

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

11 281

12

2ej

FACULTAD DE MEDICINA

**PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA COLINÉRGICO ESTRIATAL EN LA
EXTINCIÓN DE LA CONDUCTA DE PREVENCIÓN PASIVA ***

Gabriel/Roldán Roldán

CIENCIAS BIOMÉDICAS
Tesis Doctoral

México, D.F., 1998

** Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Aprendizaje y Memoria del Departamento de Fisiología, bajo la dirección del Dr. Roberto A. Prado-Alcalá, con apoyo de la DGAPA-UNAM (No. 073765) y del PADI/P (No. 12322).*

**TESIS CON
FALDA DE ORIGEN**

260456



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGIMACION

DISCONTINUA

El jurado que revisó esta tesis estuvo integrado por los Doctores:

León Cintra McGlone

Manuel Salas Alvarado

Javier Velázquez Moctzuma

Óscar Prospero García

Simón Brailowki Klipstein

Carlos Valverde Rodríguez

Roberto A. Prado Alcalá

A todos ellos agradezco sus comentarios y sugerencias para mejorarla.

"...Pero no es sólo esto lo que vive y se agita en la inmensa capacidad de mi memoria. Aquí están todos aquellos conocimientos aprendidos por las ciencias liberales, no olvidados todavía, como arrinconados en un lugar más interior, que propiamente no es lugar, y no son simples imágenes las que tengo allí, sino que son las realidades mismas. Lo que sean la literatura y el arte de discutir, cuántos géneros hay de cuestiones, todo lo que sé de estas nociones no subsiste en mi memoria a guisa de imagen que yo retuviera sola, dejando fuera la realidad; no es como un sonido que suena y pasa, como, por ejemplo, la voz, que imprime en el oído un vestigio de sí misma gracias al cual se evoca el son como si sonase cuando ya no suena; o como el olor cuando pasa y se desvanece en el aire y afecta el olfato y por él transmite a la memoria una imagen de sí que la reminiscencia permite evocar; o como el manjar que dentro del estómago deja de hacer sentir el sabor, que, no obstante, de alguna manera queda en la memoria; o como cuando un objeto que se siente por contacto físico y que la memoria imagina cuando ya no lo tocamos. Este género de realidades no son admitidas en el recinto de la memoria, sino que lo que se aprehende con maravillosa celeridad son sus solas imágenes, que se guardan en cientos de maravillosos compartimientos y celdas, de donde las extrae la mágica evocación del recuerdo".

San Agustín

Confesiones, Libro X (398-399 d.C.)

ÍNDICE

<i>RESUMEN</i>	5
<i>ABSTRACT</i>	7
<i>PROLOGO</i>	9
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	
1.1 <i>LOS CONCEPTOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA</i>	11
1.2 <i>TIPOS DE APRENDIZAJE</i>	19
1.3 <i>FASES DEL APRENDIZAJE</i>	21
1.4 <i>ACETILCOLINA, RECEPTORES COLINÉRGICOS Y PROCESOS MNÉMICOS</i>	23
1.5 <i>EL PAPEL DEL NEOESTRIADO EN EL APRENDIZAJE</i>	28
1.6 <i>EL FENÓMENO DE EXTINCIÓN</i>	31
1.7 <i>REFERENCIAS</i>	37
CAPÍTULO 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
2.1 <i>DOSE- AND TIME-DEPENDENT SCOPOLAMINE-INDUCED RECOVERY OF INHIBITORY AVOIDANCE AFTER EXTINCTION IN RATS (Artículo)</i>	55
2.2 <i>SELECTIVE M1 MUSCARINIC RECEPTOR ANTAGONISTS DISRUPT MEMORY CONSOLIDATION OF INHIBITORY AVOIDANCE IN RATS (Artículo)</i>	71
2.3 <i>EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS RETARDA LA EXTINCIÓN FORZADA DE LA RESPUESTA DE PREVENCIÓN PASIVA (Artículo)</i>	81
2.4 <i>LA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA, PERO NO INTRAESTRIATAL DE ESCOPOLAMINA REVIERTE LA EXTINCIÓN DE LA CONDUCTA DE PREVENCIÓN PASIVA (Reporte preliminar)</i>	92
CAPÍTULO 3. DISCUSIÓN GENERAL	
3.1 <i>EL RECEPTOR MUSCARÍNICO M1 Y EL APRENDIZAJE DE PREVENCIÓN PASIVA</i>	100
3.2 <i>EL SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LA EXTINCIÓN</i>	102
3.3 <i>EXTINCIÓN Y OLVIDO</i>	108
3.4 <i>MODELO DE EXTINCIÓN</i>	109
3.5 <i>CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</i>	111

PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA COLINERGICO ESTRIATAL EN LA EXTINCIÓN DE LA CONDUCTA DE PREVENCIÓN PASIVA

RESUMEN

En el aprendizaje asociativo, la suspensión del estímulo incondicionado o del reforzador provoca que la respuesta condicionada se vaya perdiendo paulatinamente hasta estar ausente por completo. Este fenómeno se conoce como extinción. Existen numerosas evidencias que demuestran la participación de la acetilcolina (ACh) en el aprendizaje, la formación de la memoria y su posterior evocación. En general se acepta que la estimulación del sistema colinérgico facilita estos procesos mnémicos, mientras que su inhibición los entorpece, sin embargo, se desconoce el papel de este neurotransmisor en la extinción. La presente tesis se conforma de una serie de investigaciones encaminadas a dilucidar el papel de la ACh en distintas fases del proceso de extinción de la conducta de prevención pasiva (PP).

En el primer experimento, se exploró el efecto de la escopolamina (un bloqueador muscarínico inespecífico) en dosis de 0, 2, 4 y 8 mg/kg, ip, sobre la evocación de la conducta de PP a distintos tiempos después de su completa extinción (desde 1 día hasta 9 meses). La inhibición de la transmisión colinérgica provocada por esta droga, resultó en la recuperación de la respuesta de PP extinguida. Este efecto fue directamente proporcional a la dosis, e inversamente proporcional al tiempo entre la última sesión de extinción y la prueba de evocación. Las conclusiones que se desprenden de estos resultados son: 1) los antagonistas colinérgicos revierten la extinción de la prevención pasiva, provocando la reaparición de dicha conducta; 2) este efecto se debe, probablemente, a la acción diferencial que este antimuscarínico ejerce sobre la evocación de ambos engramas, inhibiendo el acceso al de extinción sin afectar el original que codifica la respuesta de prevención pasiva; 3) lo anterior implica que, después de la extinción, el engrama que subyace a la PP no se ha perdido, sino por el contrario, permanece latente y puede ser evocado; 4) la capacidad de evocación de la conducta de prevención pasiva extinguida se reduce con el paso del tiempo, sugiriendo un proceso de olvido.

Se han descrito y caracterizado 5 subtipos de receptores muscarínicos (M1-M5). Algunas evidencias sugieren que el subtipo M1 participa de manera importante en la formación de la memoria. Por ello, decidimos explorar si los antagonistas selectivos de receptor M1, al igual que la escopolamina, inhiben la consolidación de la memoria en la tarea de PP para después examinar su efecto durante la extinción. En el segundo experimento se analizó esta posibilidad, mediante el tratamiento sistémico con tres bloqueadores específicos del receptor M1 (pirenzepina, biperiden y trihexifenidil) y se comparó su actividad con la escopolamina. Los datos de este estudio mostraron que el biperidén y el trihexifenidil son capaces de interrumpir la fase de consolidación del aprendizaje de PP con una potencia relativa similar a la escopolamina. La pirenzepina careció de efectos,

posiblemente debido a que no cruza con facilidad la barrera hematoencefálica. Estos resultados sugieren que los receptores tipo M1 dentro del sistema nervioso central, son necesarios para que se consolide la memoria de PP, mientras que su bloqueo periférico no afecta dicho proceso.

En la tercera serie experimental se evaluó el efecto de la administración sistémica de escopolamina, y un antagonista selectivo del receptor M1, el biperidén, sobre el desarrollo de la extinción forzada. Las drogas se inyectaron diez minutos antes o inmediatamente después de cada sesión de extinción. Los resultados mostraron que ambos compuestos retardan el desarrollo de este proceso cuando son aplicados antes de las sesiones de extinción forzada, pero no después, sugiriendo que el bloqueo de los receptores muscarínicos, en particular del subtipo M1, impide el aprendizaje de la nueva situación, es decir, de la ausencia del reforzador.

Finalmente, en el experimento 4 se hizo un análisis preliminar sobre el posible papel de la ACh estriatal en la recuperación de la conducta de PP una vez extinguida. Se inyectó escopolamina sistémicamente (4 u 8 mg/kg) e intracerebralmente (30 ó 60 µg por hemisferio) en la porción anterodorsal del estriado, 10 minutos antes de las pruebas de evocación, usando grupos independientes. Se encontró que la aplicación intraestriatal, a diferencia de la sistémica, no induce la reaparición de esta respuesta, lo cual nos hace suponer que esta estructura no participa en el almacenamiento ni la evocación del engrama de extinción de la PP. Una explicación alternativa podría ser que la inyección intraestriatal de escopolamina impida la evocación de ambos engramas (el de PP y el de su extinción), lo cual resultaría en que los sujetos se comportaran como si nunca hubieran sido entrenados.

Estos estudios contribuyen a esclarecer la naturaleza del fenómeno de extinción de conductas aprendidas. Es evidente que la extinción conductual de un aprendizaje no conlleva a la destrucción del engrama que lo sustenta y, por lo tanto, la extinción no implica un proceso de olvido, sino un nuevo aprendizaje. Asimismo, el efecto diferencial de los antimuscarínicos sobre la evocación del engrama que codifica la PP y aquel que codifica la extinción de esta misma conducta, indica que éstos son independientes y que probablemente se encuentren en distintos substratos neuroanatómicos.

ABSTRACT

In associative conditioning, reinforcement withdrawal results in a progressive decay of the conditioned response until its complete loss. This phenomenon is known as extinction. A number of evidences have demonstrated the participation of acetylcholine (ACh) in learning, memory formation and retrieval. It is generally accepted that cholinergic stimulation facilitates these mnemonic processes, while its inhibition disrupts them, however, it is not known the role of this neurotransmitter in extinction. The present thesis compiles a series of investigations aimed to elucidate the involvement of ACh in different phases of the passive avoidance extinction process.

In the first experiment, the effects of scopolamine (an unspecific muscarinic blocker) in doses of 0, 2, 4, and 8 mg/kg, in passive avoidance retrieval after distinct times (1 to 9 months) of its complete extinction was explored. The inhibition of cholinergic transmission produced by this drug resulted in the recovery of the extinguished avoidance response. This effect was dose- and time- dependent. The conclusions of these results were: 1) cholinergic antagonism reverses the extinction of passive avoidance, thus inducing the reinstatement of this response; 2) this effect was probably due to a differential action of the antimuscarinic drug on the retrieval of both memory engrams, that is, the drug precludes the access to the extinction one without affecting the retrieval of the original inhibitory avoidance memory; 3) these data may imply that after extinction, the memory engram underlying passive avoidance response has not been lost, but on the contrary, remains in a latent state and can be retrieved; 4) reduction of the capability to retrieve the extinguished passive avoidance response after long post-training intervals suggests a forgetting process.

Five muscarinic receptor subtypes (M1-M5) have been characterized. Several evidences suggest that the M1 subtype participates in memory formation. Therefore, we decided to explore if selective M1 muscarinic antagonists share the capability to disrupt memory consolidation of passive avoidance, and the retrieval of this task after its extinction. In the second experiment we analyzed this possibility by means of systemic treatments with three specific M1 muscarinic blockers, pirenzepine, biperiden, and trihexyphenidyl. The results of this experimental series showed that biperiden and trihexyphenidyl are able to disrupt passive avoidance memory consolidation, with a similar relative potency to that of scopolamine, while pirenzepine was without effects, probably because this drug does not readily penetrate into the brain. These results suggest that central M1 receptor subtype may be necessary to consolidate passive avoidance memory, and that peripheral M1 receptors blockade does not affect this process.

In the third experiment the effect of systemic administration of scopolamine and biperiden on the development of forced extinction was evaluated. The drugs were injected ten min before or immediately after each forced extinction session. Results indicate that both compounds delay the development of this process when injected before, but not after each extinction session, thus suggesting that blockade of muscarinic

receptors, particularly the M1 subtype, impairs the learning of the new situation, that is, the absence of reinforcement during extinction.

Finally, in the fourth experiment, a preliminary analysis of the possible involvement of striatal ACh in the recovery of passive avoidance response after its extinction was performed. Scopolamine was injected either systemically (4 , and 8 mg/kg) or intracerebrally (30, and 60 μ g/ hemisphere) into the anterodorsal part of the striatum, 10 min before retrieval testing. Results show that intrastriatal application of the drug did not produce the reinstatement of passive avoidance, in contrast to systemic treatments; hence, it was concluded that this structure does not participates in memory storage processes nor in retrieval of this conditioned behavior. An alternative explanation, however, may be that intrastriatal injection of scopolamine impairs the retrieval of both memory engrams (passive avoidance and its extinction), thus producing the subjects to behave as they were never trained.

These results contribute to the understanding of the extinction phenomenon, by suggesting that behavioral extinction of a learned responses do not result in the removal of the memory engram that codifies it, and therefore, this process does not represent forgetting, but on the contrary, a new learning. Furthermore, the differential effect of antimuscarinic drugs on passive avoidance memory and the extinction memory of this response suggests that these two engrams are independent and probably codified in a distinct array of neuronal networks.

PROLOGO

No es exagerado afirmar que el devenir cultural de la humanidad entera ha dependido, principalmente, de su capacidad de aprender y retener en la memoria -orgánica en sus inicios y simbólica luego- las experiencias acumuladas individual y colectivamente. Sin embargo, todavía más importante es que, sin duda, estas capacidades han hecho posible la existencia actual de nuestra especie, al igual que la de muchas otras. El aprendizaje y la memoria, por lo tanto, deben concebirse como funciones adaptativas de gran valor para los individuos, ya que les permiten modificar sus reacciones dependiendo de las demandas de un ambiente siempre cambiante. En este contexto, las reacciones y conductas aprendidas, simples o elaboradas, inciden directamente en la supervivencia de las especies y por ello constituyen un factor fundamental en la evolución de las mismas.

La presente tesis se conforma de una serie de investigaciones encaminadas a dilucidar un aspecto particular del proceso de aprendizaje que, desde mi punto de vista, tiene gran importancia conceptual y significación biológica, a pesar de haber sido desdeñado por la mayoría de los investigadores que trabajan en esta área. Me refiero al proceso de extinción. Este proceso se ha interpretado de distintas maneras, confundiéndose frecuentemente con fenómenos como la interferencia y el olvido, lo que ha provocado controversias que subsisten hasta hoy. La extinción podría definirse como la pérdida de una conducta aprendida provocada por la ausencia del estímulo que inicialmente reforzó o condicionó su aparición, y es una capacidad que permite a los individuos cesar de emitir respuestas que no son útiles cuando las circunstancias ambientales se han modificado, sin tener que borrar de la memoria la información derivada de experiencias previas que no responde a sus necesidades en un momento determinado; es decir, permite a los sujetos ejecutar conductas distintas e incluso contrarias a las originalmente aprendidas sin necesidad de olvidarlas. Esto implica que la extinción se lleva a cabo mediante un proceso activo de aprendizaje que modifica las memorias anteriores. Por olvido, en cambio, se entiende la incapacidad de evocar algún evento previamente aprendido (consolidado) y se puede explicar de dos formas diferentes, ya sea por la falta de acceso a la información almacenada en la memoria o por la pérdida de esta última. Sin embargo, la extinción podría darle una dimensión activa al proceso de olvido, y no simplemente la desaparición paulatina de una huella de memoria en forma pasiva por efecto del tiempo. En otras palabras, la extinción podría facilitar el olvido. Me referiré a esta posibilidad en la sección de Discusión General.

