

Efectos del COMPVIT-B® sobre la memoria y el aprendizaje espacial y la actividad motora en ratas Wistar neonatas

BONILLA P., ANGÉLICA R.¹, BONILLA R., LEONARDO²,
FRANCIS T., LILIANA² y GONZÁLEZ G., TERESA²

¹ Autor de correspondencia.

² Grupo de investigación Modelos Experimentales para las Ciencias Zoológicas. Universidad del Tolima, Colombia.

Resumen

El COMPVIT-B® es un complejo vitamínico compuesto por las vitaminas B₁, B₆, B₁₂, que ha sido utilizado en tratamientos de neuritis y polineuritis de origen múltiple, neuropatías periféricas, ciáticas, parálisis facial, padecimientos con aumento de la utilización de energía como el estrés y el cáncer. Mientras el tratamiento con tiamina se utiliza para aliviar los síndromes de Wernicke-Korsakoff, la piridoxina es esencial para las síntesis y el metabolismo de prácticamente todos los neurotransmisores, y la cianocobalamina desempeña un rol muy importante en el metabolismo de los ácidos grasos necesarios para mantener la mielina. El propósito fue evaluar la influencia del complejo multivitamínico COMPVIT-B® en el desarrollo de la memoria, el aprendizaje espacial y la actividad motora de ratas Wistar neonatas, a través de la inyección intraperitoneal de 0,1 ml del complejo vitamínico a 16 individuos de 15 días de nacidos durante dos semanas. Quince días después se evaluó la memoria y el aprendizaje espacial y la actividad motora a través del laberinto acuático de Morris y la prueba de habilidad natatoria. El grupo experimental mostró una disminución en la latencia de escape en el laberinto acuático de Morris; sin embargo no hubo diferencia significativa en la evaluación de la habilidad motora. El complejo vitamínico COMPVIT-B® aplicado a ratas en periodo neonatal contribuye a la formación más efectiva de un mapa cognitivo que posibilita mayor éxito en la resolución de la prueba. La aplicación del COMPVIT-B® no tuvo efecto en la actividad motora evaluada por la calidad y habilidad natatoria de los animales.

Palabras clave: actividad motora, aprendizaje espacial, cianocobalamina, COMPVIT-B®, piridoxina, tiamina.

Abstract

The COMPVIT-B® is a vitamin complex is composed by the vitamins B₁, B₆, B₁₂, which has been used in the treatments of neuritis and polineuritis of multiple origin, peripheral neuropathies, sciatic, facial paralysis and sufferings with increase of the utilization of energy as the stress and cancer. While the treatment with thiamin has been used to alle-

Correos electrónicos: roci104@gmail.com - lilycolcuba@yahoo.es - canela@quimica.udl.es

viate the Wernicke-Korsakoff syndromes, the pyridoxine is essential for the syntheses and metabolism practically of all neurotransmitters, simultaneously the Cyanocobalamin play role very important fatty acid metabolism for maintenance of myelin. The propose of the study was to evaluate the influence of multivitamin complex-COMPVIT-B® in memory, spatial learning and motor activity develop of neonatal Wistar rats. The vitamin complex B was injected intraperitoneally in a dose of 0.1 ml to 16 subjects of 15 day of born during two week. Fifteen days after were evaluated the memory and spatial learning and, motor activity using Morris Water maze and swim ability test respectively. The experimental group show decrease in escape latency in Morris Water maze, however do not show significative differences in motor ability evaluation between the groups. The multivitamin complex-COMPVIT-B® injected in newborn rats contribute to effective formation of cognitive map that give the possibility to the animal to has major success in test resolution. The injection of COMPVIT-B® not had any effect in motor activity evaluated by both quality and swim ability of the animals.

Keywords: motor activity, spatial, cyanocobalamin, COMPVIT-B®, pyridoxine, thiamine.

