las fibras positivas para la AChE se encuentra disminuido en el área CA1 y el

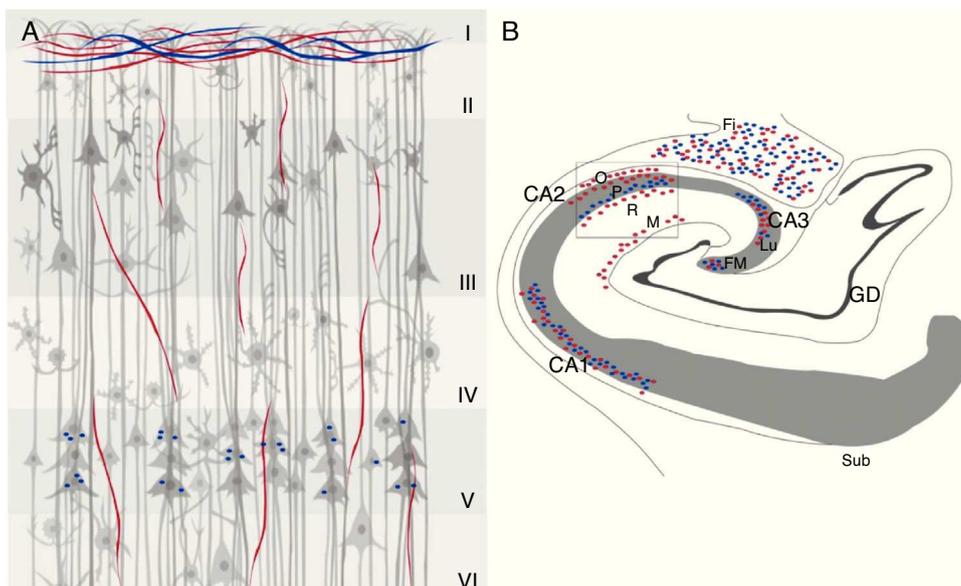


Figura 1 Marcadores colinérgicos ChAT (rojo) y AChE (azul) en la corteza cerebral (A) e hipocampo (B) de humano. Se indican en A, las 6 capas celulares (I-VI) y en B, las 3 áreas de células piramidales en los campos, CA1, CA2 y CA3 con sus respectivos estratos (O) *oriens*, (P) piramidal (R) radial y molecular (M), así como el giro dentado (GD), de donde emergen las fibras musgosas (FM), que hacen sinapsis con el estrato lucidum (CA3), la fimbria (Fi) y el *subiculum* (Sub).

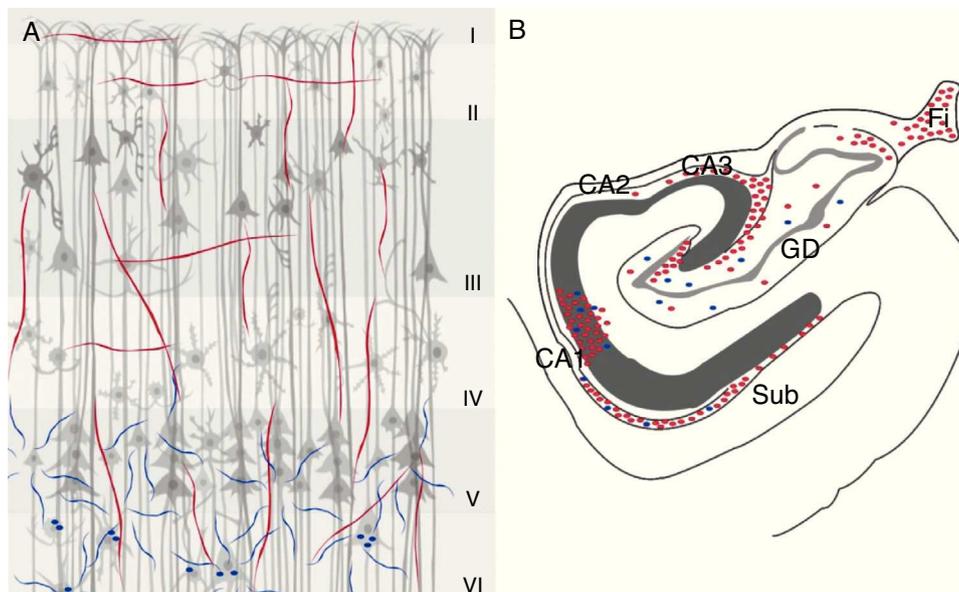


Figura 2 Marcadores colinérgicos ChAT (rojo) y AChE (azul) en la corteza cerebral (A) e hipocampo (B) de primate. En la corteza cerebral se muestran las 6 capas celulares (I-VI) y en la región del hipocampo sus 3 áreas (CA1, CA2 y CA3), así como el giro dentado (GD), la fimbria (Fi) y el *subiculum* (Sub).