El propósito original de este estudio consistió en investigar la participación del cuerpo estriado en la recuperación de la conducta de prevención pasiva después de su extinción por la administración de anticolinérgicos. Sin embargo, la refutación experimental de nuestra hipótesis de trabajo, nos condujo a caracterizar el fenómeno antedicho con mayor rigor y explorar la participación del subtipo M1 de los receptores muscarínicos en las fases de consolidación y extinción de esta respuesta condicionada. Por ello, la presente tesis quedó organizada de la siguiente manera: En el Capítulo 1, se hace una breve revisión histórica de los conceptos de aprendizaje y memoria, en donde se pretende ejemplificar algunos aspectos de su evolución y sus carencias actuales de las que, quizás, deriven algunos de los errores e inconsistencias encontradas en la literatura especializada. Posteriormente, se explican algunas generalidades, como los tipos y las fases del aprendizaje y la memoria, para luego entrar de lleno en los antecedentes directos del tema objeto de la tesis, como son, la participación de la acetilcolina y el papel del cuerpo estriado en dichos procesos, y las investigaciones psicológicas y neurofisiológicas en torno a la extinción. En el Capítulo 2, se presentan los experimentos en forma de cuatro artículos que se enfocan en cada una de las preguntas que abordamos en este trabajo. Finalmente, el Capítulo 3, está dedicado a la discusión general, en la cual se intenta integrar los hallazgos experimentales en un marco conceptual más amplio.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 LOS CONCEPTOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA

Históricamente, el hombre ha reconocido y tratado de entender una de las funciones mentales más conspicuas y fascinantes que posee: su capacidad de aprender y mantener en la memoria incontables eventos y conocimientos de muy diversa índole. En ese intento, han surgido y evolucionado diferentes definiciones de aprendizaje y de memoria, que encierran la idea que de ellos se ha tenido a lo largo del tiempo. A pesar de que una revisión de dichos conceptos podría parecer un ejercicio inútil, la historia de la ciencia nos muestra que el progreso en un campo determinado, depende, muchas veces, de nuestra capacidad para aclarar postulados básicos. Por ejemplo, el estancamiento en el estudio de la termodinámica se mantuvo hasta que la diferencia entre calor y temperatura fue apreciada (Roller, 1966). Desde luego, una relación histórica coherente sobre los conceptos de aprendizaje y memoria excede con mucho el ámbito de la presente tesis y, por ello, no pretendo en este apartado sino referir algunas citas de diferentes autores que nos ayuden a seguir su evolución en el tiempo y a entender algunas de las contradicciones suscitadas sobre este tema. Como veremos a continuación, en esencia, las definiciones de aprendizaje y memoria no han cambiado gran cosa en los últimos siglos, lo cual nos lleva a reflexionar respecto a la necesidad de una visión más original del marco teórico dentro del cual trabajamos. En esta revisión, aunque muy sucinta, se tratarán de recapitular los pros y contras de las ideas dominantes que, particularmente en este siglo, se han elaborado para explicar estas funciones.

La apreciación del hombre de sus propias facultades mnémicas puede rastrearse hasta tiempos remotos, encontrándose registros en el antiguo Egipto y las culturas de Medio y Lejano Oriente (Chan et al. 1944, Yates, 1974). Con Hesiodo (s. VII a. C.), la capacidad de memorizar llega a tener un carácter primordial en la mitología clásica. En su *Teogonía*, Hesiodo se refiere a Mnemósine -hija de Gea y Urano, y esposa de Zeus- como la madre de todas las Musas (Richepin 1951); esta posición de superioridad es una alegoría muy sugerente que puede interpretarse como una referencia a la subordinación de las virtudes encarnadas por las demás Musas a la capacidad de aprender y memorizar. A partir del siglo VI a. C., algunos filósofos griegos como Tales y Anaximandro sentaron las bases especulativas para una filosofía natural y dos siglos después el gran maestro ateniense

Sócrates, inició el debate sobre las facultades mentales del hombre. Más tarde, Aristóteles, quien hizo reflexiones profundas sobre la memoria, las “representaciones internas” y la imaginación (Sorabji, 1972), sostuvo que el corazón era el sustrato de dichas funciones, postulando incluso mecanismos para explicarlas, pero sin enunciar definiciones concretas de ellas (Sorabji, 1972). En contraposición, los anatomistas alejandrinos del siglo III a.C., sugirieron la localización de las funciones mentales en el cerebro, pero no fue sino hasta el siglo II de nuestra era cuando Galeno demostró que los nervios se originaban en el cerebro y que las funciones sensoriales y motoras se perdían por la lesión de este órgano (Gomulicky 1953). Una de las primeras definiciones de memoria se encuentra en los Diálogos de Platón, donde Sócrates menciona: “*Sería correcto llamar memoria, en mi opinión, a la preservación de una sensación*” (Platón, s. IV a.C.). El oscurantismo que dominó los siguientes mil quinientos años nos revela este tema en forma velada, lo cual haría necesaria una investigación exhaustiva de la obra de los naturalistas y filósofos más representativos para rastrear la evolución histórica de la idea de memoria en este periodo. No obstante, podemos encontrar capítulos enteros dedicados a la reflexión sobre este fenómeno, por ejemplo, en las *Confesiones* de San Agustín. En esta obra se encuentran varias citas notables en torno al concepto de memoria: “*Y he aquí que llego a los espacios anchurosos, a los vastos palacios de la memoria, donde están atesoradas las innumerables imágenes que acarrearón las percepciones multiformes de los sentidos. Allí mismo está recondido todo aquello que pensamos, ora aumentado, ora disminuido, o modificado de una u otra manera, lo que el sentido percibió, como también cualquiera otra cosa que se le encomendó y se le confió como en depósito, si es que aún no la borró la desmemoria o la sepultó el olvido*” (San Agustín, 398 d.C.). Aunada a su hermosa presentación poética, esta definición es una referencia de la memoria como un almacén privado de imágenes mentales, que sería retomada por el empirista inglés John Locke (1690), 1300 años después: “*La memoria podría considerarse como un almacén de nuestras ideas*”. Otros eruditos medievales como Costa ben Luca en el siglo IX y San Alberto Magno en el XIII, sostenían que la memoria era almacenada en los ventrículos cerebrales. Costa ben Luca, además, trató de explicar el mecanismo por medio del cual los espíritus formaban las imágenes mentales y la memoria, al fluir por el cerebro: “*el orificio entre la porción anterior y posterior del cerebro se obtura mediante una válvula, y así, cuando se evoca una memoria, la válvula se abre y los espíritus pasan del ventrículo anterior al ventrículo posterior; al inclinar la cabeza se estimula la apertura de la válvula y por lo tanto, la memoria*” (Thorndike 1923). Esta tendencia a describir las facultades mentales con base en la interacción de mecanismos físicos y orgánicos se pone de

manifiesto también en el filósofo alemán Gregor Reich (1490), quien define a la memoria como la capacidad de recordar los objetos en su ausencia, y, utilizando sus propias palabras, como *“la retención de imágenes sensibles del pasado en forma de remolinos de vapores que llenan el ventrículo posterior del cerebro”* (Park 1988). Se advierte claramente en estos autores, la idea de una representación física de la memoria en el cerebro, aunque resulta curioso el hecho de darle tanta importancia a los ventrículos cerebrales y sus fluidos en estas funciones; sin embargo, si tenemos en cuenta que los paradigmas dominantes derivados del desarrollo científico en una época determinada, permean otras áreas del conocimiento para explicar distintos fenómenos, podríamos especular que la hidráulica tuvo una gran influencia sobre estos pensadores, del mismo modo que el electromagnetismo lo hizo con los neurofisiólogos durante la primera mitad del presente siglo, o la cibernética en la actualidad. De cualquier modo, no sería sino hasta el siglo XVII cuando Thomas Willis (1621-1675) sugiriera que el sustrato anatómico de la memoria no eran los ventrículos, sino la corteza cerebral (Nordenskiöld 1935).

La figura de René Descartes (1596-1650) constituye un parteaguas en la evolución de la filosofía y las matemáticas, entre muchas otras ciencias, y se le ha considerado con justicia, el padre de la fisiología y la psicología contemporáneas. Descartes describe a los animales como autómatas, siendo el hombre el único dotado de un alma racional, y la glándula pineal el sitio de interacción entre esa alma y el cuerpo. Este filósofo se ocupó de la memoria en dos de sus obras capitales, *Las pasiones del alma* (1649) y *Tratado del hombre* (1664). Aún ahora, resulta extraordinaria su descripción de los espíritus animados que fluyen por el cerebro “estampando” representaciones internas de las cosas: *“... los espíritus pasan a través de tubos dentro de poros o huecos (en el cerebro)... Y supongamos que esos espíritus son suficientemente fuertes como para agrandar esos huecos y por lo tanto, trazan figuras en dichas hoquedades, las cuales corresponden a aquellas de los objetos. Al principio, lo hacen menos fácilmente, pero gradualmente lo realizan mejor y mejor, hasta que su acción se hace más fuerte y dura más tiempo, o es repetida con mayor frecuencia. Es por eso que tales figuras pueden formarse nuevamente mucho después, sin requerir la presencia de los objetos a los que corresponden. Y es esto, en lo que la memoria consiste”* (Descartes, 1649) Esta definición incorpora la idea de facilitación dependiente del uso, recordándonos sorprendentemente las teorías modernas del aprendizaje, sólo que en vez de canales iónicos, sinapsis, neuronas y circuitos, Descartes (al igual que sus predecesores) imagina tubos, válvulas y huecos en miniatura. Debe notarse que estos intentos, a pesar de ser reduccionistas y mecanicistas, tratan de

explicar el fenómeno de memorizar en términos biológicos, es decir, como una resultante de la actividad cerebral. Sin embargo, no son los filósofos renacentistas quienes describen por vez primera a la memoria como un proceso “orgánico”; de hecho, desde Aristóteles se puede apreciar cierta orientación en este sentido, cuando afirma que es el *ánima* el principio fundamental que diferencia lo viviente de lo no-viviente, “*la causa y esencia de todas las funciones de los cuerpos animados*” (Aristóteles s. IV a.C.). Para Aristóteles, la memoria era una propiedad de la mente con el mismo estatus que otras entidades psíquicas, como las sensaciones o las emociones (Wallace 1976).

Ciento cincuenta años después de la publicación de *Las pasiones del alma* se inicia una gran revolución de las ciencias biológicas, con avances sin precedente en la embriología, la biología celular, la botánica, la zoología y la fisiología, que culminará con Darwin y *El origen de las especies* (1859). Charles Robert Darwin (1809-1882) fue uno de los primeros teóricos en psicología comparada e hizo aportaciones originales sobre la conducta animal y humana (Darwin 1872); es asimismo, el primero en darle importancia adaptativa al aprendizaje y en ilustrar los principios dinámicos de la evolución mediante la adquisición de hábitos nuevos (García y Robertson y García 1987). Simultáneamente, la dicotomía cartesiana cuerpo-alma contribuye a la divergencia entre el estudio del cerebro por un lado y de la mente por el otro (la cual ha subsistido en algunos círculos hasta nuestros días). Es en este tiempo, cuando la psicología experimental empieza a desarrollarse como tal -aunque el término *psicología* ya había sido introducido desde el siglo XVI por el naturalista alemán J.T. Freigius (Nordenskiöld 1935)- y algunas escuelas filosóficas como el asociacionismo inglés, contribuyen a su maduración (Russell 1961; Boakes 1984). Debido a la contundencia de los postulados darwinianos, los impulsores de la naciente ciencia, fueron influidos profundamente por el pensamiento evolucionista, basando sus ideas y aportaciones en fenómenos fisiológicos y su importancia adaptativa. Algunos ejemplos sobresalientes los podemos encontrar en Wilhelm Wundt, quien estableció el primer laboratorio de psicología experimental en Leipzig el año de 1875; Hermann Ebbinghaus (1850-1909), a quien debemos los primeros trabajos sistemáticos sobre la memoria humana (Ebbinghaus 1885); Ivan Mijailovich Sechenov (1829-1905), que propuso que la solución a los dilemas psicológicos radicaba en la fisiología de los reflejos (Sechenov 1892), y G.J. Romanes (1882) quien trabajó con distintos reflejos aprendidos en animales, pero, desgraciadamente, sus resultados e interpretaciones fueron más anecdóticos que experimentales. Asimismo, científicos posteriores como Charcot, Ramón y Cajal, Pavlov y hasta el mismo Freud, coincidieron en la importancia del valor adaptativo de las conductas innatas y aprendidas para

explicar los procesos mentales superiores, tanto normales como patológicos. Resulta curioso, sin embargo, el curso que tomó la escuela psicológica norteamericana, cuyo fundador, el eminente William James (1842-1910), compartía las ideas de sus colegas europeos en torno a los fenómenos cerebrales que necesariamente deberían ocurrir durante la actividad mental. Este autor, incluso formuló una correlación fisiológica del aprendizaje que posteriormente fue retomada nada menos que por Hebb. En su obra clásica, *Principles of Psychology* (1890), James escribe: “*la determinante psicológica de la asociación de objetos del pensamiento, es un efecto en la mente, del hecho físico de que las corrientes nerviosas se propagan más fácilmente a través de los tractos de conducción que han sido más utilizados*”. Más tarde, Hebb escribiría: “*cuando dos procesos cerebrales elementales son activados simultáneamente o en inmediata sucesión, uno de ellos, cuando ocurre, tiende a propagar su excitación hacia el otro*” (1949). No obstante, el advenimiento del conductismo con John Watson (1913) y más tarde con Burrhus Skinner (1938), modificó la concepción de las funciones mnémicas basada en procesos fisiológicos, para expresarla en términos conductuales. Paradójicamente, esta escuela también se fundamenta en preceptos evolucionistas; Watson mismo, retoma y defiende a Darwin en su obra principal, *Behaviorism* (1919). A pesar de que el conductismo radical ha sido abandonado por la mayoría de los investigadores, excepto su propio fundador y algunos seguidores (Skinner, 1989, 1990), su influencia sobre los conceptos de aprendizaje y memoria continúa dominando los libros de psicología y hasta de neurobiología. Dichas definiciones muestran variantes en cuanto a pequeñas particularidades; algunas, por ejemplo, excluyen fenómenos que pueden modificar la conducta y confundirse con aprendizaje, como lo son el desarrollo ontogenético, las enfermedades, las lesiones cerebrales, la influencia de drogas, la adaptación sensorial o la fatiga, pero todas ellas infieren el aprendizaje y la memoria a partir de la ejecución conductual, y en algunos casos, llegan a extremos absurdos al afirmar: “*el aprendizaje es un proceso teórico cuya ocurrencia se infiere a partir de cambios en la conducta observable de los organismos como resultado de ciertas experiencias ambientales*” (Hearst, 1988). Incluso en la literatura neurofisiológica parece aceptarse la idea de que “*el aprendizaje es una inferencia basada en la observación entre la conducta animal y su experiencia pasada*” (Carew y Sahley, 1986). Otras definiciones conductistas recientes son, por ejemplo: “*el cambio relativamente permanente en la conducta que es resultado de la experiencia*” (Gomezano, 1984); “*aprendizaje es cualquier cambio relativamente duradero en la conducta que es contingente a la ocurrencia de un evento específico*” (Milgram, et al., 1987); “*los cambios duraderos en la conducta que resultan de la experiencia*

previa” (Thompson, 1986); *“aprendizaje es un proceso a través del cual es posible coleccionar información para modificar la conducta a los cambios ambientales”* (Brunelli et al. 1997).

A pesar de que las ideas evolucionistas perdieron terreno frente al conductismo, Edward Lee Thorndike (1874-1949), discípulo de James, había aportado evidencias desde principios de siglo, sobre el hecho de que las conductas aprendidas constituyen un refinamiento o desarrollo ulterior de las conductas instintivas (genéticamente determinadas), mediante sus experimentos de ensayo y error. Este investigador, de clara orientación darwinista (Thorndike 1909), demostró que no todas las conductas son susceptibles de condicionarse (Thorndike 1911). Investigaciones más recientes han confirmado sus hallazgos (e.g., Annable y Warenden 1979; Shettleworth, 1975, 1980), poniendo sobre relieve que muchos patrones motores instintivos son muy difíciles o imposibles de asociar con una función para la cual no están destinados. Este es el caso de la conducta de aseo para la obtención de comida o de apretar una palanca para evitar un castigo. Es altamente improbable que una presión de selección natural favoreciera la evolución de una circuitería neural capaz de poner la conducta de aseo al servicio de la alimentación (Vanderwolf y Cain, 1994). Por el contrario, aquellas formas de aprendizaje cuyo significado biológico es vital para una especie, como las reacciones de evitación y huida, son fácilmente condicionables con un sólo ensayo, y persisten durante largos periodos de tiempo (Bolles, 1970). Tal es el caso de algunos modelos de aprendizaje bien estudiados, como el condicionamiento aversivo al sabor y la conducta de prevención pasiva.