1. INTRODUCCIÓN

La tiamina (B_1), la piridoxina (B_6) y la cianocobalamina (B_{12}) pertenecen a un grupo de vitaminas denominado el complejo B; aunque presentan grandes diferencias en cuanto a estructura química y efecto biológico, se agrupan en esta única clase porque originalmente se aislaron a partir de las mismas fuentes. Estas vitaminas son importantes en la nutrición, síntesis de neurotransmisores, transporte axonal y excitabilidad neuronal (Wang et ál., 2005), han sido utilizadas en tratamientos de artritis reumatoide (Yxfeldt et ál., 2003), así como en padecimientos dolorosos como lumbago, ciática y neuralgia del nervio trigémino (Mäder et ál., 1988; Wang et ál., 2005), neuritis y polineuritis de origen nutricional, diabético (Bernstein y Loitz, 1988; Stracke et ál., 1996) alcohólico y tóxico. El déficit de vitamina B_1 está implicado en el síndrome de Wernicke-Korsakoff (Toth et ál., 2002; Thomson, 2000), y el suplemento con la misma mejora los síntomas de la enfermedad en su tratamiento (Ambrose, 2001). También se ha demostrado que el déficit de tiamina tiene un efecto deletéreo sobre la memoria en pollos jóvenes (Crowe y El Hadj, 2002), otros animales y humanos (Bubber et ál., 2004). La piridoxina es esencial para las síntesis y el metabolismo de prácticamente todos los neurotransmisores (Bender, 1999). Agbayewa et ál. (1992) sugieren que la vitamina B_6 podría ser utilizada en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, ya que reduce los niveles de homocisteína; además, proveer este cofactor ayuda al correcto funcionamiento del ciclo de la metionina mejorando la metilación y protege el cerebro de daños (Miller, 2003). La cianocobalamina desempeña un rol muy importante en el metabolismo de los ácidos grasos necesarios para mantener la mielina (Weir y Scott, 1995). Además, bajos niveles de esta vitamina pueden ser causa reversible en el 1% de los casos de demencia (Clarfield, 1998); el déficit de vitamina B_{12} y ácido fólico origina la acumulación de homocisteína ya que ella está estrechamente relacionada con el metabolismo de estas vitaminas (Miller, 2003; Arioğul et ál., 2005; Obeid y Herrmann, 2006). Es conocido que el incremento en la concentración de homocisteína puede resultar en daño excitotóxico de las neuronas (Miller, 2003) e inducción de apoptosis en neuronas hipocámpales en ratas

(Lipton et ál., 1997). Igualmente la hiperhomocisteínemia puede dar origen a defectos del tubo neural que pueden ser reducidos por la administración de las vitaminas B₁₁, B₁₂, B₂, B₆ (Kruman et ál., 2000).

Los cuadros clínicos de carencia de una vitamina, como cualquiera del complejo B, traen generalmente consigo el defecto en la concentración del resto (Carrillo et ál., 1989). Por otro lado, se ha comprobado que altas dosis de algunas vitaminas no sólo constituyen una terapéutica sustitutiva, sino que adquieren una acción farmacológica de efectos inusitados (Carrillo et ál., 1989). Ello exige la administración conjunta de vitaminas con conexión funcional metabólica, por cuanto el empleo aislado de una de ellas puede ocasionar déficit parcial en las demás (Kenneth et ál., 1992).

El COMPVIT-B® es un complejo vitamínico liofilizado compuesto por 100 mg de clorhidrato de tiamina, 100 mg de clorhidrato de piridoxina y 5 mg de cianocobalamina producido por la Empresa de Productos Biológicos Carlos J. Finlay de La Habana, Cuba. Teniendo en cuenta las propiedades de las vitaminas que lo componen, el grupo investigador se propuso medir los efectos de este complejo vitamínico en ratas Wistar neonatas, puesto que procesos neuronales como la diferenciación, sinaptogénesis y mielinización de las células nerviosas tanto en las ratas como los humanos ocurren después del nacimiento. La vitamina B₆, junto a las vitaminas B₁ y B₁₂, intervienen en el metabolismo de todas las células del organismo, destacándose su actividad principalmente sobre las células del sistema nervioso; de ahí que se les denomine comúnmente vitaminas neurotropas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sujetos experimentales

Para el estudio se utilizaron 16 ratas Wistar hembras de 15 días de nacidas, las cuales se mantuvieron en el Bioterio de la Universidad del Tolima, teniendo en cuenta las condiciones óptimas para la cría y manutención de pequeños roedores de laboratorio. Los animales se mantuvieron con un fotoperiodo de 10 horas luz, 14 oscuridad y acceso *ad libitum* tanto a la comida como al agua, y fueron asignados al azar a dos grupos de estudio: un grupo control y un grupo experimental COMPVIT-B®, formados cada uno por ocho individuos. El grupo experimental recibió una inyección intraperitoneal de 0,1 ml/día de COMPVIT-B® durante dos semanas a partir de los 15 días de nacidos.