*subiculum*³¹. En el giro dentado se localiza una variación en la densidad de fibras positivas para la ChAT según su orientación, así en la capa molecular de la región antero-dorsal, las fibras se distribuyen de manera difusa, en cambio en las regiones más caudales y en la porción medial adyacente a la fimbria la intensidad se incrementa y disminuye en las porciones laterales³². Con respecto al marcaje para la enzima AChE en el giro dentado, se observa reducción de fibras en todas las capas en comparación con la ChAT³² (fig. 2).

Marcadores colinérgicos en el cerebro de la rata

Las técnicas histoquímicas revelan la inervación en áreas corticales provenientes del NBM ya que ahí se ubican las neuronas magnocelulares que son la fuente primaria de inervación colinérgica³³.

En la corteza cerebral, las fibras inmunorreactivas para la ChAT se observan en las capas III y IV, y con un marcaje tenue en la capa II^{2,34}, así mismo, se encuentran cuerpos celulares fusiformes en dichas capas². Esto representa solo una pequeña fracción de neuronas corticales que se encuentran con un marcaje menos intenso que las que se ubican en el NBM; muchas de estas neuronas positivas para la ChAT presentan un patrón dendrítico bipolar y algunas son de tipo estrellado, con dendritas orientadas verticalmente a través de las capas corticales³⁴. En la corteza visual primaria el área 17 presenta una gran densidad de fibras en la capa I y menos fibras en las capas IV y V, tanto para la ChAT como para la AChE³⁵.

El hipocampo muestra una distribución de la ChAT positiva finamente granular en el estrato *oriens*, donde la inmunorreactividad es más densa en las regiones CA2 y CA3. Esta positividad granular del estrato *oriens* continúa con las fibras inmunorreactivas para la ChAT en el *alveus* y la fimbria. En el giro dentado se observan tanto gránulos

como fibras inmunorreactivas para la ChAT con distribución dorsal y ventral, así como en la capa molecular, con una distribución superficial. En el estrato lacunoso molecular hay pocas fibras positivas para este marcador, los cuales se distribuyen a través de CA1 en transición en el *subiculum* y hacia la sustancia blanca subcortical³⁶. El hipocampo de la rata recibe fibras aferentes de la AChE, las cuales forman parte de la activación del SC^{37,38}. Se ha reportado que las neuronas positivas para la AChE en el cerebro de la rata poseen una morfología parecida que las neuronas positivas para la ChAT. Se han observado algunas neuronas positivas para la AChE que indican que no es un marcador específico de neuronas colinérgicas en la corteza cerebral en esta especie. Además, la inmunorreactividad de ambos marcadores (ChAT y AChE) no es lo suficientemente intensa como para permitir observar el doble marcaje³⁹ (fig. 3).

Marcadores colinérgicos en el cerebro del ratón

En las regiones visual, somatosensorial y frontal de la corteza cerebral, el patrón de fibras positivas para la ChAT y la AChE se encuentra organizado de forma trilaminar y se localizan 3 bandas horizontales inmunorreactivas para ambos marcadores. En la capa I, IV y VI, y en menor proporción en la capa V⁴⁰. Se observa una banda delgada en las capas I y II más densas localizadas en las capas IV, V y VI; además, la última capa, muestra una acumulación densa de las fibras inmunorreactivas para la ChAT⁴⁰. En la corteza visual, las fibras colinérgicas se identifican como una banda delgada que atraviesa en la capa I paralela a la superficie pial. En la corteza somatosensorial la mayoría de las células positivas tanto para la ChAT como para la AChE contienen fibras en la capa IV. En todas las regiones de la corteza frontal se incrementa la densidad de fibras colinérgicas sobre todo en