El problema actual de los conceptos de aprendizaje y memoria estriba en su herencia conductista, ya que existe una contradicción entre los postulados neurobiológicos y la forma de definir dichas funciones. Esta contradicción no es trivial, pues encierra un grave error conceptual que consiste en omitir los procesos fisiológicos que determinan la capacidad de aprender, y por tanto, conduce la investigación hacia un terreno poco fructífero. Tomemos, por ejemplo, tres definiciones recientes de neurocientíficos autorizados: Richard Thompson (1986), dice: *“los cambios duraderos en la conducta que derivan de la experiencia previa pueden ser caracterizados como el resultado del aprendizaje, la memoria y la evocación”*; para Larry Squire (1987), *“el aprendizaje es el proceso de adquirir nueva información, mientras que la memoria se refiere a la presencia del aprendizaje en un estado tal que pueda ser revelado posteriormente”*; finalmente, Kupferman (1991) expone en *Principles of Neural Science*, el texto de neurobiología más leído: *“el aprendizaje es el proceso de adquirir conocimientos acerca del mundo. La memoria es la retención o almacenamiento de esos conocimientos”*. Como puede verse, la limitación fundamental de estas definiciones es soslayar los

aspectos fisiológicos que subyacen a los procesos de aprendizaje y formación de la memoria, de tal modo que el cerebro se concibe como una “caja negra” en donde nada sucede o, peor aún, no importa lo que suceda, mientras que los resultados del análisis que éstos y muchos otros investigadores publican sobre el fenómeno de aprender, se expresa casi exclusivamente en un lenguaje biológico, a saber, cambios anatómicos, bioquímicos y fisiológicos en el sistema nervioso. Por lo tanto, no hay correlación entre lo que se estudia sobre la memoria (la caja negra) y lo que se entiende por ésta. Los conceptos de aprendizaje y memoria, por ende, deberían reflejar los cambios que, se supone, suceden en el cerebro como resultado de aprender, incluyendo, de ser posible, su significado biológico. Afortunadamente, la escuela etológica mantuvo presente la relación íntima que hay entre la ejecución conductual y las modificaciones de la organización funcional del cerebro, lo cual se hace patente en algunas definiciones más fisiológicas: para Konrad Lorenz, (1981) el aprendizaje *“es una modificación adaptativa dada por un refinamiento de la maquinaria fisiológica cuya función es la conducta”*; J.Z.Young (1979, 1987), sostiene que *“el aprendizaje consiste en un rearreglo de los estados del sistema nervioso, ordenados efectivamente a través de la selección natural entre un rango de posibilidades. Es la capacidad de cambio en las vías nerviosas”*.

Otro problema básico que merece mencionarse aquí es la exclusión de la importancia adaptativa en los conceptos de aprendizaje y la memoria. Las dos teorías que han sobrevivido hasta la fecha y que, por cierto, son incompatibles, no son explícitas en cuanto al papel de las funciones mnémicas en la evolución. Algunos autores las llaman la teoría psicológica y la teoría neuronal (Vanderwolf y Cain 1994). Las escuelas psicológicas tradicionales, como el conductismo y el cognocitvismo, pero también la psicología comparada, prácticamente nunca tomaron en cuenta el valor que tiene el aprendizaje para la sobrevivencia de las especies; por otro lado, la teoría neuronal parece más preocupada por revelar los mecanismos íntimos de la memoria que por explicar el **por qué** dichos mecanismos y no otros, han sido favorecidos por la selección natural para procesar y almacenar la información. El percibir y comprender a los fenómenos mnémicos como causa y, al mismo tiempo, resultante de la evolución, nos permite hacer inferencias generales sobre su carácter esencial. Desde esta perspectiva, por ejemplo, se ha propuesto que la formación de la memoria tiene cualidades similares a la embriogénesis y la diferenciación celular -en casos excepcionales, una depende estrictamente de la otra, por ejemplo, en el canto de las aves (Nottebhom 1970, 1980)- de tal modo que, probablemente, la memoria y la embriogénesis no son dos procesos similares, sino uno y el mismo, pero a diferente nivel (Robertson 1982). Así, la distinción tradicional entre un sistema

nervioso rígido y uno plástico se reduce a una cuestión de tiempo: la diferenciación final de algunas características neuronales podría mantenerse hasta la madurez y estaría representada básicamente por el aprendizaje.

Desde este punto de vista evolutivo cabe, todavía, una especulación más general: si es cierto que las capacidades particulares para el aprendizaje en una especie dada, y más concretamente en cada población de dicha especie, están determinadas genéticamente en última instancia, entonces los individuos favorecidos por la selección natural transmitirán dichas capacidades a su descendencia, de tal forma que una conducta originalmente aprendida por ciertos individuos, podría convertirse en un rasgo distintivo de la especie con el paso del tiempo. En otras palabras, la dicotomía tradicional entre las conductas innatas y aprendidas, es sólo parcialmente cierta, y la idea de que la memoria, llamémosle ontogenética, pueda eventualmente transformarse en memoria filogenética es, desde este punto de vista, posible (Hinton y Nowlan 1987; Papaj 1993; Anderson 1995). Los casos de aprendizaje *in utero* o de impronta son buenos candidatos para ejemplificar dicho proceso. Este mismo mecanismo basado principalmente en la variabilidad y la selección natural subyace a la evolución de los rasgos y características físicas u orgánicas de cada especie, así que conviene resaltar aquí que siendo la conducta, innata o aprendida, un factor central en la evolución de los organismos (Rozin y Kalat 1971; Hinton y Nowlan 1987; Leonovicova y Novak 1987; Anderson 1995), debe también considerarse bajo esta óptica.

Hemos llegado a un punto en que debiera ofrecer una definición de los conceptos que nos ocupan, pero sólo haré algunas consideraciones que pueden ser útiles para ello: como se verá más adelante, el aprendizaje no es un evento, sino un proceso que involucra a su vez otros estados y procesos de tipo motivacional, de atención, emocional y de ejecución conductual; asimismo, implica la asociación e interpretación de la información (estímulos) en un contexto determinado. La memoria, por otro lado, es un cambio plástico principalmente a nivel del sistema nervioso central, pero también del periférico y con mucha probabilidad, de los órganos efectores, que codifica lo aprendido. En otras palabras, aprender es el proceso mediante el cual se perciben, procesan y asocian estímulos relevantes exteroceptivos o interoceptivos provocando una modificación plástica (memoria) reversible o irreversible en el sistema nervioso que, precisamente por esto último, se mantiene durante un tiempo variable. Memoria es la *forma* en la cual se almacena la información aprendida; es la representación física de los fenómenos de plasticidad celular que permiten retener dicha información. Ambos procesos, por supuesto, tienen un significado adaptativo y evolutivo. Pero, en mi opinión, deberíamos

llegar todavía más lejos, ya que pueden observarse casos de modificación de la conducta dependiente de la experiencia en organismos unicelulares carentes del más rudimentario de los sistemas nerviosos, tanto procariontes (Koshland 1980; Csaba et al. 1984), como eucariontes (Jennings 1906; Harris 1943; Eisenstein 1982, 1997). Es decir, no se necesitan neuronas para aprender. Por lo tanto, el aprendizaje debería entenderse como una cualidad esencial de los organismos que los moldea para responder diferencialmente a los estímulos; es pues, una característica fisiológica inherente a los seres vivos, al igual que la excitabilidad o la ritmicidad circadiana.

1.2 TIPOS DE APRENDIZAJE

Tradicionalmente, la clasificación de los distintos tipos de aprendizaje sigue la línea que va de lo simple a lo complejo (McFarland 1987; Squire 1987). Las formas de aprendizaje no-asociativo, como la habituación y la sensibilización, son dos ejemplos del simple. En la habituación, la presentación repetida de un estímulo inocuo provoca un decremento progresivo de la responsividad del sujeto. Este efecto se relaciona en forma directa con la frecuencia del estímulo y es inversamente proporcional a la intensidad del mismo; además, si se suspende la estimulación por un tiempo breve, la respuesta reaparece. En la sensibilización, la presentación repetida de un estímulo de igual intensidad provoca respuestas similares entre sí, que, de hecho, pueden irse habituando. Si se incrementa súbitamente la intensidad de un sólo estímulo, se provocará una respuesta proporcionalmente mayor; sin embargo, las respuestas subsecuentes también estarán incrementadas por algún tiempo. El cambio en la respuesta (derivado de la experiencia) ante estímulos iguales, tanto en la habituación como en la sensibilización, es lo que se interpreta como aprendizaje, mientras que la presentación de un sólo tipo de estímulo, le confiere la cualidad de no-asociativo (Mackintosh 1974; Kimble 1985). Es importante señalar que llamar “no-asociativo” a este tipo de aprendizaje, por el simple hecho de no involucrar dos estímulos distintos es un tanto erróneo, ya que es evidente que el organismo *asocia* cada estímulo con el precedente para modificar su respuesta.

El aprendizaje asociativo llamado también condicionamiento, tiene dos vertientes principales: el condicionamiento clásico (Pavlov 1927) y el operante o instrumental (Bechterev, 1909; Thorndike, 1911). La mayor parte de la investigación en psicología experimental y neurobiología se ha llevado a cabo en estas formas de aprendizaje, por lo que conviene detenerse a explicarlas. En el condicionamiento clásico, el apareamiento de un estímulo neutro (estímulo condicionado, EC), con

un estímulo biológicamente significativo (estímulo incondicionado, EI) -que normalmente desencadena una respuesta específica (respuesta incondicionada, RI)- provocará que la sola presentación del EC sea capaz de inducir la misma RI, y por lo tanto, ésta se convierte en respuesta condicionada (RC). En el condicionamiento instrumental pueden distinguirse diversos tipos, algunos de ellos muy elaborados. En su forma más simple, este aprendizaje se establece mediante la ocurrencia de un evento motivante en contingencia temporal con una conducta específica que el organismo realiza espontáneamente. Este evento motivante se dice que *refuerza* la respuesta, provocando un aumento en la probabilidad de que el sujeto la siga ejecutando. Por último, dentro de las formas más complejas de aprendizaje, en su mayoría propias del ser humano, se han descrito una gran cantidad de variantes que tienen una distinta interpretación dependiendo del marco teórico en el que se ubiquen (conductismo, cognositivismo, psicopatología, etc.). Esto ha conducido a elaborar una especie de taxonomía de memoria derivada de aprendizajes complejos, que a veces raya en lo absurdo. Así por ejemplo, se habla de memoria de procedimiento, declarativa, implícita, episódica, semántica, icónica, de trabajo, de referencia, verbal, espacial, de reconocimiento, representacional, evaluativa, autobiográfica, autonómica, de esfuerzo, etc. Es legítimo preguntarse en este sentido, si tantas subdivisiones artificiales corresponden realmente a funciones neurales distintas y, por otro lado, qué tanto esta tendencia fragmentalista es útil para comprender los mecanismos mnémicos básicos. Es muy probable que la respuesta a estas dos preguntas sea negativa y, por ello, si nuestro interés consiste en buscar explicaciones generales de estos fenómenos, convendría tomar con cautela la tendencia antropocéntrica que se advierte al dividir la memoria en tantos subtipos. Una versión simplificada de los distintos tipos de memoria se presenta en la figura 1.



Figura 1. Tipos de memoria (modificada de Squire, 1986)

1.3 LAS FASES DEL APRENDIZAJE

El aprendizaje es un proceso dinámico que provoca modificaciones en el sistema nervioso en un orden temporal relativamente estricto a medida que se lleva a cabo. En este sentido, se pueden diferenciar varias etapas desde el punto de vista fisiológico. Sin embargo, la ejecución de los animales se modifica a lo largo de este proceso, por lo que también pueden distinguirse varias etapas conductuales en el mismo. Desgraciadamente, se han acuñado los mismos términos para describir algunas de estas fases en ambos casos, por lo cual haré hincapié en ellos, con el fin de evitar confusiones. Desde el punto de vista conductual podemos reconocer al menos 4 etapas durante el proceso de aprendizaje asociativo, a saber: la *adquisición*, que es la fase durante la cual el sujeto va mejorando paulatinamente la ejecución de alguna tarea en particular, mediante el apareamiento del EC y el EI, o de una respuesta instrumental y el reforzador. Una vez que el sujeto ha adquirido el condicionamiento y llega a una etapa asintótica en la curva de ejecución de la tarea, en la que, independientemente de que se le siga reforzando o apareando estímulos, el sujeto es incapaz de mejorar su respuesta, se dice que ha llegado a la fase de *mantenimiento*. Si en estas condiciones se retira el reforzador o el EI, los sujetos disminuyen gradualmente la ejecución de la respuesta aprendida hasta que ésta se pierde por completo. A dicha etapa se le conoce como *extinción*. Si se continúa el registro por un tiempo razonable, esta respuesta reaparece eventualmente, aunque casi siempre con menos vigor. A este evento se le conoce como *recuperación espontánea* (Figura 2).

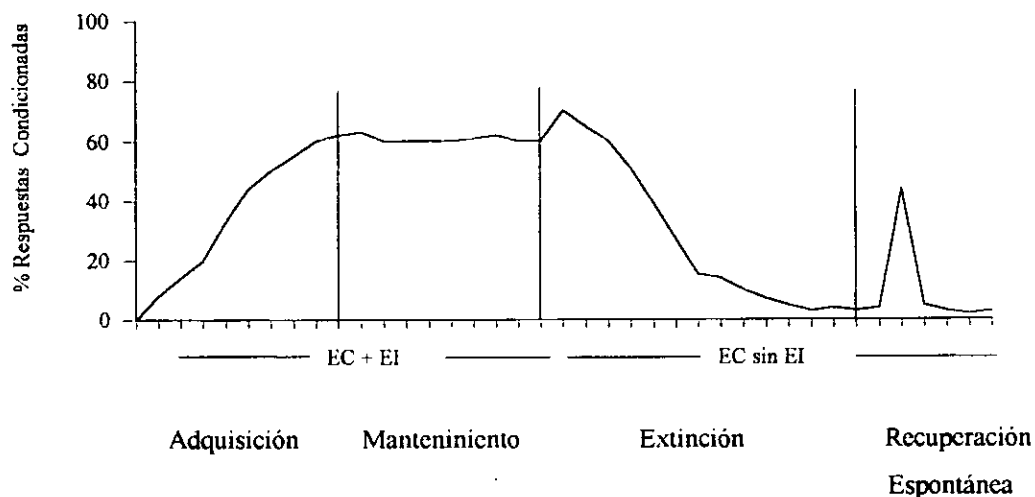


Figura 2. Fases conductuales del aprendizaje

Desde la perspectiva fisiológica, es decir, de los fenómenos o cambios que tienen lugar en el organismo, particularmente en el sistema nervioso central (SNC), durante el aprendizaje se pueden distinguir: la *adquisición*, que en este contexto comprende la percepción, procesamiento y asociación de los estímulos relevantes. La *consolidación* de la memoria y su *almacenamiento* en un engrama más o menos permanente. Para algunos autores esta etapa también se conoce como *retención*, que como el término indica, define qué tanto de lo aprendido se retuvo en la memoria; para otros, la *retención* es una etapa subsecuente a la *consolidación* e indica el grado de almacenamiento de la información. Es factible que estos eventos fisiológicos se den simultáneamente, y signifiquen en términos anatomofuncionales exactamente lo mismo: cambios plásticos en el SNC que representan la formación de una huella de memoria. Adicionalmente, se utiliza con frecuencia la frase “*prueba de retención*” para referirse a la evaluación de la memoria durante la sesión en que el sujeto ejecuta la tarea aprendida, porque se infiere que en dicha prueba se califica qué tanto se retuvo en la memoria. Esta suposición no es totalmente correcta, pues la ejecución de un condicionamiento implica un proceso adicional, que es la evocación de la memoria. Finalmente, la *evocación*, es el proceso mediante el cual se consigue acceso a la información guardada en la memoria y determina su “salida”, de forma tal que pueda ser revelada conductualmente (Figura 3). Dependiendo del tipo de aprendizaje, algunos autores han distinguido otras etapas, como la formación de una memoria de corto plazo, que permite la asociación de los estímulos condicionado e incondicionado cuando éstos se presentan separados en el tiempo (Bures et al. 1989, 1995). Las fases anteriormente descritas revelan procesos adicionales, por ejemplo: la transferencia de una memoria de corto plazo (mcp) a una memoria de largo plazo (mlp) procede mediante la *consolidación*, dado que la primera puede ser “borrada” fácilmente a través de distintas manipulaciones (por ser una memoria lábil o efímera), mientras que la segunda es más robusta (consolidada) y resistente a manipulaciones amnésicas. Por lo tanto, es importante hacer notar que la nomenclatura no corresponde a procesos análogos, sino a fenómenos distintos. El ejemplo más tangible es la falta de correspondencia entre la *adquisición* conductual y la fisiológica. Así, durante la *adquisición conductual* de una tarea que requiere múltiples ensayos para establecerse, tienen lugar tantas *adquisiciones, consolidaciones y evocaciones fisiológicas* como ensayos necesarios para aprender la tarea y pasar a la siguiente etapa conductual, o sea el *mantenimiento*.

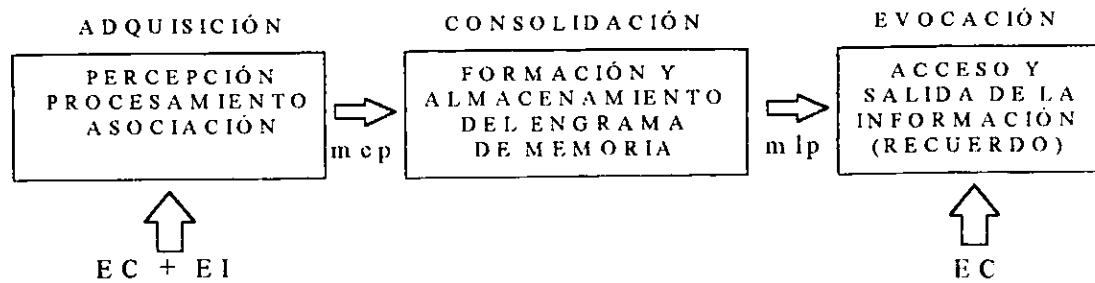


Figura 3. Fases fisiológicas del aprendizaje.