2.2 Pruebas conductuales

2.2.1 Laberinto acuático de Morris

El laberinto acuático fue diseñado por R. G. Morris para evaluar la memoria espacial en ratas (Morris, 1984). Consiste en una piscina circular con un diámetro de 200 cm, llena

de agua, cuya temperatura oscila entre 18 y 27 °C, en la que se sitúa una plataforma que debe ser localizada por el animal. Tradicionalmente el laberinto se usa como un test espacial en el que los animales nadan desde diferentes puntos de salida situados en el perímetro de la piscina hasta encontrar la plataforma sumergida en el agua. Con este test es posible valorar la memoria de referencia, si la plataforma permanece en el mismo lugar durante los ensayos, y la memoria de trabajo, cuando se cambia la plataforma de posición en cada ensayo (Vicens et ál., 2003).

Quince días después de finalizado el tratamiento se evaluaron la memoria y el aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris. La evaluación se realizó en dos periodos: el primero de adquisición con una duración de tres días, y el cual consiste en dejar partir al animal de ocho posiciones aleatorias en busca de una plataforma de escape que se encuentra sumergida 2 cm por debajo del nivel del agua, la cual está ubicada en el centro de uno de los cuadrantes que para este estudio fue el cuadrante superior izquierdo. Veintiún días después (segundo periodo) se realizó una prueba de retención que presenta las mismas condiciones del periodo de adquisición pero con una duración de un día, seguido por una prueba denominada transferencia que consiste en trasladar la posición de la plataforma de escape a otro de los cuadrantes del tanque (para este caso se eligió el cuadrante inferior derecho). La prueba tiene una duración de tres días dejando partir al animal aleatoriamente de los ocho puntos de partida. Las posiciones de partida se discriminaron de acuerdo con los puntos cardinales, así: norte (N), noreste (NE), este (E), sureste (SE), sur (S), suroeste (SE), oeste (O), noroeste (NO) (figura 1). La latencia máxima de escape por ensayo fue de 60 segundos y un periodo de exploración de 20 segundos sobre la plataforma. Finalizada esta evaluación se realizó una prueba confirmatoria llamada prueba de cruces, en la cual se retiró la plataforma de escape y se dejó partir al animal de una de las posiciones de arranque (N), contabilizándose el número de cruces realizados por el lugar donde estaba ubicada la plataforma en el transcurso de 60 segundos (latencia máxima) (figura 1).

2.2.2 Habilidad natatoria

La actividad motora se evaluó a través de la habilidad natatoria de los animales en un tanque de cristal durante 4 minutos, registrando la posición corporal (ángulo formado entre el dorso del cuerpo y la superficie del agua) cada 60 segundos. Se definieron tres diferentes niveles de posición, así: posición horizontal, posición de 45° y de 90° para determinar cualitativamente la resistencia motora y la calidad de nado.

2.2.3 Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza ANOVA de dos vías seguido por el análisis post hoc Newman-Keuls test. Para la comparación de la latencia diaria entre los grupos se usó la prueba estadística t- student.

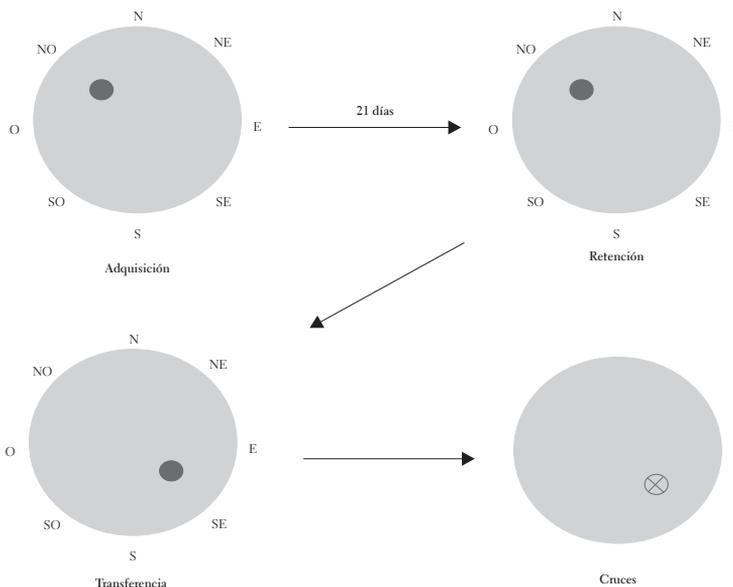


Figura 1. Laberinto acuático de Morris. Flujograma del desarrollo del laberinto acuático de Morris; muestra la ubicación de la plataforma en cada una de las etapas de la prueba (círculo gris oscuro) y las ocho diferentes posiciones de arranque de las cuales se dejó partir al animal. El círculo con la equis (X) dentro muestra la posición donde estaba ubicada la plataforma después de ser retirada.