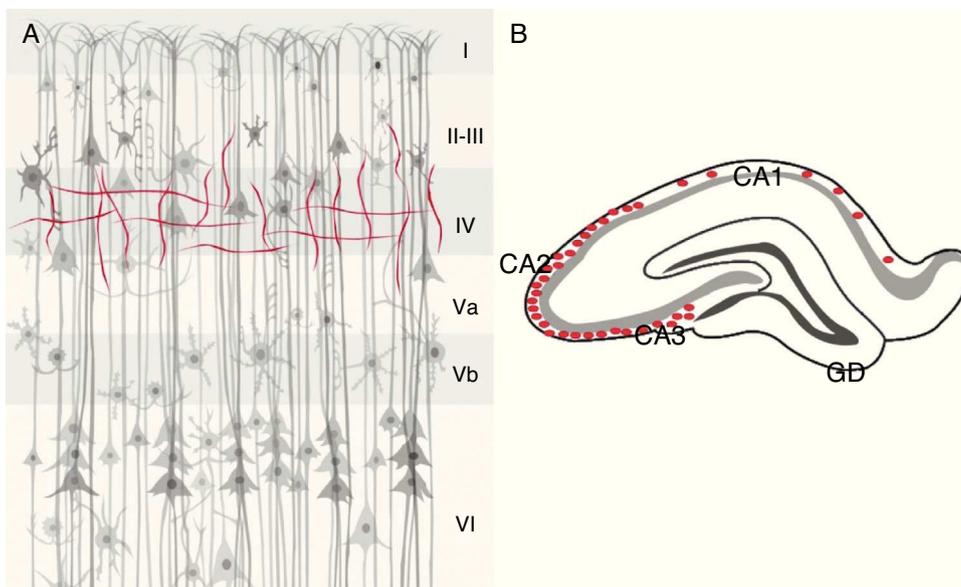


Figura 3 Marcadores colinérgicos ChAT (rojo) y AChE (azul) en la corteza cerebral (A) e hipocampo de la rata (B), en A, se muestran las 6 capas celulares (i-vi) y en B en el hipocampo, abundancia de ChAT en las áreas CA3 y CA2, y menor densidad en CA1 y nula marca en el giro dentado (GD).

la capa ⁴⁰. En la región del hipocampo se encuentran bandas distintas de fibras colinérgicas. La capa de células piramidales es inmunorreactiva para la ChAT principalmente en CA4. En el giro dentado se observa una banda delgada de este tipo de fibras en toda la capa de células granulares⁴⁰ (fig. 4).

Modelos animales para Alzheimer y la inervación colinérgica

En el estudio durante el desarrollo de la inervación colinérgica de la corteza cerebral y el hipocampo en el modelo

de la EA, en el ratón transgénico (APP_{Sw,Ind}⁴¹) que sobre expresa β-amiloide se observó la inmunorreactividad de la ChAT, indicando que la alteración es selectiva al SC en este modelo animal⁴². En el triple transgénico de la EA (3×Tg-AD), las alteraciones colino-trópicas son dependientes de la edad y el sexo, y de manera más pronunciada en el hipocampo, en la cual se desarrollan primero los péptidos β-amiloide. Por otra parte, la disminución en la expresión de la ChAT en este mismo ratón (3×Tg-AD) se podría explicar por el aumento de la expresión del factor de transcripción REST/NRSF, asociado a los trastornos degenerativos neuronales observados en la EA⁴³.