1.4 ACETILCOLINA, RECEPTORES COLINÉRGICOS Y PROCESOS MNÉMICOS

La literatura concerniente a la participación de la ACh en el aprendizaje y la formación de la memoria es muy abundante y proviene de distintas líneas de investigación, tanto básicas como clínicas. En general, los hallazgos han sido muy consistentes con la hipótesis de que la estimulación colinérgica facilita estas funciones, en tanto que su inhibición las entorpece. No obstante, algunos investigadores han propuesto que es necesario un nivel óptimo de activación colinérgica en un momento determinado para que se lleven a cabo adecuadamente estos procesos, de tal modo que tanto la inhibición como la sobreestimulación traen como consecuencia deficiencias en el aprendizaje y cuadros amnésicos (Deutsch, 1971; Castellano et al. 1996; Everitt y Robbins 1997). En vista de que se han publicado excelentes revisiones sobre este tema (Deutsch, 1971; Bartus et al. 1985; Gold y Zornetzer, 1983; Overstreet 1984; Warburton and Wesnes 1984; Davies 1985; Smith 1988; McGaugh 1989; Decker y McGaugh 1991; Fibiger 1991; Hasselmo 1993; Prado-Alcalá et al. 1993; Castellano et al. 1996; Everitt y Robbins 1997), en la presente sección no abundaré en describir la gran cantidad de estudios que han llevado a la conclusión antedicha, sino solamente me limitaré a precisar algunas bases experimentales en las cuales se sustenta esta postura.

Existen algunos relatos anecdóticos que refieren los efectos tóxicos y alucinógenos de distintas plantas que contienen sustancias anticolinérgicas. Uno de los más interesantes es el citado por Robert Beverly en su *History of Virginia* (1855), en el que "...un grupo de soldados comieron ensalada hecha a base de hojas de stramonium (o trigo de Jamestown),... volviéndose locos durante

varios días, por lo cual fueron confinados en una celda y, posteriormente, al volver en sí, no recordaron nada de lo que había pasado". La descripción hecha por el autor nos recuerda los efectos psicotrópicos y amnésicos que caracterizan a estos alcaloides. Sin embargo, el primer trabajo experimental rigurosamente científico que nos sugiere un papel importante de la ACh en los fenómenos de aprendizaje y memoria fue publicado en la década de los 20 por David I. Macht. Utilizando un laberinto circular concéntrico, este investigador de la Universidad Johns Hopkins, describió en detalle los efectos conductuales observados tras la administración de atropina, homatropina y escopolamina, entre otras drogas: *"los animales se tornaron muy inquietos... su inteligencia parecía haberse perdido completamente, de tal forma que rondaban largamente en el laberinto sin la habilidad de discriminar entre el camino correcto y el equivocado"*. Sorprende, por lo tanto, la lentitud con la cual ha avanzado esta línea de investigación del aprendizaje, y lo poco que en realidad sabemos sobre ella, siete décadas después. Alguna explicación se puede encontrar en el vacío de información desde el trabajo pionero de Macht (1924) hasta que se retoma el tema en los años 60, probablemente debido a la falta de consenso sobre la naturaleza y los mecanismos de la neurotransmisión. A partir de entonces, comienza una etapa de desarrollo no sólo de la relación de la memoria con la ACh, sino con otros neurotransmisores, neuromoduladores y hormonas (De Wied et al. 1974; Gold y Zornetzer, 1983; Beninger 1983; Van Wimersma Greidanus et al. 1986; Vanderwolf, 1988; McGaugh 1989; Decker y McGaugh, 1991; Vanderwolf y Baker 1991; Blackburn 1992; Izquierdo et al. 1992; Castellano et al. 1996). En las últimas dos décadas, el descubrimiento de que en algunas patologías degenerativas que involucran la pérdida de las funciones cognitivas, como la enfermedad de Alzheimer, se presenta un deterioro progresivo de las neuronas colinérgicas, ha dado un nuevo impulso a estas investigaciones (Whitehouse et al. 1983; Bartus 1985; Collerton 1986; Smith 1988; Christensen et al. 1992; Lawrence y Sahakian 1995).

A pesar de que en alguna época, no muy lejana por cierto, estuvo de moda pensar que resolviendo el papel de los neurotransmisores en las distintas funciones cerebrales se tendría la clave para su comprensión -en casos extremos se llegó a suponer que cada función estaba determinada por un transmisor- esta idea reduccionista se ha abandonado. Por lo tanto, no pretendo dejar la impresión en este apartado de que la ACh es el neurotransmisor más importante en los fenómenos mnémicos, si bien es del que más información se tiene. Como se mencionó anteriormente, el avance paralelo de varias líneas de investigación demostró en los años 60 que el sistema colinérgico es fundamental para

el procesamiento y retención de información. Una de las aproximaciones más socorridas ha sido la farmacológica; por ello, me detendré para hacer una nota sobre los receptores colinérgicos.

A partir de los trabajos clásicos de Sir Henry Dale en 1914 (Brown 1989), se sentaron las bases para la clasificación tradicional de los receptores colinérgicos en muscarínicos y nicotínicos, atendiendo a los compuestos que los estimulan e inhiben selectivamente: muscarina y atropina para los primeros; nicotina y curare para los segundos. Esta definición de los receptores colinérgicos se mantuvo por más de 60 años, a pesar de que algunos reportes aislados indicaban que el panorama no era tan simple (Riker y Wescoe 1951; Roszkowski 1961; Barlow et al. 1976). A fines de la década de los 70 se encontraron los primeros indicios claros de la existencia varios subtipos de receptores muscarínicos (Bridshall et al. 1978; Hammer et al. 1980). Inicialmente se propusieron dos subtipos, el M1 y el M2, con base en su afinidad alta y baja, respectivamente, por el antagonista pirenzepina (Hammer et al. 1980). Después, se identificaron farmacológicamente los subtipos M2, al cual se une el AF-DX 116 (Giachetti et al. 1986) y el M3, que muestra selectividad por el 4-DAMP y el hexahidrosiladifenidol (Mutschler y Lambrecht 1984). Sin embargo, mediante técnicas de biología molecular fue posible reconocer cinco receptores muscarínicos, denominados m1 a m5 (Bonner et al. 1987) para diferenciarlos de aquellos caracterizados por medio de fármacos específicos (M1 a M4). Actualmente se sabe que estos subtipos corresponden a una superfamilia de genes que codifican para numerosas proteínas membranales acopladas a proteínas G, entre las que se encuentran receptores a otros neurotransmisores y péptidos (Hulme et al. 1990). Estructuralmente, se conforman de siete hélices transmembranales unidas a otras tantas asas extracelulares e intracelulares dispuestas en forma alterna, con el dominio amino-terminal hacia la hendidura sináptica y el carboxilo hacia el citoplasma (Wess 1993). Mediante estudios de mutagénesis dirigida se ha propuesto que la unión del ligando ocurre en el anillo formado por los siete dominios transmembranales (Hulme et al. 1990), mientras que la tercera asa intracelular constituye el sitio de acoplamiento a la proteína G (Kubo et al. 1988). Los subtipos M2 y M4 están acoplados a proteínas G de la familia Gi/Go sensibles a toxina pertusis, siendo su respuesta primaria la inhibición de la adenilato ciclasa (Parker et al. 1991), en tanto que los M1, M3 y M5 lo están a proteínas G de la clase Gq/G₁₁ insensibles a dicha toxina y cuyo mecanismo de transducción es la hidrólisis de fosfatos de inositol (Smrcka et al. 1991; Berstein et al. 1992). Los estudios electrofisiológicos han demostrado que la activación de los receptores muscarínicos resulta en una despolarización lenta de la membrana celular, debida a la reducción en tres corrientes de K⁺ distintas: la corriente M dependiente de voltaje (Halliwell y Adams 1982), una corriente de K⁺

dependiente de Ca^{++} (Cole y Nicoll 1983) y una corriente de K^+ de la membrana en reposo (Madison et al. 1987).

Los receptores nicotínicos cerebrales han recibido menos atención, sin embargo, la búsqueda de su papel fisiológico en el SNC se inició prácticamente desde su descubrimiento. Se asumió inicialmente que, al igual que en la unión neuromuscular, los receptores nicotínicos podrían mediar respuestas sinápticas rápidas en el cerebro. Sin embargo, las evidencias recientes les atribuyen una función moduladora sobre la liberación de otros neurotransmisores (Balofour 1982; Chesselet 1984; Clarke y Reuben 1996). Esto no descarta la posibilidad de que participen en la transmisión colinérgica a nivel postsináptico, pero los intentos de localizar tal sinapsis han sido infructuosos (Colquhoun y Patrick 1997). Al igual que los receptores muscarínicos, se han identificado subtipos estructural y funcionalmente distintos. Esta diversidad está dada principalmente por la heterogeneidad que muestran las secuencias de aminoácidos que conforman las subunidades alfa y beta (Sergent 1993; Karlin y Akabas 1995). Se han identificado a nivel molecular genes que codifican para ocho subunidades alfa ($\alpha 2$ - $\alpha 9$) y tres beta ($\beta 2$ - $\beta 4$), lo cual abre la posibilidad de una variedad de combinaciones. Las subunidades alfa contienen el sitio de unión al ligando, mientras que las beta son subunidades estructurales que contribuyen a la función del receptor (Boyd 1997). Las combinaciones de subunidades alfa y beta producen receptores con propiedades de conductancia iónica distintas cuando se expresan en sistemas *in vitro*, pero en ningún caso mimetizan exactamente aquellas de los receptores nativos (Colquhoun y Patrick 1997). Utilizando herramientas farmacológicas se han identificado algunas subunidades de los receptores nativos; por ejemplo, la alfa-bungarotoxina identifica las subunidades alfa -7, alfa-8 y alfa-9. La activación del receptor por citicina indica la presencia de subunidades alfa-7 o beta-4, y el bloqueo con bungarotoxina neuronal identifica la subunidad beta-2. Los receptores nicotínicos neuronales se localizan en el botón presináptico, en el axón y en el soma (Clarke 1987; Woolf 1991). La función de aquellos localizados en el axón es, presumiblemente, modificar la liberación de otros neurotransmisores, empero, en ninguna de las regiones donde se ha descrito este fenómeno se han encontrado contactos axo-axónicos. Los receptores nicotínicos neuronales son altamente permeables al calcio a diferencia de los musculares, por lo que tal vez tengan implicaciones importantes en fenómenos de desarrollo y plasticidad (Seguela et al. 1993).

La limitación para realizar estudios detallados sobre el papel fisiológico de los distintos receptores muscarínicos en el aprendizaje fue en un principio, la carencia de compuestos que se les

unieran selectivamente, ya sean agonistas o antagonistas. No obstante, la gran mayoría de las investigaciones continúan describiendo los efectos de las drogas inespecíficas a pesar del desarrollo de fármacos con actividad específica para los subtipos M1 a M4. Así, se ha reportado que los antagonistas colinérgicos muscarínicos, tales como la atropina y la escopolamina, interfieren con la adquisición y consolidación de una gran variedad de tareas de aprendizaje en diversas especies, cuando se administran antes o después del entrenamiento (Ridley et al. 1984; Prado-Alcalá 1985, 1993; Collerton 1986; Spangler et al. 1990; Salvatierra y Berry 1989; Aigner et al. 1991; Vanderwolf 1991; Mohamed 1993; Hasselmo y Bower 1993; Kelly y Malanowsky 1993; Gallagher y Colombo 1995; Lawrence y Sahakian 1995; Castellano et al. 1996; Lévy et al. 1997; Everitt y Robbins 1997). Recientemente, se ha analizado el papel de los receptores tipo M1 y M2 en diversas formas de aprendizaje, encontrándose que los antagonistas del receptor M1 bloquean esta función (Caufield et al. 1983; Hagan et al. 1987; Hunter y Roberts 1988; Messer et al. 1987, 1990; Ohno et al. 1994; Roldán et al. 1997), en tanto que los del M2 la facilitan (Packard et al. 1990; Baratti et al. 1993; Quirion et al. 1995); se ignora por completo la participación de los demás subtipos de receptores muscarínicos. Los fármacos nicotínicos se han estudiado menos, pero el perfil de sus efectos es muy parecido y aparentemente, sinergista al de los muscarínicos (Levin et al. 1987; Levin 1992; Terry et al. 1993; Decker et al. 1994; Sahakian y Coull 1994; Piccioto et al. 1995). En el sentido opuesto, los tratamientos con colinomiméticos como nicotina, arecolina, oxotremorina y otros (Sitaram et al. 1978; Flood et al. 1983, 1985; Prado-Alcalá et al. 1984; Heise 1987; Sweeny et al. 1990; Sahakian y Coull 1994), la inducción de la síntesis y liberación del transmisor con cargas de colina o con agonistas del receptor a galanina (Sitaram et al. 1978; Solana-Figueroa y Prado Alcalá 1990; Crawley 1993; Díaz del Guante et al. 1993; Ogren et al. 1993), o la inhibición de su catabolismo con inhibidores de la acetilcolinesterasa, tales como la fisostigmina, la tacrina y el desisopropil-fluorofosfato, facilitan el aprendizaje y la formación de la memoria en una gran cantidad de tareas apetitiva o aversivamente motivadas (Deutsch 1970; Jekala et al. 1993; Sahakian et al. 1993; Flood et al. 1983, 1985; Heise 1987). Igualmente, el bloqueo de los autoreceptores colinérgicos (subtipo muscarínico M2), que regulan inhibitoriamente la liberación de ACh, produce dicho efecto (Packard et al. 1990; Baratti et al. 1993; Quirion et al. 1995). Otra estrategia utilizada en esta área de investigación es la lesión restringida de núcleos y tractos colinérgicos mediante la destrucción específica de estructuras como el núcleo basal de Meynert y el núcleo tegmental del pedunculopontino (Debois et al. 1985; Murray y Fibiger 1985; Smith 1988; Dunnett et al. 1987;

Steckler et al. 1994), o la administración de colinotoxinas relativamente específicas como el ácido iboténico, el ácido kaínico, el ácido aminohidroximetilpropiónico (AMPA) y el AF-64A. Estas lesiones dan como resultado severos cuadros amnésicos (Jerrad et al. 1984; Walsh et al. 1984; Ridley et al. 1985; Baley et al. 1986; Dunnett et al. 1987, 1991; Smith 1988), pero su selectividad colinérgica es controvertida (Everitt y Robbins 1997). Finalmente, algunas de las deficiencias sobre el aprendizaje y la memoria debidas a lesiones pueden revertirse mediante transplantes de neuronas colinérgicas (López-García et al. 1990; Bermúdez-Rattoni et al. 1995) o fibroblastos genéticamente transformados para sintetizar acetilcolina (Fisher et al. 1991, 1993; Winkler et al. 1995).

1.5 PAPEL DEL NEOESTRIADO EN LOS PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA

El circuito neuronal que conforman los ganglios basales, donde el cuerpo estriado (CE) tiene una función primordial como integrador (Albin et al. 1989; Parent y Hazrati 1993; Iversen 1994), ha sido involucrado clásicamente en el control y planeación del movimiento y considerado durante largo tiempo como parte del sistema motor extrapiramidal (Mettler 1942; Meyers 1952; DeLong y Georgopoulos 1981; Groves 1983; Cote y Crutcher, 1985; Alexander et al. 1986; Graybiel 1990). Sin embargo, estos núcleos subcorticales participan de manera importante en otros procesos integrativos como la atención y el aprendizaje, mediante diferentes circuitos que involucran a la corteza cerebral (Divac et al 1967; Goldman et al. 1971; Fuster y Alexander 1973; Fuster 1981; Isseroff et al. 1982; Goldman-Rakic y Selemon 1990; Chorbak et al. 1991). El CE en la rata se puede dividir en dos partes, basándose en sus aferencias y eferencias específicas: la porción dorsal o neostriado (que corresponde en el humano al complejo caudado-putamen), y la porción ventral que abarca la parte ventromedial del neostriado, el núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio (Heimer et al. 1982; Smith y Bolam 1990; Parent y Harzati 1993). Cada una de estas regiones está caracterizada por un patrón propio de fibras aferentes y eferentes. La inervación principal del estriado dorsal proviene de toda la neocorteza, las cortezas sensoriomotoras y áreas asociativas corticales (Vrijmoed-De Vries et al 1985; Graybiel y Ragsdale 1979). Estas proyecciones son glutamatérgicas y por lo tanto, excitadoras (Walaas 1981; Fonnum et al. 1981). Esta porción del estriado recibe también una importante inervación dopaminérgica del grupo celular conocido como A9 (Ungerstedt 1971) de la parte compacta de la sustancia nigra. Por último, se han descrito aferencias provenientes de los núcleos intralaminares talámicos (Veening et al. 1980) y de regiones límbicas (Heimer et al. 1982; Alexander

y Crutcher 1990). Las eferencias del estriado dorsal se dirigen hacia el globo pálido y la sustancia nigra *pars reticulata*, de una manera altamente ordenada (Parent 1986; Alexander y Crutcher 1990); dentro de la sustancia negra aparentemente terminan tanto proyecciones dopaminérgicas como GABAérgicas (Grefen et al. 1987). Por su parte, el estriado ventral (en particular el núcleo accumbens) recibe aferencias dopaminérgicas provenientes principalmente del área ventral tegmental mesencefálica (grupo celular A10, Ungerstedt 1971) que ascienden por el haz medial del cerebro anterior, y en menor proporción, del grupo celular A9 (Fallon y Moore 1978; Swanson 1982; Vrijmoed-De Vries et al. 1985). El núcleo accumbens contiene terminales nerviosas noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus (Allin et al. 1988; Colls et al. 1991). Además, este núcleo recibe aferentes de varias estructuras corticales y subcorticales (Phillipson y Griffiths 1985; Groenenwegen et al 1991; Schell-Kruger y Willner 1991). La aferencia subcortical más importante es de la formación hipocámpica, en particular del área subicular y la región CA1, a través de la fimbria y el fórnix precomisural (Groenenwegen et al 1987; Kelly y Domestick 1982); asimismo, este núcleo recibe proyecciones de las cortezas prefrontal y entorrinal, y de núcleos talámicos de la línea media; estas aferencias son, al parecer, glutamatérgicas y aspartatérgicas (Walaas 1981; Yang y Mogenson 1985; Yim y Mogenson 1986). Las eferencias del núcleo accumbens proyectan hacia regiones motoras, como el globo pálido, el núcleo entopeduncular y la formación reticular mesencefálica; a su vez, el pálido ventral proyecta, vía el núcleo subtalámico, hacia el tálamo y de allí a distintas regiones (frontales) de la corteza. Estas conexiones representan circuitos en paralelo córtico-estriato-tálamo-corticales (Albin et al. 1989; Grefen 1989; Groenenwegen et al 1991; Schell-Kruger y Willner 1991). Finalmente, algunas proyecciones del núcleo accumbens se dirigen hacia regiones límbicas, como el séptum, la amígdala y el núcleo de la estría terminalis (Yim y Mogenson 1989; Heimer et al 1991).