3. RESULTADOS

3.1 Laberinto acuático de Morris

En los dos grupos de animales, COMPVIT-B® y control, se evaluaron la memoria y el aprendizaje espacial por medio del laberinto acuático de Morris en los intervalos de tiempo descrito con anterioridad. El análisis de varianza ANOVA de dos vías demostró una diferencia estadísticamente significativa ($F_{(28,54,29)} = 33,2; p < 0,00$) intragrupal durante el periodo de adquisición, pero no intergrupar. El análisis post hoc demostró que hubo una diferencia en el segundo día de la prueba entre ambos grupos y una tendencia a la significancia en el tercer día donde $p = 0,06$ y $p = 0,07$, respectivamente (figura 2). Cuando se realizó una comparación de la latencia media en cada día de prueba entre los grupos se encontró una diferencia significativa a favor del grupo COMPVIT-B® ($T = -1,75, p = 0,024$) (figura 3). Al comparar la prueba de retención con el tercer día de la prueba de adquisición no se halló diferencia significativa ($p > 0,05$) (figura 4). La prueba de transferencia mostró una disminución en las latencias de escape en los grupos con respecto a la prueba de adquisición, sin embargo al compararlos no se observaron diferencias significativas entre los mismos ($p > 0,05$) (figura 5). Al comparar intergruparmente la prueba de cruces se observaron diferencias significativas entre los mismos ($p < 0,05$) (figura 6).

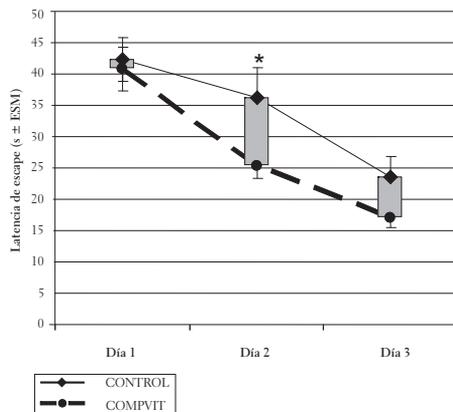


Figura 2. Prueba de adquisición: evolución de la latencia de escape en la prueba de adquisición. Valor promedio de las latencias en cada uno de los días de la prueba; nótese la habilidad del grupo tratado en la solución de la prueba. Las barras negras indican una mayor latencia de escape con respecto al COMPVIT.

* Diferencia significativa de la latencia de escape $p < 0,05$.

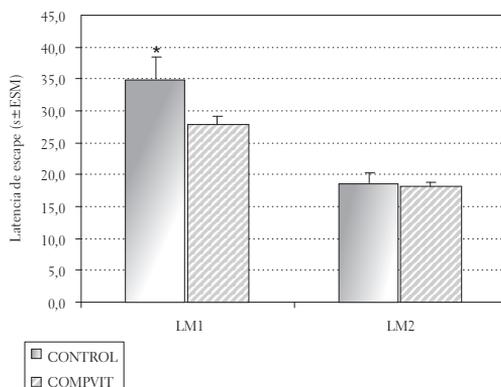


Figura 3. Latencias medias: comparación intergrupala de las latencias medias de escape en los periodos de adquisición (LM1) y transferencia (LM2). El grupo control muestra mayores latencias de escape en LM1.

* Diferencia significativa $p < 0,05$; LM1: Latencia media del periodo de adquisición; LM2: Latencia media del periodo de transferencia.