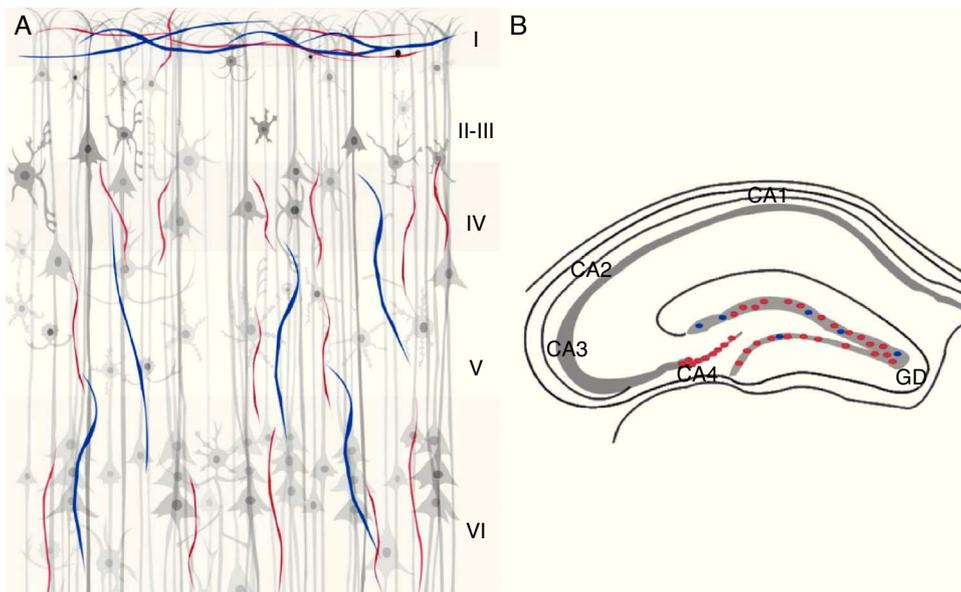


Figura 4 Marcadores colinérgicos ChAT (rojo) y AChE (azul) en la corteza cerebral e hipocampo de ratón. A) Región de la corteza cerebral en donde se observan las 6 capas celulares. B) Región del hipocampo en donde se observan las áreas (CA1, CA2, CA3 y CA4), así como el giro dentado (GD).

Conclusión

En los cerebros de humanos, primates y murinos (rata y ratón), se describen los 2 marcadores principales (ChAT y AChE) del SC, en la corteza cerebral e hipocampo y su distribución particular. En la EA se ha postulado la hipótesis colinérgica que plantea que la disfunción de este sistema conlleva al déficit cognitivo, por ello la importancia de conocer la distribución de dichos marcadores en estas áreas cerebrales (corteza cerebral e hipocampo) que en esta afección se ven principalmente afectadas. Además, los modelos animales permiten una mejor aproximación en la alteración de este SC y su relación con el desarrollo de la EA, para el diseño de estrategias farmacológicas que prevengan o bien que ayuden a su tratamiento.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Mohapel P, Leanza G, Kokaia M, Lindvall O. Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. *Neurobiol Aging*. 2005;26:939–46.
- Eckenstein F, Thoenen H. Cholinergic neurons in the rat cerebral cortex demonstrated by immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neurosci Lett*. 1983;36:211–5.
- Bartus R, Dean R, Beer B, Lippa A. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 1982;217:408–14.
- Fonnum F. Review of recent progress in the synthesis, storage, and release of acetylcholine in cholinergic mechanisms. New York: Raven Press; 1975. p. 145–60.
- Coyle J, Price D, deLong M. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervations. *Science*. 1983;219:1184–9.
- DeKosky S, Bass N. Biochemistry of senile dementia. Handbook of neurochemistry. 2.^a ed. New York: Plenum Press; 1985. p. 517–49.
- Whitehouse P, Price D, Struble R, Clark A, Coyle J, deLong M. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*. 1982;215:1237–9.
- Tagliavini F, Pilleri G. Neuronal counts in basal nucleus of Meynert in Alzheimer disease and in simple senile dementia. *Lancet*. 1983;1:469–70.
- Arendt T, Bigl V, Arendt A, Tennstedt A. Loss of neurons in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease, paralysis agitans and Korsakoff's disease. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1983;61:101–8.
- Wilcock GK, Esiri MM, Bowen DM, Smith CC. The nucleus basalis in Alzheimer's disease: cell counts and cortical biochemistry. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1983;9:175–9.
- Mann D, Yates P, Marcyniuk B. A comparison of changes in the nucleus basalis and locus coeruleus in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1984;47:201–3.
- Cumming J. Back The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry Spring*. 1998;62:64–78.
- Kása P, Rakonczay Z, Gulya K. The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 1997;52:511–35.
- Wenk G, Willard L. The neural mechanisms underlying cholinergic cell death within the basal forebrain. *Int J Dev Neurosci*. 1998;16:729–35.
- Whitehouse P. The cholinergic deficit in Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry*. 1998;59:19–22.
- Whitehouse P, Price D, Clark A, Coyle J, deLong M. Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol*. 1981;10:122–6.
- Geula C, Mesulam MM. Systematic regional variations in the loss of cortical cholinergic fibers in Alzheimer's disease. *Cereb Cortex*. 1996;6:165–77.
- Squire L, Ojemann J, Miezin F, Petersen S, Videen T, Paichle M. Activation of the hippocampus in normal humans: A functional anatomical study of memory. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:1837–41.
- Bowen D, Benton J, Spillane J, Smith C, Allen S. Choline acetyltransferase activity and histopathology of frontal neocortex from biopsies of demented patients. *J Neurol Sci*. 1982;57:191–2.
- Davies P. Neurotransmitters and neuropeptides in Alzheimer's disease: Biological aspects of Alzheimer's disease: (Banbury Report No. 15). New York: Cold Spring Harbor; 1983. p. 255–65.
- Geula C, Mesulam M. Human brain cortical cholinergic innervation. *Soc Neurosci Abstr*. 1990;16:1057.
- Mesulam M, Hersh L, Mash D, Geula C. Differential cholinergic innervation within functional subdivisions of the human cerebral cortex: a choline acetyltransferase study. *J Comp Neurol*. 1992;318:316–28.
- Mesulam M, Geula C. Chemoarchitectonics of axonal and perikaryal acetylcholinesterase along information processing systems of the human cerebral cortex. *Brain Res Bull*. 1994;33:137–53.
- Mesulam M. Frontal cortex and behavior. *Ann Neurol*. 1986;19:320–5.
- Mesulam M, Mufson E, Levey A, Wainer B. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections in the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 1983;214:170–97.
- Mesulam M, Geula C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J Comp Neurol*. 1988;275:216–40.
- De Lacalle S, Lim C, Sobreviela T, Mufson E, Hersh L, Saper C. Cholinergic innervation in the human hippocampal formation including the entorhinal cortex. *J Comp Neurol*. 1994;345:321–44.
- Green R, Mesulam M. Acetylcholinesterase fiber staining in the human hippocampus and parahippocampal gyrus. *J Comp Neurol*. 1988;273:488–99.
- Lehmann J, Struble R, Antuono P, Coyle J, Cork L, Price D. Regional heterogeneity of choline acetyltransferase activity in primate neocortex. *Brain Research*. 1984;322:361–4.
- Mesulam M, Rosen A, Mufson E. Regional variations in cortical cholinergic innervation: chemoarchitectonics of acetylcholinesterase-containing fibers in the macaque brain. *Brain Research*. 1984;311:245–58.
- Alonso J, Sang H, Amaral D. Cholinergic innervation of the primate hippocampal formation: II. Effects of fimbria/fornix transection. *J Comp Neurol*. 1996;375:527–51.
- Alonso J, Amaral D. Cholinergic innervation of the primate hippocampal formation. I. distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the Macaca fascicularis and Macaca mulatta monkeys. *J Comp Neurol*. 1995;355:135–70.
- Moruzzi G, Magoun H. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph. Clin Neurophysiol*. 1949;1:455–73.
- Ichikawa T, Hirata Y. Organization of choline acetyltransferase-containing structures in the forebrain of the rat. *J Neurosci*. 1986;6:281–92.