Existen numerosas evidencias experimentales y clínicas de la participación del cuerpo estriado en las funciones mnémicas. En el humano, el sistema estriatal ha sido implicado sobre todo en la memoria implícita o de procedimiento (Mishkin et al. 1987; Phillips y Carr 1987; Knowlton et al. 1996), en contraste con la memoria declarativa o explícita que aparentemente se sustenta en regiones límbicas y los lóbulos frontal y temporal de la corteza (Squire, 1986, 1992; Knowlton et al. 1996). Sin embargo, la valoración detenida de las deficiencias de memoria en pacientes con daño de los ganglios basales (e.g., Parkinsónicos) ha mostrado que esta distinción es insuficiente, ya que dichos pacientes también muestran defectos en la memoria declarativa (Buytenhuijs et al. 1994). Las aproximaciones iniciales sobre el papel del estriado en la memoria usando modelos animales, se

realizaron a través de la estimulación eléctrica y la ablación permanente o transitoria (mediante la inactivación temporal por KCl) de esta estructura. En estos estudios se observó que dichas manipulaciones provocaban un efecto amnésico en tareas como la prevención pasiva y el condicionamiento motor (Chorover y Gross 1963; Wyres et al 1968; Wyres y Deadwyler 1971; Prado-Alcalá et al. 1973, 1975; Prado-Alcalá y Cobos-Zapíaín 1979; Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá 1989). Posteriormente, se estudió la participación de distintos neurotransmisores en el CE y su relación con las funciones cognitivas, entre ellos, la dopamina y la acetilcolina. La estimulación dopaminérgica estriatal facilita la consolidación y evocación de la memoria (Carr y White 1983, 1984; Quartermain et al. 1988a, 1988b, Packard y White 1991; Kelly y Delfs 1991; Ploeger et al. 1992) y tiene efectos similares (aunque menos consistentes) sobre varias formas de condicionamiento instrumental (Beninger 1983; Blackburn et al. 1992; Salamone 1992). La interpretación de estos resultados ha sido controvertida, pues se sabe que la inervación dopaminérgica a este nivel tiene una estrecha relación con los aspectos motivacionales implicados en las conductas de búsqueda de recompensas (autorreforzamiento) y el reforzamiento positivo condicionado (White y Milner 1992). La actividad catecolaminérgica estriatal parece ser necesaria para la adquisición y consolidación de la memoria espacial, ya que la lesión inducida por 6-hidroxidopamina bloquea el aprendizaje de tareas como el laberinto acuático de Morris y el laberinto radial (Whirshaw y Dunnett 1985; Decker y Gallager 1987; Taghzouti et al. 1987; McGruk et al. 1989; Packard y White 1990; Scheel-Kruger y Willner 1990; Vanderwolf y Baker 1996). Por otro lado, la manipulación farmacológica del sistema colinérgico en el CE induce alteraciones profundas en muchos tipos de aprendizaje. Básicamente, se han encontrado los mismos efectos que los provocados por la estimulación o inhibición sistémica, es decir, los tratamientos intraestriatales con agonistas muscarínicos facilitan la adquisición y consolidación de la memoria, en tanto que la aplicación de antagonistas provocan amnesia anterógrada y retrógrada. Así, desde la década de los 70, se observó que la microinyección intraestriatal de bloqueadores como la atropina y la escopolamina impedía el aprendizaje de conductas reforzadas negativamente (Neill y Grossman 1970; Prado-Alcalá et al. 1972, 1980; Haycock et al. 1973; Prado-Alcalá y Cobos-Zapíaín 1977) o positivamente (Prado-Alcalá et al. 1978). Datos más recientes han confirmado y extendido dichos resultados (Sandberg et al. 1984; Prado-Alcalá 1985; Bermúdez-Rattoni et al. 1986; Giordano y Prado-Alcalá 1986; Díaz del Guante et al 1993; Prado-Alcalá et al. 1993). Algunos estudios aislados han aportado evidencias sobre la relación que existe entre otros mensajeros químicos del estriado y la elaboración de la memoria, entre

ellos, la noradrenalina (Whirshaw y Dunnett 1985; Decker y Gallager 1987; Vanderwolf y Baker 1996), y la angiotensina (Morgan y Rutenberg 1977), pero, curiosamente, poco se sabe sobre la transmisión glutamatérgica y GABAérgica, a pesar de ser neurotransmisores fundamentales en el funcionamiento de este núcleo: la activación de los receptores tipo MNDA es necesaria para que se lleve a cabo el proceso conocido como depresión a largo plazo en el estriado, el cual, se postula, es un fenómeno básico en la plasticidad neural y el aprendizaje (Calabresi et al. 1996; Lovinger y Tyler 1996). Por último, el bloqueo de los receptores tipo GABA_A por bicuculina o picrotoxina, produce distintos grados de amnesia retrógrada, dependiendo de la región de CE en que se inyecten (Chavez et al. 1995; Salado-Castillo 1996).

1.6 EL FENÓMENO DE EXTINCIÓN

Como se apuntó en la sección 1.3, cuando el EC es apareado con el EI o una respuesta instrumental con el reforzador, se incrementa la probabilidad de aparición de la RC o la respuesta instrumental. En estas condiciones, la omisión del EI o del reforzador, resulta en un decremento progresivo de la ejecución de dichas respuestas, fenómeno conocido como extinción. El que una respuesta aprendida vaya declinando cuando el reforzador se omite es un hecho tan natural al sentido común que cuesta trabajo imaginar por qué ha propiciado una investigación tan nutrida en el campo de la psicología experimental. Una razón posible es que ninguna de las teorías clásicas del aprendizaje, ha sido suficiente para explicar este fenómeno completamente. De hecho, es increíble la complejidad de los argumentos e interpretaciones (la mayor parte de ellos poco convincentes) a los que ha llevado el estudio de la extinción, debido a la resistencia por abandonar los paradigmas dogmáticos de las escuelas dominantes en psicología. No es mi intención recapitular aquí todas estas teorías, por lo que abordaré las más importantes sólo lo suficiente para entenderlas y confrontarlas desde una perspectiva neurobiológica. Los orígenes del estudio de la extinción se pueden establecer en las aportaciones de Ivan Petrovich Pavlov (1927), quien la describió y caracterizó, sugiriendo que este proceso no involucra un “desaprendizaje” de la asociación entre el EC y el EI, sino la formación de un nuevo aprendizaje. Esta tesis, sin embargo, no explica la parte medular del fenómeno, que es el por qué los animales dejan de ejecutar la tarea aprendida. Posteriormente, emergieron dos posturas divergentes defendidas en distintas épocas por connotados investigadores, las cuales se oponen básicamente, en que una interpreta a la extinción como la simple pérdida del engrama de memoria

(Thondike, 1911; Deutsch 1953), mientras que la otra supone que existen mecanismos que bloquean la expresión de ésta a través de procesos activos como la “inhibición condicionada”, la “interferencia” o la “frustración”, pero no borran el engrama original. En realidad esta última postura no repara en el destino de la memoria, sino que simplemente infiere que ésta no desaparece por no poder explicar el fenómeno de recuperación espontánea (la expresión de la conducta después de extinguida, ver 1.3); el razonamiento es elemental: ¿cómo puede expresarse una conducta aprendida cuya memoria ya no existe?

La inhibición es en sentido histórico, la principal hipótesis sobre la extinción, ya que este proceso se encuentran en el núcleo del condicionamiento pavloviano. La teoría de la extinción de Pavlov sostiene que ésta responde a una forma de “inhibición interna” que se desarrolla cuando se retira el EI, contrarrestando los efectos excitadores de la aplicación de dicho estímulo. Una forma más completa de esta teoría fue propuesta por Hull (1943) y se conoce como la “inhibición reactiva” y la “inhibición condicionada”. La reactiva, supone, se desarrolla en función del trabajo necesario para producir una respuesta y tiene la propiedad de ser un impulso negativo que lleva al organismo a no responder. Cuando el sujeto se encuentra inactivo durante el intervalo entre una respuesta no reforzada y la siguiente, la inhibición reactiva se disipa y por ello, la reducción de esta inhibición es ahora el estímulo que refuerza al sujeto por no hacer nada, lo cual resulta en un hábito aprendido que se conoce como inhibición condicionada. Entonces, la extinción es el resultado de una inhibición activa de la respuesta aprendida que consta de dos partes: una reactiva, que es temporal y desaparece con el reposo y otra condicionada que es permanente. Esta teoría explicaba relativamente bien la extinción de respuestas apetitivas, y el fenómeno de recuperación espontánea, pero no de respuestas aversivas o la extinción forzada (donde el animal no necesita emitir respuesta alguna). Otra teoría propuesta en 1935 por Guthrie, la teoría de la competencia, postula en pocas palabras, que la extinción se da a causa de la adquisición de otras respuestas que compiten con la original (Guthrie, 1935; Estes 1950). Así, el que un animal deje de responder al quitar el reforzador, se debe a que se ha formado una nueva asociación entre no responder y los estímulos presentes en la nueva situación, eso implica que el sujeto aprende una conducta que compite con la que se reforzó inicialmente y obstaculiza su ejecución. Esta teoría tiene elementos interesantes, como el suponer que el condicionamiento y la extinción son simplemente aspectos distintos de una misma cosa: ambos son aprendizajes que se dan por un proceso asociativo entre estímulos y respuestas particulares. Existen, empero, fenómenos que no puede explicar, como la llamada extinción latente (que no es más que una

forma de extinción forzada) y el ahorro del aprendizaje (efecto que consiste en que se requieran menos ensayos para volver a condicionar a un sujeto en la misma tarea que se extinguió). Otra teoría más reciente es la de la frustración, posteriormente refinada como la de competencia-frustración (Lambert y Salomon 1952). Ésta se basó en la observación de que los animales sometidos a extinción presentan conductas muy “emocionales”, como agitación, respuestas exageradamente fuertes, hiperactividad y agresividad, lo cual hizo suponer que la extinción induce cierto grado de frustración, que funciona como un fuerte componente motivacional e induce un contracondicionamiento hacia los estímulos que provocan dicha frustración (Spence, 1956; Amsel y Hancock 1957; Amsel 1962). Esta hipótesis sirvió como referencia durante varias décadas y fue usada en la psicología clínica, sin embargo, es la teoría más antropocéntrica de la extinción y requiere de una gran cantidad de suposiciones para ajustarse a los datos experimentales. La principal y más obvia crítica, es que no puede explicar la extinción de reflejos condicionados ni de aprendizajes aversivos; es ilógico suponer que un animal se “frustre” al no recibir más un choque eléctrico. Por último, la teoría de la “generalización”, postulada por Capaldi (1967) arguye que el solo hecho de omitir el reforzador representa un cambio en la situación original de estimulación durante el aprendizaje que afecta al sujeto: si el reforzamiento se suspende durante la extinción, la respuesta disminuirá porque no se estableció bajo estas condiciones, atribuyendo este efecto a un decremento por generalización, es decir, el sujeto identifica (igual) la nueva condición experimental con la anterior y deja de responder ante ambas.

Es innegable el esfuerzo de introspección teórica y el ingenio metodológico de estos investigadores para tratar de erigir una teoría general de la extinción, pero sus limitaciones son patentes; además dejan sin respuesta una pregunta fundamental ¿que sucede con la memoria de la conducta original? Las teorías de la inhibición sugieren que dicha memoria no se desvanece simplemente (el fenómeno de desinhibición es una buena muestra de ello). Tampoco la teoría de la competencia-frustración responde directamente a esta pregunta. Otras hipótesis del mismo talante pueden enumerarse, pero no lo considero necesario, pues son meras réplicas de las anteriores.

En realidad, todas las teorías descritas arriba tratan de explicar los fenómenos “mentales o psíquicos” -que no cerebrales- subyacentes a la extinción, basándose en una interpretación subjetiva (e.g. la frustración) de la *observación conductual*. Nuevamente, la “caja negra” no se investiga, sino que simplemente se infiere lo que sucede en ella, lo que necesariamente conlleva a utilizar una terminología carente de sentido en neurobiología; ¿qué significado fisiológico tiene la inhibición

reactiva, la competencia o la interferencia? ¿cuál es el correlato anatomofuncional de la frustración o la generalización? Evidentemente, una explicación de ese tipo poco o nada aporta al entendimiento de los mecanismos cerebrales de la extinción y, consecuentemente, las investigaciones sustentadas en semejante postura han perdido vigencia y proyección futura. No obstante, esta gran cantidad de trabajo no puede desecharse a la ligera, pues si bien no ha sido capaz de explicar el fenómeno, ha contribuido en buena medida a caracterizarlo desde el punto de vista conductual, describiendo y analizando, a veces con lujo de detalle, las condiciones de estimulación que influyen sobre el decremento de la respuesta cuando se deja de reforzar. Gracias a estos estudios contamos con una buena cantidad de datos, modelos experimentales y fenómenos conductuales en espera de ser estudiados a la luz de la neurofisiología. Igualmente, esta línea de investigación nos ha permitido reformular las preguntas y, utilizando sus propios resultados, dar respuestas de carácter más general. Así, a partir de los trabajos puramente conductuales sabemos que la extinción de respuestas instrumentales depende de distintos factores, por ejemplo: la tasa de disminución de la respuesta es distinta cuando el condicionamiento es aversivo (por reforzadores negativos) que cuando es apetitivo (por reforzadores positivos) y, de hecho, en este último caso, la tasa de respuestas se incrementa justo después de retirado el estímulo para luego disminuir exponencialmente. Asimismo, una conducta que ha sido reforzada continuamente o a intervalos constantes es menos resistente a la extinción que una reforzada a intervalos variables o en la que se retarda el reforzador; igualmente, las conductas que requieren mayor esfuerzo para ser reforzadas extinguen con mayor rapidez, así como las conductas que han sido reforzadas mezquinamente (la cantidad y calidad del reforzador es proporcional a la tasa de extinción). Por último, las respuestas sobreentrenadas o sobrerforzadas son muy resistentes a extinguirse.

Mientras que las investigaciones sobre la extinción nunca cesaron dentro de la corriente experimentalista de la psicología, la investigación neurobiológica, aunque muy abundante en torno a los procesos de adquisición y consolidación de la memoria, ha sido escasa en relación a este fenómeno. Es más, algunos de los primeros trabajos neurofisiológicos que se realizaron en esta área parecen haber olvidado las aportaciones de sus colegas psicólogos, de tal modo que sólo dieron importancia a la extinción como una herramienta para evaluar la consolidación de la memoria (Ambrogi-Lorenzini et al. 1993), basándose en el postulado erróneo de que *cualquier manipulación experimental que retarde la extinción facilita la consolidación de la memoria*. Si bien es cierto que la pendiente de extinción de una respuesta tiene una relación inversa con su grado de consolidación,

esto es, las memorias bien consolidadas son más difíciles de extinguir -y, por cierto, de olvidar (recuérdese aquí el viejo adagio “lo que bien se aprende nunca se olvida”)- también es cierto que la extinción no representa un proceso de olvido, sino un nuevo aprendizaje cuya característica más sobresaliente es que se opone al original, es decir, la expresión conductual de ambos es excluyente. Por lo tanto, este postulado es correcto si, y sólo si, la manipulación que provoca el retardo de la extinción se realiza antes de que se inicie ésta (de que se retire el reforzador). Por el contrario, si la manipulación se realiza durante el desarrollo de la extinción, la posibilidad de que ésta afecte la adquisición de la nueva respuesta queda abierta, y la conclusión lógica sería que el retardo de la extinción se debe a un efecto amnésico sobre el aprendizaje del nuevo hábito. Justamente lo opuesto¹.