3.2 Habilidad natatoria

Al evaluar los resultados de la prueba de habilidad natatoria entre el grupo control y los animales tratados –COMPVIT-B®– ambos grupos mostraron un comportamiento similar en cuanto a las posiciones corporales adoptadas al transcurrir los 4 minutos, siendo estas posiciones: horizontal durante el primer minuto, 15° en el segundo minuto, 45° para el tercer minuto y 90° o posición vertical en el cuarto minuto, por lo cual no se halló una

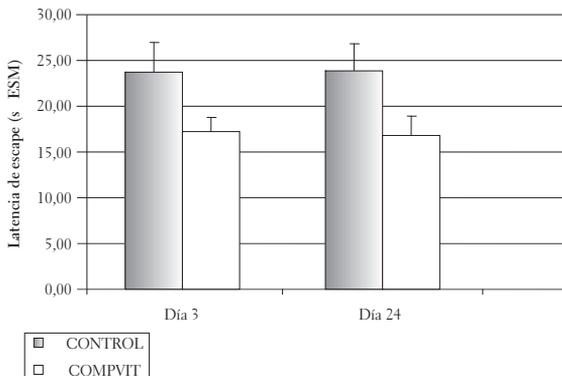


Figura 4. Prueba de retención: compara la latencia de escape entre el último día de la adquisición (día 3) y la retención (día 24). No hay diferencia, pero se conserva la tendencia de menores latencias de escape a favor del grupo COMPVIT.

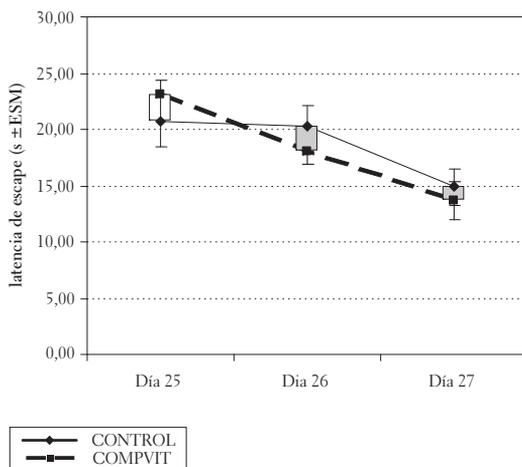


Figura 5. Prueba de transferencia: latencia de escape durante la prueba de transferencia entre los grupos control y COMPVIT. Las barras grises y blancas indican una latencia de escape mayor y menor con respecto al COMPVIT, respectivamente.

* Diferencia significativa de la latencia de escape $p < 0,05$.

diferencia en cuanto a la resistencia motora, calidad y habilidad natatoria reflejada por la posición corporal de los animales.

4. DISCUSIÓN

De observar los resultados para la prueba de adquisición se puede concluir que tanto los animales tratados como los no tratados muestran destreza en la resolución de la prueba; sin embargo, existe una tendencia del grupo COMPVIT-B con respecto al grupo control a

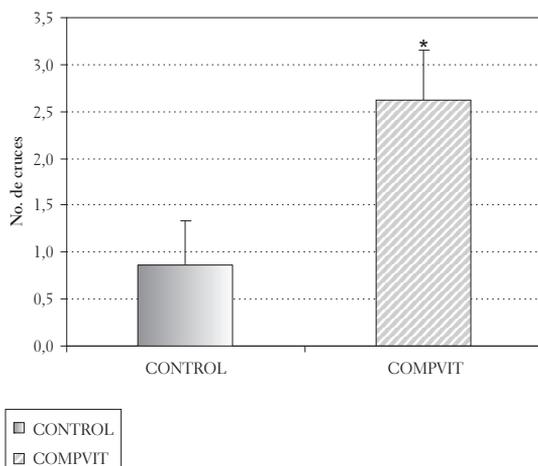


Figura 6. Prueba de cruces: evaluación de la prueba de cruces para cada grupo en un intervalo de 60 segundos. El grupo COMPVIT mostró mayor habilidad que el grupo control en el desarrollo de la prueba.

* Diferencia significativa en el número de cruces entre los grupos $p < 0,05$.