35. Lysakowski A, Wainer B, Rye D, Bruce G, Hersh L. Cholinergic innervations displays strikingly different laminar preferences in several cortical areas. *Neurosci Lett*. 1986;64:102–8.
36. Cotman C. Synapse formation and plasticity in the developing dentate gyrus. In *limbic mechanisms*, K. E. Livingston and O. Homvkiewicz. New York and London: Ediciones. D. Plenum; 1978. p. 47–65.
37. Shute C, Lewis P. The use of cholinesterase techniques combined with operative procedures to follow nervous pathways in the brain. *Biblhca anat*. 1961;2:34–49.
38. Shute C, Lewis P. Cholinesterase-containing systems of the brain of the rat. *Nature*. 1963;199:1160–4.
39. Eckenstein F, Sofroniew M. Identification of central cholinergic neurons containing both choline acetyltransferase and acetylcholinesterase and of central neurons containing only acetylcholinesterase. *J Neurosci*. 1983;3:2286–91.
40. Kitt C, Hohmann C, Coyle J, Price D. Cholinergic Innervation of mouse forebrain structures. *J Comp Neurol*. 1994;341:117–29.
41. Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, et al. High-level neuronal expression of A β 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic micesynaptotoxicity without plaque formation. *J Neurosci*. 2000;20:4050–8.
42. Descarries L, Aznavour N, Hamel E. The acetylcholine innervation of cerebral cortex: new data on its normal development and its fate in the hAPP(SW, IND) mouse model of Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 2005;112:149–62.
43. Orta-Salzar E, Aguilar-Vázquez A, Martínez-Coria H, Luquín de Anda S, Rivera-Cervantes M, Beas-Zarate C, et al. Changes in gene ChAT expression due to NRSF and hippocampal cells in a model mouse (3xTg-AD) for Alzheimer's disease. *Cell Mol Neurobiol*. Artículo en revisión.