Como he dicho, las aproximaciones neurofisiológicas al proceso de extinción han sido mucho más modestas. Los primeros estudios sistemáticos sobre los mecanismos neurales de la extinción podrían situarse en la década de los 60. David De Wied y colaboradores inicialmente demostraron que el tratamiento con un extracto hipofisiario semicrudo denominado pitresina, antes y durante la extinción, resultaba en el mantenimiento de una respuesta de prevención pasiva por largos periodos de tiempo, o sea, retardaba la extinción de esta respuesta (De Wied y Bohus 1966). Posteriormente, él y su grupo demostraron que las sustancias activas que provocaban tal efecto eran la arginina-vasopresina y algunos de sus fragmentos sustituidos (De Wied 1971, 1976; De Wied et al. 1974). Siguiendo con esta línea de investigación, observaron que otros péptidos hipofisarios como la α -MSH y la ACTH, ejercían acciones similares (De Wied 1966, Bohus 1968), mientras que la oxitocina y algunos glucocorticoides inducían las contrarias, es decir aceleraban la extinción (De Wied 1967; Bohus y Lissak 1968). La resistencia a la extinción debida a la ACTH y la vasopresina parecía estar mediada por el sistema opioide (De Vito y Brush 1984). Paradójicamente, todos estos estudios y muchos más publicados por este productivo grupo y sus seguidores, centraron sus conclusiones en el papel de las hormonas hipofisarias en el aprendizaje; en realidad, no se argumentó una palabra respecto a la extinción, ya que ésta solo se usó como indicador del grado de consolidación de la memoria. Por lo tanto, aquellas manipulaciones farmacológicas que retardaban la extinción se pensaban como facilitadoras del aprendizaje y viceversa. Desafortunadamente, nunca se tuvo en cuenta el momento en que se aplicaron los tratamientos y por ello muchos de estos resultados son contradictorios si consideramos que pudieron afectar la adquisición del nuevo aprendizaje. Más tarde, otros reportes mostraron que algunos de estos péptidos, como la ACTH, inducían la recuperación de la respuesta una vez extinguida, concluyendo que la liberación de dichas sustancias durante el

aprendizaje, forma parte de la huella de memoria y, por ello, al aplicarlas exógenamente después de la extinción sirven como un estímulo que facilita la evocación de la respuesta original (Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987). Esta hipótesis parece acertada, pero, nuevamente, no nos dice nada respecto a la extinción. Tan extendida ha sido la idea de equiparar a la extinción con el olvido, que en algunos reportes aislados se le ha utilizado para evaluar la amnesia (Kovalyov et al. 1991). A partir de la década actual, parece haberse recordado lo que siempre se supo: la extinción no es olvido y por ello debe estudiarse como un proceso aparte. Así, recientemente, diversos reportes han puesto de manifiesto que las mismas manipulaciones que inhiben el aprendizaje de una tarea determinada, también bloquean su extinción (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996; Swank et al. 1996) y en algunos casos, parecen estar involucradas las mismas estructuras cerebrales (Falls et al. 1992; McCaughey et al. 1997).

¹ En psicofisiología estamos acostumbrados a pensar que si se observa una conducta es porque existe la maquinaria neural que permite ejecutarla. Por extensión, cuando se manifiesta una respuesta aprendida, suponemos que dicha maquinaria se ha modificado formando una memoria específica que posibilita su expresión; por lo tanto, si desaparece la respuesta, sea por efecto de un fármaco amnésico, o por cualquier otra manipulación, inferimos que se han bloqueado los mecanismos cerebrales que la gobiernan. En este sentido, el término *extinción* resulta desafortunado para quienes trabajamos en este campo, dado que las modificaciones plásticas en el SNC que codifican un patrón motor aprendido pueden permanecer relativamente intactas a pesar de que la respuesta no se manifieste ante los estímulos adecuados en que debería hacerlo. Así, el término extinción se refiere estrictamente a la conducta. En lenguaje fisiológico, la extinción de la memoria no tiene un significado claro y en todo caso se referiría al olvido.

REFERENCIAS

1. Aigner TG, Mitchell SJ, Aggelton JP, De Long MR, Struble RG (1991) Transient impairment of recognition memory following ibotenic acid lesions of the basal forebrain in macaques. *Brain Res*, 86: 18-26
2. Albin R, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *TINS*, 12: 366-375
3. Alexander GE, Clutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *TINS*, 13: 266-271
4. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Ann Rev Neurosci*, 9: 357-381
5. Allin R, Ressel VA, Lamm MCL, Taljard JJ (1988) regional distribution of monoamines in the nucleus accumbens of the rat. *Neurochem Res*, 13: 937-942
6. Ambrogi-Lorenzini C, Baldi E, Bucherelli C, Tassoni G (1993) Forced extinction as a means to evaluate consolidation gradient of passive avoidance response in the rat. *Physiol Behav*, 53: 873-877
7. Amsel A (1962) Frustrative nonreward in partial reinforcement and discrimination learning: some recent history and theoretical extension. *Psychol Rev*, 69: 306-328
8. Amsel A, Hancock W (1957) Motivational properties of frustration: III. Relation of frustration effect to antedating goal factors. *J Exp Psychol*, 53: 126-131
9. Anderson RW (1995) Learning and evolution: a quantitative general approach. *J Theor Biol*, 175: 89-101
10. Annable A, Wearden JH (1979) Grooming movements as operants in the rat. *J Exp Psycho, Anim Behav Proc*, 32: 297-304
11. Aristóteles (1992) Investigación sobre los animales. Partes internas del cuerpo humano. *Obras Completas*, Libro 1, pp 70-77
12. Baker JD, Azorlosa JL (1996) The NMDA antagonist MK-801 blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 110: 618-620
13. Baley E, Overstreet D, Cocker A (1986) Effects of intrahippocampal injection of the cholinergic neurotoxin AF64A on open-field activity and avoidance learning in the rat. *Behav Neural Biol*, 45: 263-274
14. Balofour DJK (1982) The effect of nicotine on brain neurotransmitter systems. *Biochem Pharmacol*, 16: 269-282
15. Baratti CM, Opezzo JW, Kopf SR (1993) Facilitation of memory storage by the acetylcholine M2 muscarinic receptor antagonist AF-DX 116. *Behav Neural Biol*, 60: 69-74

16. Barlow RB, Berry KJ, Glenton P, Nikolau NM, Soh S (1976) A comparison of affinity constants for muscarinic-sensitive acetylcholine receptors in guinea pig atrial pacemaker cells at 29°C and in ileum at 29°C and 37°C. *Br J Pharmacol*, 58: 613-620
17. Bartus RT, Dean RL, Pontecorvo MJ, Flicker C (1985) The cholinergic hypothesis: A historical overview, current perspectives, and future directions. *Ann NY Acad Sci*, 44: 332-358
18. Bechterev VM (1909) Die objektive untersuchung der neuropsychischen sphäre der geisteskranken. *Z Psychither Med Psychol*, 1: 257-290
19. Beninger RJ (1983) The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res Rev*, 6: 173-196
20. Bermúdez-Rattoni F, Mújica González M, Prado-Alcalá RA (1986) Is cholinergic activity of the striatum involved in acquisition of positively-motivated behaviors? *Pharmacol biochem Behav*, 24: 715-719
21. Bermúdez-Rattoni F, Ormsby CE, Escobar ML, Hernández-Echagaray E (1995) The role of the insular cortex in the acquisition and long lasting memory for aversively motivated behaviors. En: *Plasticity in the central nervous system. Learning and memory*, McGaugh JL, Bermúdez-Rattoni F, Prado-Alcalá RA (Eds.), Lawrence Erlbaum Ass, Mahwah, NJ
22. Berstein Blank JL, Smrcka AV, Higashijima T, Sternweis PC, Exton JH, Ross EM (1992) Reconstitution of agonist stimulated phosphatidylinositol 4,5-biphosphate hydrolysis using purified m1 muscarinic receptor Gq/11 and phospholipase C-beta 1. *J Biol Chem*, 267: 8081-8088
23. Beverly R (1855) *History of Virginia*, Richmond, 110, citado en Macht, 1924.
24. Blackburn JR, Pfaus JG, Phillips AG (1992) Dopamine functions in appetitive and defensive behaviours. *Prog Neurobiol*, 39: 247-279
25. Blackburn JR, Pfaus JG, Phillips AG (1992) Dopamine functions in appetitive and defensive behaviours. *Prog neurobiol*, 39: 247-279
26. Boakes R (1984) *From Darwin to Behaviorism. Psychology and the Minds of Animals*. Cambridge University Press, Cambridge
27. Bohus B (1968) Pituitary ACTH release and avoidance behavior of rats with cortisol implants in mesencephalic reticular formation and median eminence. *Neuroendocrinol*, 3: 355-365
28. Bohus B, Lissák K (1968) Adrenocortical hormones and avoidance behaviour in rats *Int J Neuropharmacol*, 7: 301-306
29. Bolles RC (1970) Species-specific defene reactions and avoidance learning. *Psychol. Rev.*, 77: 32-48
30. Bonner TI, Buckley NJ, Young AC, Brann MR (1987) Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. *Science*, 237: 527-532
31. Boyd RT (1997) The molecular biology of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Crit Rev Toxicol*, 27: 299-318

32. Bridshall NJM, Burgen AS, Hulme EC (1978) The binding of agonists to brain muscarinic receptors. *Mol Pharmacol*, 14: 723-736
33. Brown JH (1989) *Muscarinic Receptors*. Clifton, NJ, Humana
34. Brunelli M, García-Gil M, Mozzachiodi R, Scuri R, Zaccardi ML (1997) Neurobiological principles of learning and memory. *Arch Ital Biol*, 135:15-36
35. Bures J (1995) Reversible lesions reveal hidden stages of learning. En: McGaugh JL, Bermúdez-Rattoni F, Prado-Alcalá RA (Eds) *Plasticity in the Central Nervous System: Learning and Memory*, pp 93-106, Lawrence Erlbaum Associates, Mahwah NJ
36. Bures J, Buresova O, Krivanek J (1989) *Brain and behavior: Paradigms for research in neural mechanisms*. John Wiley & Sons, London
37. Buytenhuijs EL, Berger HJC, Van Speandock KP, Horstink MW, Borm GF, Cools AR (1994) Memory and learning strategies in patients with Parkinson's disease. *Neuropsychologia*, 32:335-342
38. Calabresi P, Maj R, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1996) Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci*, 12: 4224-4233
39. Capaldi EJA (1967) Sequential hypothesis of instrumental learning. En: Spence KW, Spence JP (Eds.), *The Psychology of learning and Motivation*, Vol 1, pp 67-156. New York, Academic Press
40. Carew TJ, Sahly CL (1986) Invertebrate learning and memory: From behavior to molecules *Ann Rev Neurosci*, 9: 435-87
41. Carr GD, White NM (1983) Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injection. *Life Sci*, 33: 2551-2557
42. Carr GD, White NM (1984) The relationship between stereotypy and memory improvement produced by amphetamine. *Psychopharmacol*, 82: 203-209
43. Castellano C, Cabib S, Puglisi-Allegra S (1996) Psychopharmacology of memory modulation: Evidence of multiple interaction among neurotransmitters and hormones. *Behav Brain Res*, 77: 1-21
44. Caufield MP, Higgins GA, Straughan D (1983) Central administration of the muscarinic receptor subtype-selective antagonist pirenzepine selectively impairs passive avoidance learning in the mouse. *J Pharm Pharmacol*, 35: 131-132
45. Chan W, Conger G, Takakusu J, Suzuki DT, Sakamaki Sh. (1944) *Phylosophy- East and West*. Maoore CA (Ed), Princeton Univ Press, NJ
46. Chavez ME, Salado-Castillo R, Sánchez-Alavez M, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1995) Post-training injection of GABAergic antagonists into the striatum produces retrograde amnesia. *Neurobiol Learn Mem*, 63: 296-300
47. Chesselet MF (1984) Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain: Facts and hypothesis. *Neuroscience*, 12: 347-375

48. Chorbak JJ, Napier TC, Hanin I, Walsh TJ (1991) The pharmacology of basal forebrain involvement in cognition. En: *The basal Forebrain: anatomy to function*, Napier TC, Kalivas PW, Hanin I (Eds.) Plenum Press, New York
49. Chorover SL, Gross CG (1963) Caudate nucleus lesions: behavioral effects in the rat. *Science*, 141: 826-827
50. Christensen H, Maltby N, Jorm AF, Creasey H, Broe GA (1992) Cholinergic 'blockade' as a model of the cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Brain*, 115: 1681-1699
51. Clarke PBS (1987) Recent progress in identifying nicotinic cholinergic receptors in mammalian brain. *TIPS*, 8: 32-37
52. Clarke PBS, Reuben M (1996) Release of (3H)Noradrenaline from rat hippocampal synaptosomes by nicotine: Pharmacological comparison with striatal (3H)Dopamine release indicates mediation by different nicotinic receptor subtypes. *Br J Pharmacol*, 117: 595-606
53. Cole AE, Nicoll RA (1983) Acetylcholine mediates a slow synaptic potential in hippocampal pyramidal cells. *Science*, 221: 1299-1301
54. Collerton D (1986) Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 19: 1-28
55. Colls AR, Boss R, Ploeger G, Ellenbroek BA (1991) Gating function of noradrenaline in the ventral striatum: its role in behavioral responses to environmental and pharmacological challenges. En: *the mesolimbic dopamine system: from motivation to action*, Willnes P, Schell-Kruger J (Eds.) John Wiley & Sons Ltd., Chichester 141-173
56. Colquhoun LM, Patrick JW (1997) Pharmacology of neuronal nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Adv Pharmacol*, 39: 191-220
57. Cote L, Crutcher MD (1985) Motor functions of the basal ganglia and diseases of transmitter metabolism. En: *Kandel E, Schwartz HJ (Eds.), Principles of neural Science*, Elsevier, New York
58. Cox J, Westbrook RF (1994) The NMDA receptor antagonist MK-801 blocks acquisition and extinction of conditioned hypoalgesic responses in the rat. *Q J Exp Psychol* 47B 187-210
59. Crawley JN (1993) Functional interactions of galanin and acetylcholine: relevance to memory and Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*, 57: 133-141
60. Csaba G, Németh G, Vargha P (1984) Receptor memory in tetrahymena: Does it satisfy the general criteria of memory? *Exp Cell Bio*, 52: 320-325
61. Darwin CR (1859) *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle of life*, (Edición en español, Planeta-Agostini, Buenos Aires, 1992)
62. Darwin CR (1871) *The descent of man, and selection in relation to sex*. J Murray, London (Reprint, 1981, Princeton University Press)

63. Darwin CR (1872) *The expression of the emotions in man and animals*. Beadnel CM (1934), Watts, London
64. Davies P (1985) A critical review of the role of the cholinergic system in human memory and cognition. En: Olton DS, Gamzu E, Corkin S (Eds), *Memory disfunctions: an integration of animal and human research from preclinical and clinical perspectives*, New York, New York Acad. Sci.
65. De Vito WJ, Brush FR (1984) Effect of ACTH and vasopressin on extinction: Evidence for opiate mediation. *Behav Neurosci*, 98: 59-71
66. De Wied D (1971) Long term effects of vasopressin on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *Nature*, 232: 58-60
67. De Wied D, Bohus B (1966) Long term and short term effect on retention of a conditioned avoidance response in rats by with long acting Pitressin and α -MSH. *Nature*, 212: 1484-1486
68. De Wied D (1966) Inhibitory effect of ACTH and related peptides on extinction of conditioned avoidance behavior in rats. *Proc Soc Exptl Biol Med*, 122: 28-32
69. De Wied D (1967) Opposite effects of ACTH and glucocorticosteroids on extinction of conditioned avoidance behavior. *Excerpta Med Int Congr Ser*, 132: 945-951
70. De Wied D (1976) Behavioral effects of intraventricularly administered vasopressin and vasopressin fragments. *Life Sci*, 19: 685-690
71. De Wied D, Bohus B, Van Wimersma Geridanius TJ (1974) The hypothalamo-neurohypophyseal system and the preservation of conditioned avoidance behavior in rats. *Prog Brain Res*, 41: 417-428
72. Debois B, Mayo W, Agid Y, LeMoal M, Dimon H (1985) Profound disturbances of spontaneous and learned behaviors following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Brain Res*, 338: 249-258
73. Decker MW, Curzon P, Brioni JD, Americ SP (1994) Effects of ABT-418, a novel chanel ligand on place learning in septal-lesioned rats. *Eur J Pharmacol*. 261: 217-222
74. Decker MW, Gallager M (1987) Scopolamine-disruption of radial arm maze performance: modification by noradrenergic depletion. *Brain Res*, 417: 59-69
75. Decker MW, McGaugh JL (1991) The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory systems in learning and memory *Synapse*, 7: 151-168
76. DeLong MR, Georgopoulos AP (1981) Motor functions of the basal ganglia. En: *Handbook of Physiology Sact 1, The nervous system, Vol 2 Motor control*, Broockhart JM, Mouncastle VB (Eds.), Brooks, 1017-1061, Am Physiol Soc, Bethesda
77. Descartes R (1664) *Tratado del Hombre*. Alianza, (1984)
78. Descartes R. (1649) *Las Pasiones del Alma*. Conaculta, (1996)