tener latencias de escapes menores, mostrada principalmente en el segundo y tercer día de la comparación intergrupala, lo que posiblemente puede estar reflejando un efecto positivo a causa del tratamiento con el complejo vitamínico ya que algunas vitaminas del complejo B tienen incidencia sobre el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central; es el caso de la tiamina, la piridoxina y la cianocobalamina (Zimmermann, 2005; Bender, 1999; Weir y Scott, 1995; Czeizel y Kalina, 2003). Todos los animales realizaron la prueba de retención con destreza y habilidad demostrando que se desarrolló un proceso de adquisición óptimo con consolidación adecuada de la información para la resolución de la prueba, mostrado en la conservación de la tendencia por parte del grupo COMPVIT-B a tener menores tiempos de escape; sin embargo, no hay disminución de las latencias con respecto a la prueba de adquisición. Los animales del grupo control, si bien no tienen ningún tratamiento, desarrollan un proceso de aprendizaje progresivo, lo cual permite que en un momento determinado ocurra un solapamiento de las latencias de escape con relación al grupo COMPVIT-B, razón por la cual en la prueba de transferencia no se encontró diferencia entre los dos grupos, lo que se puede explicar por el hecho que el complejo vitamínico ejerce un efecto estimulante del sistema nervioso, mas no dota a los animales de un sobredesarrollo cognitivo. Tal efecto estimulante se mostró en la solución de la prueba de cruces, donde el grupo tratado con el COMPVIT-B® mostró mejor habilidad para la solución de la prueba en una proporción 3:1 con respecto al grupo control, lo cual es un resultado concluyente para este estudio, dado que esta prueba permite observar el progreso en el proceso de aprendizaje.

Los resultados obtenidos se correlacionan con evidencias previas de la acción de las vitaminas del complejo B en varios procesos del sistema nervioso, tales como la repercusión de la vitamina B₆ en los procesos de memoria a largo plazo (*long term potentiation, LTP*),

a través de los mecanismos GABAérgicos, según los trabajos reportados por Hirai et ál., (1993), debido a su participación en los procesos de transmisión sináptica en su forma activa, en el complejo enzimático piridoxal-fosfato deshidrogenasa como componente de los miembros del sistema GABAérgico en la neurotransmisión (Zimmermann, 1993). También Bubber et ál., (2004) demostraron que la deficiencia de tiamina acarrea defectos en los procesos de memoria y contribuye a la aparición de enfermedades neurológicas, debido a la reducción de los niveles de las enzimas tiamina-dependientes, del ácido tricarbóxico en los pacientes con este tipo de enfermedades, así como importantes desórdenes bioquímicos en el cerebro.

A través del desarrollo de este estudio se evidenció la acción de las vitaminas tiamina, piridoxina y cianocobalamina sobre la memoria y el aprendizaje espaciales como una condición estimulante para el desarrollo de estos, contribuyendo a la creación de mapas cognitivos que le posibilitan mayor éxito al animal en la realización de las pruebas.

La prueba llevada a cabo para evaluar la actividad motora no evidenció influencia del COMPVIT-B® sobre esta, lo cual puede ser producto de la evaluación conductual utilizada. Además, se hace necesario la complementación de este estudio comportamental con un estudio histológico de las regiones hipocampales posterior a la administración del COMPVIT-B®.

AGRADECIMIENTOS

Al IV Encuentro Nacional de Neurociencias y V Seminario Internacional de Neurociencias, realizado en Medellín en el año 2005, en el que se otorgó el reconocimiento de segundo lugar en comunicación oral al presente trabajo. A la Empresa de Productos Biológicos Carlos J. Finlay de La Habana, Cuba por la donación del complejo multivitamínico COMPVIT-B®.

BIBLIOGRAFÍA

- AGBAYEWA, M. O., BRUCE, V. M. & SIEMENS, V. (1992). Pyridoxine, ascorbic acid and thiamine in Alzheimer and comparison subjects. *Can J Psychiatry*, 37(9), 661-662.
- AMBROSE, M. L., BOWDEN, S. C. & WHELAN, G. (2001). Thiamin treatment and working memory function of alcohol-dependent people: preliminary findings. *Alcohol Clin Exp Res*, 25(1), 112-116.
- ARIOĞUL, S., CANKURTARAN, M., DAĐLI, N., KHALIL, M. & YAVUZB, B. (2005). Vitamin B12, folate, homocysteine and dementia: are they really related? *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 40, 139-146.
- BENDER, D. A. (1999). Non-nutritional uses of vitamin B₆. *Br J Nutr.*, 81(1), 7-20.
- BERNSTEIN, A. L. & LOITZ, C. S. (1988). Clinical and electrophysiological study of the treatment of painful diabetic neuropathies with pyridoxine. *Curr Top Nutr Dis*, 19, 411-423.