79. Deutsch JA (1953) A new type of behavior theory. *Br J Psychol*, 44: 307-317
80. Deutsch JA (1971) The cholinergic synapse and the site of memory. *Science*, 174: 788-794
81. Diaz del Guante MA, Carbonel-Hernández C, Quirarte G, Cruz-Morales SA, Rivas-Arancibia S, Prado-Alcalá RA (1993) Intrastratial injection of choline accelerates the acquisition of positively rewarded behaviors. *Brain Res Bull*, 30: 671-675
82. Divac I, Rosvold HE, Szwarcbat MK (1967) Behavioral effects of selective ablation of the caudate nucleus. *J Comp Physiol Psycho*, 63: 184-190
83. Dunnett SB, Whishaw IQ, Jones GH (1987) Behavioral, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into the nucleus basalis magnocellularis of rats. *Neurosci*, 20: 653-669
84. Dunnett SB, Everitt BJ, Robbins TW (1991) The basal forebrain-cortical cholinergic system: interpreting the functional consequences of excitotoxic lesions. *TINS*, 14: 494-500
85. Ebbinghaus H (1885) *Das Gedächtnis: Untersuchungen zur experimentellen Psychologie*. Leipzig, Dunker & Humboldt
86. Eisenstein EM (1997) Selecting a model system for neurobiological studies of learning and memory. *Behav Brain Res*, 82: 121-132
87. Eisenstein EM, Brunder DG, Blair HJ (1982) Habituation and sensitization in a neural cell: some comparative and theoretical considerations. *Neurosci Biobehav Rev*, 6: 183-194
88. Estes KW (1950) Toward a statistical theory of learning. *Psychol Rev*, 57: 94-107
89. Everitt BJ, Robbins TW (1997) Central cholinergic systems and cognition. *Ann Rev Psychol*, 48: 649-684
90. Fallon JH, Moore RY (1978) Catecholamine innervation of the basal forebrain. *J Comp Neurol*, 180: 545-580
91. Falls WA, Miserendino MJD, Davies M (1992) Extinction of fear-potentiated startle: Blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *J Neurosci* 12: 854-863
92. Fibiger HC (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *TINS*, 14: 220-223
93. Fisher LJ, Jinnah HA, Kale LC, Higgins GA, Gage FH (1991) survival and function of intrastratially grafted primary fibroblasts genetically modified to produce L-dopa. *Neuron*, 6: 371-380
94. Fisher LJ, Raymon HK, Gage FH (1993) Cells engineered to produce acetylcholine: therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci*, 695: 278-284
95. Flood JF, Smith GE, Cherkin A (1983) Memory retention: potentiation of cholinergic drug combinations in mice. *Neurobiol Aging* 4: 37-43
96. Flood JF, Smith GE, Cherkin A (1985) Memory enhancement: supra-additive effect of subcutaneous cholinergic drug combinations in mice. *Psychopharmacol* 86: 61-67

97. Fonnum F, Storm-Mathisen J, Divac I (1981) Biochemical evidence for glutamate as neurotransmitter in corticostriatal and corticothalamic fibers in the rat brain. *Neurosci*, 6: 863-873
98. Fuster JM (1981) Prefrontal cortex in motor. En: *Handbook of Physiology Sect 1, The nervous system, Vol 2 Motor control*, Broockhart JM, Mouncastle VB (Eds.), Brooks, 1017-1061, Am Physiol Soc, Bethesda
99. Fuster JM, Alexander GE (1973) Firing changes in cells of the nucleus medialis dorsalis associated with delayed response behavior. *Brain Res*, 61: 79-91
100. Gallagher M, Colombo PJ (1995) Aging: the cholinergic hypothesis of cognitive decline. *Curr Opin Neurobiol*, 5: 161-168
101. García y Robertson R, García J (1987) Darwin was a learning theorist. En: Bolles ER y Beecher MD (Eds) *Evolution and Learning*, pp 17-38, Lawrence Erlbaun Associates, Hillsdale NJ
102. Gerfen CR (1989) The neostriatal mosaic: striatal patch-matrix organization is related to cortical lamination. *Science*, 246: 385-388
103. Gerfen CR, Herkenham M, Thibault J (1987) The neostriatal mosaic: II. Patch and matrix directed mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic systems. *J Neurosci*, 7: 3915-3934
104. Giachetti A, Micheletti R, Montagna E (1986) Cardiosselective profile of AF-DX 116, a muscarinic M₂ receptor antagonist. *Life Sci*, 38: 1663-16672
105. Giordano M, Prado-Alcalá RA (1986) Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of negative reinforcer. *Pharmacol Biochem Behav*, 24: 905-909
106. Gold P Zornetzer S (1983) The mnemon and its juices: Neuromodulation of memory processes. *Behav Neural Biol*, 38: 151-189
107. Goldman PS, Rosvold HE, Vest B, Galkin TW (1971) Analysis of the delayed-alternation deficit produced by dorsolateral prefrontal lesions in the rhesus monkey. *J Comp Physiol Psychol*, 77: 212-220
108. Goldman-Rakic P, Selemon LD (1990) New frontiers in basal ganglia research. *TINS*, 13: 241-244
109. Gomezano I (1984) the study of associative learning with CS-CR paradigms. In: Alkon DL, Farley J (Eds), *Primary Neural Substrates of Learning and Behavioral Change*. Cambridge, Cambridge University Press
110. Gomulicky BR (1953) The development and present status of the trace theory of memory. *Br J Psychol. Monog Suppl* 29.
111. Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *TINS*, 13: 244-254
112. Graybiel AM, Ragsdale CW (1979) Biochemical anatomy of the striatum. En: *Chemical Neuroanatomy*, Emson PC (Ed.) Raven Press, New York, 427-504
113. Groenenwegen Hj, Berendese HW, Meredith GE, Heber SN, Voom P, Wolters JG, Lohman AH Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum (1991) En: *The mesolimbic dopamine*

- system: from motivation to action, Willner P, Scheel-Kruger J (Eds.), Hohn Wiley & sons, Ltd, Chichester, 559-598
114. Groenenwegen HJ, Vermeulen van der Zee E, Tekortschot A, Witter PM (1987) Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Neurosci*, 23: 103-120
115. Groves PM (1983) A theory of the functional organization of the neostriatum and the neostriatal control of voluntary movement. *Brain Res Rev*, 5: 109-132
116. Guthrie ER (1935) *The Psychology of Learning*. New York, Harper
117. Hagan JJ, Jansen JHM, Broekkamp CLE (1987) Blockade of spatial learning by the M1 muscarinic antagonist pirenzepine. *Psychopharmacol*, 93: 470-476
118. Halliwell JV, Adams PR (1982) Voltage-clamp analysis of muscarinic excitation in hippocampal neurones. *Brain Res*, 250: 71-92
119. Hammer R, Berrie CP, Bridshall NJM, Burgen AS, Hulme EC (1980) Pirenzepine distinguishes between subclasses of muscarinic receptors. *Nature*, 283: 90-92
120. Harris JD (1943) Habituated response decrements in the intact organism. *Psychol Bull*, 40: 385-422
121. Hasselmo ME, Bower JM. (1993) Acetylcholine and Memory. *TINS*, 16: 218-222
122. Haycock JW, Deadwyler SA, Sideroff SI, McGaugh JL (1973) Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat. *Exp Neurol*, 41: 201-213
123. Hearst E (1988) Fundamentals of learning and memory. In: Adkinson RC, Hearnstein RJ, Lindzey G, Luce RD (Eds). *Stevens Handbook of Experimental Psychology, Vol 2: Learning and Cognition*, New York, Wiley
124. Hebb DO (1949) *The organization of behavior: a neuropsychological theory*, Wiley New York
125. Heimer L, Switzer RD, Van Hoesen GW (1982) Ventral striatum and ventral pallidum. Components of the motor system? *TINS*, 5: 83-87
126. Heimer L, Zahm DS, Churchill L, Kalivas PW, Wohltmann C (1991) Specificity in the projection pattern of accumbal core and shell in the rat. *Neurosci*, 41: 89-125
127. Heise GA (1987) Facilitation of memory and cognition by drugs. *TIPS*, 8: 65-68
128. Hinton GE, Nowlan SJ (1987) How learning can guide evolution. *Complex Sys*, 1: 495-502
129. Hull CL (1943) *Principles of Behavior*. New York, Appleton-century-Corfts
130. Hulme EC, Bridshall NJM, Buckley NJ (1990) Muscarinic receptor subtypes. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 30: 633-673
131. Hunter AJ, Roberts FF (1988) The effect of pirenzepine on spatial learning in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 30: 519-523

132. Isseroff A, Rosvold HE, Galkin TW, Goldman-Rakic PS (1982) Spatial memory impairments following damage to the mediodorsal nucleus of the thalamus in the rhesus monkey. *Brain Res*, 232: 97-113
133. Iversen SD (1994) Behavioural effects of manipulation of basal ganglia neurotransmitters. En: *Functions of the basal ganglia*. Foundation C, Joel D, Wiener I (Eds.) *Neurosci*, 63: 363-379
134. Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MB, Medina J (1992) Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav Neural Biol*, 58: 16-26
135. Jarrard L, Kent G, Meyerhoff J, Levy A (1984) Behavioral and neurochemical effects of intraventricular administration of AF64A in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 21: 273-280
136. Jekala P, Sirvio J, Riekkinen PJ (1993) The effects of tacrine and zocopride on the performance of adult rats in the working memory task. *Gen Pharmacol*, 24: 675-679
137. Jennings HS (1906) *The behavior of lower organisms*. Columbia University Press, New York
138. Kamin LJ (1957) The gradient of delay of secondary reward in avoidance learning. *J Comp Physiol Psychol*, 50: 445-449
139. Karlin A, Akabas MH (1995) Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron*, 15: 1231-1244
140. Kelly AE, Delfs JM (1991) Dopamine and conditioned reinforcement: I. Differential effects of amphetamine microinjections into striatal subregions. *Psychopharmacol*, 103: 187-196
141. Kelly AE, Domestick VB (1982) The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde and retrograde horse-radish peroxidase study. *Neurosci*, 7: 2321-2335
142. Kelly PH, Malanowsky J (1993) Cholinergic effect on spatial exploration and its memory. *Can J Physiol Pharmacol*, 71: 352-364
143. Kimble GA (1985) *Hilgard y Marquis, Condicionamiento y Aprendizaje*. Biblioteca técnica de psicología, México, Trillas
144. Knowlton BJ, Mangels JA, Squire LR (1996) A neostriatal habit learning system in humans. *Science*, 273: 1399-1402
145. Koshland D (1980) Bacterial chemotaxis in relation to neurobiology. *Ann Rev Neurosci*, 3: 43-75
146. Kovalyov GV, Sazhin VA, Yanitzkaya AV (1991) Effects of N-acetyl-aspartic-acid on memory and learning processes in rats. *Pharmacol Toxicol*, 54: 8-11
147. Kubo T, Bujo H, Akiba I, Nakai J, Mishina M (1988) Location of a region of the muscarinic acetylcholine receptor involved in selective effector coupling. *FEBS Lett*, 241: 119-125
148. Kupfermann I (1991) Learning and memory. In: Kandel E, Schwartz JH, Jessell TM (Eds), *Principles of Neural Science*, New York, Elsevier

149. Lambert WW, Solomon RL (1952) Extinction of a running response as a function of a distance of a block point from the goal. *J Comp Physiol Psychol*, 45: 269-279
150. Lashley RL, Richardson R, Riccio DC (1987) ACTH- and noncontingent footshock-induced recovery of an extinguished passive avoidance response. *Physiol Behav* 40: 677-680
151. Lawrence AD, Sahakian BJ (1995) Alzheimer disease, attention and the cholinergic system. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 9: 43-49
152. Leonovicova V, Novak VJA (1987) Behaviour as one of the main factors of evolution. *Czech Acad Sci, Prague*
153. Levin DE (1992) Nicotinic systems and cognitive function. *Psychopharmacol*, 108: 417-431
154. Levin DE, Castonguay M, Gaylord DE (1987) Effects of nicotine receptor blocker mecamylamine on radial-arm maze performance in rats. *Behav Neural Biol* 48: 206-212
155. Lévy F, Richard Ph, Meurisse M, Ravel N (1997) Scopolamine impairs the ability of parturient ewes to learn to recognize their lambs. *Psychopharmacol*, 129: 85-90
156. Locke J (1690) *Ensayo sobre el entendimiento humano*. Barcelona, Gemika
157. López-García JC, Fernández-Ruiz J, Bermúdez-Rattoni F, Tapia R (1990) Correlation between acetylcholine release and recovery of conditioned taste aversion induced by fetal neocortex grafts. *Brain Res*, 523: 105-110
158. Lorenz K (1981) *The Foundations of Ethology*. New York, Springer-Verlag
159. Lovinger DM, Tyler E (1996) Synaptic transmission and modulation in the striatum. *Int Rev Neurobiol*, 39: 77-111
160. Mackintosh NJ (1974) *The Psychology of Animal Learning*, Cap. 8 Extinction. London, Academic Press
161. Madison DV, Lancaster B, Nicoll RA (1987) Voltage-clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *J Neurosci*, 7: 733-741
162. McCaughey SA, Giza BK, Nolan BJ, Scott TR (1997) Extinction of a conditioned taste aversion in rats: II. Neural effects in the nucleus of the solitary tract. *Physiol Behav*, 61: 373-379
163. McFarland D. *The Oxford companion to animal behaviour*. Oxford Univ. Press, Suffolk, 1987.
164. McGaugh JL (1989) Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Ann Rev Neurosci* 12: 255-287
165. McGruk SR, Levin DE, Butcher LL (1989) Nicotinic dopaminergic relationships and radial arm maze performance in rats. *Behav Neural Biol*, 52: 78-86
166. Messer WS Jr, Bohnett M, Stibbe J (1987) Evidence for a preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neurosci Lett*, 116: 184-189

167. Messer, W.S., Jr., Thomas, G.J. and Hoss, W., Selectivity of pirenzepine in the central nervous system. II. Differential effects of pirenzepine and scopolamine on performance of a representational memory task. *Brain Res.*, 407 (1987) 37-45.
168. Mettler FA (1942) Relation between pyramidal and extrapyramidal functions. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*, 21: 150-227
169. Meyers R (1952) The extrapyramidal system. An inquiry to the validity of the concept. *Neurology*, 2: 627-655
170. Milgram NW, MacLeod CM, Petit TL (1987) *Neuroplasticity, Learning and Memory*. New York, Alan R Liss
171. Mishkin M, Malamut B, Bachevalier J (1987) Memories and habits: two neural systems. En: *Neurobiology of learning and memory*, Lynch G, McGaugh JL, Weinberg NM (Eds.) Guilford press, New York, 65-77
172. Mohamed AH (1993) Effects of cholinesterase inhibitors on learning and memory in rats: a brief review with special reference to THA. *Acta Neurol Scand Suppl* 88:13-25
173. Morgan JM, Rutenber A (1977) Angiotensin injected into the neostriatum after learning disrupts retention performance. *Science*, 196: 87-89
174. Murray C, Fibiger H (1985) Learning and memory deficits after lesions of the nucleus basalis magnocellularis: reversal by physostigmine. *Neuroscience*, 14: 1025-1032
175. Mutschler E, Lambrecht G (1984) Selective muscarinic agonists and antagonists in functional tests. *TIPS*, 5: 39-44
176. Neill DB, Grossman SP (1970) Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of dorsal and ventral caudate of rats. *J Comp Physiol Psychol*, 71: 311-317
177. Nordenskiöld E (1935) *The History of Biology*. Tudor, New York
178. Nottebhom F (1970) Ontogeny of bird song. *Science*, 167: 950-956
179. Nottebhom F (1980) Brain pathways for vocal learning in birds: a review of the first 10 years. *Prog Psychobiol Physiol Psychol* 9: 85-124
180. Ogren SO, Anderson P, Paramanik A (1993) Galanin: potential role in learning and memory *Eur Neuropsychopharmacol*, 3: 195-196
181. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S (1994) Blockade of hippocampal M1 muscarinic receptors impairs working memory performance of rats. *Brain Res*, 650: 260-266
182. Overstreet DH (1984) Behavioral plasticity and the cholinergic system. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiat* 8: 133-151
183. Packard MC, White NM (1990) Lesions of the caudate nucleus selectively impair "reference memory" acquisition in the radial maze. *Behav Neural Biol*, 53: 39-50