- BUBBER, P., KE, Z. & GIBSON, G. E. (2004). Tricarboxylic acid cycle enzymes following thiamine deficiency. *Neurochemistry International*, 45, 1021-1028.
- CARRILLO, et ál. (1989). Bioquímica de las vitaminas, 6, 43-48.
- CLARFIELD, A. M. (1998). The reversible dementias: do they reverse? *Ann. Int. Med.* 109, 476-485.
- CROWE, S. F. & EL HADJ, D. (2002). Phenytoin ameliorates the memory deficit induced in the young chick by ethanol toxicity in association with thiamine deficiency. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 71, 215-221.
- CZEIZEL, E. & KALINA, A. (2003, oct. 5). Public health control of hyperhomocysteinemia and its consequences. *Orv Hetil.* (abs), 144(40), 1981-1989.
- HIRAI et ál. (1993). Ipsilateral corticotectal pathway inhibits the formation of LTP in the rat superior colliculus through GABAergic mechanism. *Brain Res*, 629: 23-30.
- KENNETH, E. et ál. (1992). Pharmaceutical dosage forms parenteral medications (pp. 217-219), II ed.
- KRUMAN, I. I., CULMSEE, C., CHAN, S. L., KRUMAN, Y., GUO, Z., PENIX, L. et ál. (2000). Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J. Neurosci*, 20, 6920-6926.
- LIPTON, S. A., KIM, W. K., CHOI, Y. B., D'EMILIA, D. M., RAYUDU, P. V., ARNELLE, D. R. et ál. (1997). Neurotoxicity associated with dual action of homocysteine at the N-methyl-aspartate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 94, 5923-5928.
- MÄDER, R., DEUTSCH, H., SIEBERT, G. K., GERBERSHAGEN, H. U., GRÜHN, E., BEHL, M. et ál. (1988). Vitamin status of inpatients with chronic cephalgia and dysfunction pain syndrome and effects of a vitamin supplementation. *Int J Vit Nutr Res*, 58(4), 436-442.
- MILLER, A. L. (2003, feb.). The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases. *Altern Med Rev*, 8(1), 7-19.
- MORRIS, R. G. M. (1984). Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11, 47-60.
- OBEID, R. & HERRMANN, W. (2006). Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS Letters*, 580, 2994-3005.
- STRACKE, H., LINDEMANN, A. & FEDERLIN, K. (1996). A benfotiamine-vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 104(4), 311-316.
- THOMSON, A. D. (2000). Mechanisms of vitamin deficiency in chronic alcohol misusers and the development of the Wernicke-Korsakoff syndrome. *Alcohol Alcohol Suppl.*, 35, 2-7.
- TOTH, C., VOLL, C. & MACAULAY, R. (2002). Primary CNS lymphoma as a cause of Korsakoff syndrome. *Surg Neurol*, 57, 41-45.
- VICENS, P., REDOLAT, R. & CARRASCO, M. C. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicothema*, 15(4), 539-544.

- WANG, Z. B., GAN, Q., RUPERT, R. L., ZENG, Y. M. & SONG, X. J. (2005). Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury. *Pain*, 114, 266-277.
- WEIR, D. G. & SCOTT, J. M. (1995). The biochemical basis of the neuropathy in cobalamin deficiency. *Baillieres Clin Haematol. (Abs)* 8: 479-497.
- YXFELDT, A., WALLBERG-JONSSON, S., HULTDIN, J. & RANTAPAA-DAHLQVIST, S. (2003). Homocysteine in patients with rheumatoid arthritis in relation to inflammation and B-vitamin treatment. *Scand J Rheumatol*, 32(4), 205-210.
- ZIMMERMANN H. VOLKNANDT W, HAUSINGER A., and WITTICH B. (1993). The synaptic vesicle associated G-protein o-rab3 is expressed in subpopulations of neurons. *J. Neurochem.* 60, 851-857.
- ZIMMERMANN, H., MORCIANO M., BURRÉ J., CORVEY C., KARAS M., VOLKNANDT, W. (2005) Immunolocalization of two synaptic vesicle pools from synaptosomes: a proteomics analysis. *J. Neurochem.* 95, 1732-1745. 

Referencia	Recepción	Aprobación
BONILLA P., A. R.; BONILLA R., L.; FRANCIS T., L. y GONZÁLEZ G., T. Efectos del COMPVIT-B® sobre la memoria y el aprendizaje espacial y la actividad motora en ratas Wistar neonatas <i>Revista Tumbaga</i> (2008), 3, 81-91	Día/mes/año 28/05/2008	Día/mes/año 01/10/2008