184. Packard MG, White NM (1991) Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by post-training intracerebral injection of dopamine agonists. *Behav Neurosci*, 105: 295-306
185. Packard MG, Regenold W, Quirion R, White N. (1990) Post-training injection of the acetylcholine M2 receptor antagonist AF-DX 116 improves memory. *Brain Res*, 524: 599-603
186. Packard MG, Regenold W, Quirion R, White N. (1990) Post-training injection of the acetylcholine M2 receptor antagonist AF-DX 116 improves memory. *Brain Res.*, 524: 599-603
187. Papaj DR (1993) Automatic behavior and the evolution of instinct: lessons from learning in parasitoids. In: Papaj DR, Lewis CA (Eds), *Instinct Learning. Ecological and Evolutionary Perspectives*, New York, Chapman and Hall
188. Parent A (1986) *Comparative Neurology of the Basal Ganglia*. John Wiley & Sons, New York
189. Parent A, Hazrati LN (1993) Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia. *TINS*, 16: 111-116
190. Park K (1988) In *The Cambridge History of Renaissance Philosophy*, Schmitt CB Skinner Q (Eds)
191. Parker EM, Kameyama K, Higashijima T, Ross EM (1991) Reconstitutively active Gprotein-coupled receptors purified from baculovirus-infected insect cells. *J Biol Chem*, 266: 519-127
192. Pavlov IP (1927) *Condicionamiento e Inhibición*. Barcelona, Planeta, 1992
193. Pepeu G (1994) Memory disorders: novel treatments and clinical perspectives. *Life Sci*, 55: 2189-2194
194. Pérez-Ruiz C, Prado-Alcalá RA (1989) Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: Protective effect of negative reinforcer. *Brain Res Bull*, 22: 599-603
195. Phillips AG, Carr GD (1987) Cognition and the basal ganglia: a possible substrate for procedural knowledge. *Can J Neurol Sci*, 14: 381-385
196. Phillipson OT, Griffiths AC (1985) the topographic order of inputs to the nucleus accumbens in the rat. *Neurosci*, 16: 275-296
197. Picciotto MR, Zoli M, Léna C, Bessis A, Lallemand Y, LeNovère N, Vincent P, Pich EM, Brulet P, Changeux JP (1995) Abnormal avoidance learning in mice lacking functional high affinity nicotine receptor in the brain. *Nature*, 374: 65-67
198. Platón (1993) *Diálogos*. Tomo VI, Filepo, Timeo y Critias. Gredos, Madrid
199. Ploeger GE, Willemen APM, Cools AR (1992) Role of the nucleus accumbens in social memory in rats. *Brain Res Bull*, 26: 23-27
200. Prado-Alcalá RA (1985) Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sci* 37 2135-2142
201. Prado-Alcalá RA, Bermúdez-Rattoni F, Velázquez-Martinez DN, Bacha GM (1978) Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci*, 23: 889-896

202. Prado-Alcalá RA, Bermúdez-Rattoni F, Velázquez-Martínez DN, Bacha G (1978) Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alteration performance in rats: Overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci*, 23: 889-896
203. Prado-Alcalá RA, Cepeda G, Verduzco L, Jiménez A, Vargas-Ortega E (1984) Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. *Neurosci Lett* 51: 31-36
204. Prado-Alcalá RA, Cobos-Zapain GG (1977) Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Res*, 138: 190-196
205. Prado-Alcalá RA, Cobos-Zapain GG (1979) Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a moving engram. *Brain Res*, 172: 577-583
206. Prado-Alcalá RA, Fernández-Ruiz J, Quirarte GL (1993) Cholinergic neurons and memory. En: Stone TW (Ed) *Aspects of synaptic transmission 2: Acetylcholine, sigma receptors, CCK and eicosanoids, neurotoxins*. Taylor and Francis Ltd, London, pp 59-71
207. Prado-Alcalá RA, Grinberg J, Arditti ZL, García MM, Prieto HG, Brust-Carmona H (1975) Learning deficits produced by chronic and reversible lesions of the corpus striatum in rats. *Physiol Behav*, 15: 283-287
208. Prado-Alcalá RA, Grinberg-Zilberbaum J, Álvarez-Leefmans J, Brust-Carmona H (1973) Suppression of motor conditioning by the injection of 3M KCl in the caudate nuclei of cats. *Physiol Behav*, 10: 59-64
209. Prado-Alcalá RA, Grinberg-Zilberbaum J, Álvarez-Leefmans FJ, Gómez AG, Singer S, Brust-Carmona H (1972) A possible caudate cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses. *Psychopharmacologia*, 25: 339-346
210. Prado-Alcalá RA, Kaufmann P, Moscona R (1980) Scopolamine and KCl injections into the caudate nucleus. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacol Biochem Behav*, 12: 249-253
211. Quartermain D, Judge ME, Jung H (1988b) Amphetamine enhances retrieval following diverse sources of forgetting. *Physiol Behav*, 43: 239-241
212. Quartermain D, Judge ME, Leo P (1988a) Attenuation and forgetting by pharmacological stimulation of aminergic transmitter systems. *Pharmacol Biochem Behav*, 30: 77-81
213. Quirion R, Wilson A, Rowe W, Aubert I, Richard J, Doods H, Parent A, White, Meaney MJ (1995) Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M2-muscarinic receptor antagonist in aged memory impaired rats. *J Neurosci*, 15: 1455-1462
214. Richardson R, Riccio DC, Devine L (1984) ACTH-induced recovery of extinguished avoidance responding. *Physiol Psychol*, 12: 184-192
215. Richepin J (1951) *Mitología Clásica*. UTEHA, México

216. Ridley R, Backer H, Drewett B, Johnson J (1985) Effects of ibotenic acid lesions of the basal forebrain on serial reversal learning in the marmoset. *Psychopharmacol*, 86: 438-443
217. Ridley RM, Bowes PM, Baker HF, Crow TJ (1984) An involvement of acetylcholine in object discrimination learning and memory in the marmoset. *Neuropsychologia*, 22: 253-263
218. Riker WF, Wescoe WC (1951) The pharmacology of flaxedil with observations on certain analogs. *Ann N Y Acad Sci*, 54: 373-394
219. Robertson M (1982) Learning, forgetting and the cell biology of memory. *Nature*, 300: 219-220
220. Roldán G, Bolaños-Badillo E, González-Sánchez H, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1997) Selective M1 muscarinic receptor antagonists disrupt memory consolidation of inhibitory avoidance in rats. *Neurosci Lett*, 230: 93-96
221. Roller D (1966) The early development of the concepts of temperature and heat: the rise and decline of the caloric theory. En: Conant A, Nash A (Eds), *Harvard Case Histories in Experimental Science*, Harvard Univ. Press, pp 116-214
222. Romanes GJ (1882) *Animal intelligence*. Kegan, Paul and Trench, London, (citado en Duday Y, 1989, *The neurobiology of learning and memory. Concepts, findings and trends*, Oxford University Press)
223. Roszkowski AP (1961) An unusual type of sympathetic ganglionic stimulant. *J Pharmacol Exp Ther*, 132: 156-170
224. Rozin P, Kalat JW (1971) Specific hungers and poison avoidance as adaptive specializations of learning. *Psychol Rev*, 78: 459-486
225. Russell B (1961) *History of Western Philosophy*. George Allen and Unwin, London
226. Sahakian BJ, Coull JT (1994) Nicotine and tetrahydroaminoacridine: evidence of improved attention in patients with dementia of the Alzheimer type. *Drug Dev Res*, 31: 81-88
227. Sahakian BJ, Owen AM, Morant NJ, Eagger SA, Boddington S (1993) Further analysis of tetrahydroaminoacridine (THA) in Alzheimer's disease: assessment of attentional and mnemonic function using CANTAB. *Psychopharmacology*, 100: 395-401
228. Salado-Castillo R, Díaz del Guante MA, Alvarado R, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1996) Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem*, 66: 102-108
229. Salamone JD (1992) Complex motor and sensorimotor functions of striatal and accumbens dopamine: involvement in instrumental behavior processes. *Psychopharmacol*, 107: 160-174
230. Salvatierra AT, Berry DB (1989) Scopolamine disruption of septo-hippocampal activity and classical conditioning. *Behav Neurosci*, 103: 715-721
231. San Agustín (1952) *Confesiones*. Madrid, Aguilar

232. Sandberg K, Sandberg PR, Hanin I, Fisher A, Coyle T (1984) Cholinergic lesion of the striatum impairs acquisition and retention of passive avoidance response. *Behav Neurosci*, 98: 162-165
233. Scheel-Kruger J, Willner P (1990) The mesolimbic system: principles of operation. En: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*, Willner P, Scheel-Kruger J (Eds.), John Wiley & sons, Ltd, Chichester, 559-598
234. Schell-Kruger J, Willner P (1991) The mesolimbic system: principles and operation. En: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. Willner P, Schell-Kruger J (Eds) John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 559-598
235. Sechenov IM (1862) *Reflexes of the mind*. MIT Press, Cambridge Mass., (english translation, 1965)
236. Seguela P, Wadiche J, Miller K, Dani J, Patrick J (1993) Molecular cloning, functional expression and distribution of rat $\alpha 7$: A nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci*, 13: 596-604
237. Sargent PB (1993) The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Ann Rev Neurosci*, 16: 403-443
238. Shettleworth SJ (1975) Reinforcement and the organization of behavior in golden hamsters: hunger, environment and food reinforcement. *J Exp Psychol Anim Behav Proc*, 1: 56-87
239. Shettleworth SJ, Juergenson MR (1980) Reinforcement and the organization of behavior in golden hamsters: Brain stimulation reinforcement for seven action patterns. *J Exp Psychol Anim Behav Proc*, 6: 352-375
240. Sitaram N, Weingartner H, Gillin JC (1978) Human serial learning: enhancement with arecholine and choline and impairment with scopolamine. *Science*, 201: 274-276
241. Skinner BF (1938) *The behavior of organisms*. Appleton-Century-Crofts, New York
242. Skinner BF (1989) The origins of cognitive thought. *Am Psychol*, 44: 13-18
243. Skinner BF (1990) Can psychology be a science of mind? *Am Psychol*, 45: 1206-1210
244. Smith DA, Bolam PJ (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *TINS*, 13: 259-265
245. Smith G (1988) Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. *Brain Res Rev* 13: 103-118
246. Smrcka AV, Hepler JR, Brown KO, Stemweis PC (1991) Regulation of polyphosphoinositide-specific phosphorilase C activity by purified Gq. *Science*, 251: 804-807
247. Solana-Figueroa R, Prado-Alcalá RA (1990) Retrograde amnesia produced by intrastriatal atropine and its reversal by choline. *Life Sci*, 46: 679-686
248. Sorabji R (1972) *Aristoteles on memory*, Duckworth, London.
249. Spangler EL, Wenk GL, Chachich ME, Smith K, Ingram DK (1990) Complex maze performance in rats effects of noradrenergic depletion and cholinergic blockade. *Behav Neurosci*, 104: 410-417

250. Spence KW (1956) *Behavior Theory and Conditioning*. New Haven, Yale Univ Press
251. Squire LR (1986) Mechanisms of memory. *Science*, 232: 1612-1619
252. Squire LR (1987) *Memory and the brain*. Oxford Univ. Press, New York
253. Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychol Rev*, 99: 195-231
254. Steckler T, Inglis W, Winn P, Sahgal A (1994) The pedunculopontine tegmental nucleus: a role in cognitive processes? *Brain Res Rev*, 19: 298-318
255. Swank MW, Ellis AE, Cochran BN (1996) c-FOS antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport* 7: 1866-1870
256. Swanson LW (1982) The projection of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescence study in the rat. *Brain Res Bull*, 9: 321-353
257. Sweeny JE, Bachman ES, Coyle JT (1990) Effects of different doses of galanhamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacol* 102: 191-200
258. Taghzouti K, Garrigues AM, Labouesse J, LeMoal M, Simon H (1987) Bobine serum albumin-haloperidol as a tool for the study of dopaminergic transmission: behavioral and neurochemical effects following a single injection in the nucleus accumbens. *Life Sci*, 127-137
259. Terry AV, Buccafusco JJ, Jackson WJ (1993) Scopolamine reversal of nicotine enhanced delayed matching-to-sample performance in monkeys. *Pharmacol Biochem Behav*, 45: 925-929
260. Thompson RF (1986) The neurobiology of learning and memory. *Science*, 233: 941-947
261. Thorndike EL (1909) Darwin's contribution to psychology. *University of California Chronicle*, XII: 65-80
262. Thorndike L (1923) *A history of magic and experimental science during the first threeten centuries of our era*, Vols I and II. Columbia University Press, New York
263. Thorndike, E.L. (1911) *Animal Intelligence: Experimental Studies*,. Reimpresión 1965, Hafner, New York
264. Ungerstedt U (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand*, 82 (suppl.): 1-48
265. Van Wimersma Greidanus TJB, Burbach PJH, Veldhuis DH (1986) Vasopressin and oxytocin, their presence in the central nervous system and their functional significance in brain processes related to behaviour and memory. *Acta Endocrinologica*, 276: 81-84
266. Vanderwolf CH (1991) Anti-muscarinic drug effects in a swim-to-platform test: dose-response relations. *Behav Brain Res*, 44: 217-219
267. Vanderwolf CH (1988) Cerebral activity and behavior: control by central cholinergic and serotonergic systems. *Int Rev Neurobiol*, 30: 225-240

268. Vanderwolf CH, Baker GB (1996) The role of brain noradrenaline in cortical activation and behavior: A study of lesions of the locus coeruleus, medial thalamus and hippocampus-neocortex and muscarinic blockade in the rat
269. Vanderwolf CH, Cain D (1994) The behavioral neurobiology of learning and memory: a conceptual reorientation. *Brain Res Rev*, 19:264-297
270. Vanderwolf CH, Cain DP (1994) The behavioral neurobiology of learning and memory: a conceptual reorientation. *Brain Res Rev*, 19: 264-297
271. Veening JG, Comelissen FM, Lieven PA (1980) The topical organization of the afferents to the caudatoputamen of the rat. *Neurosci*, 5: 1253-1268
272. Vrijmoed-De Vries MC, Colls AR (1985) Further evidence for the role of the caudate nucleus in programming motor and non-motor behavior in Java monkeys. *Exp Neurol*, 87: 58-75
273. Walaas I (1981) Biochemical evidence for overlapping neocortical and allocortical glutamate projections to the nucleus accumbens and rostral caudatoputamen in the rat brain. *Neurosci*, 6: 399-405
274. Wallace E (1976) Aristotle's Psychology. New York, Arno Press (1st Ed., 1882)
275. Walsh T, Tilson H, DeHaven D, Mailman R, Fisher A, Hanin I (1984) AF64A, a cholinergic neurotoxin, selectively depletes acetylcholine in the hippocampus and cortex, and produces long-term passive avoidance and radial-arm maze deficits in the rat. *Brain Res*, 321: 91-102
276. Warburton DM, Wesnes K (1984) Drugs as research tools in psychology: Cholinergic drugs and information processing. *Neuropsychobiol* 11: 121-132
277. Watson JB (1913) Behaviorism. *Psychol Rev*, 20: 158 pp
278. Watson JB (1919) Behaviorism. Norton WW & Co., New York (Edicion en español, Paidós, Buenos Aires, 1945)
279. Wess J (1993) Molecular basis of muscarinic acetylcholine receptor function. *TIPS*, 14: 308-313
280. Whirshaw IQ, Dunnett SB (1985) Dopamine depletion, stimulation or blockade in the rat disrupt spatial navigation and locomotion dependent upon beacon or distal cues. *Behav Brain Res*, 18: 11-29
281. White NM, Milner PM (1992) The psychobiology of reinforcers. *Ann Rev Psychol*, 43: 443-471
282. Whitehouse P, Price D, Struble R, Clark A, Coyle J, DeLong M (1983) Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 215: 1237-1239
283. Winkler J, Suhr ST, Gage FH, Thal LJ, Fisher LJ (1995) Essential role of neocortical acetylcholine in spatial memory. *Nature*, 375: 484-487
284. Woolf NJ (1991) Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog Neurobiol*, 37: 475-398
285. Wyers EJ, Deadwyler SA (1971) Duration and nature of retrograde amnesia produced by stimulation of the caudate nucleus. *Physiol Behav*, 6: 97-103

286. Wyers EJ, Peeke HUS, Williston JS, Hertz MR (1968) Retroactive impairment of passive avoidance learning by stimulation of the accumbens nucleus. *Exp Neurol*, 22: 350-366
287. Yang CR, Mogenson GJ (1985) An electrophysiological study of the neural projections from the hippocampus to the ventral pallidum and subpallidal areas by way of the nucleus accumbens. *Neurosci*, 15: 1015-1024
288. Yates FA (1974) *El arte de la memoria*. México, Taurus
289. Yim CY, Mogenson GJ (1986) Low doses of accumbens dopamine modulate dopamine suppression of spontaneous exploratory activity in rats. *Brain Res*, 477: 202-210
290. Yim CY, Mogenson GJ (1989) Low doses of accumbens dopamine modulate amygdala suppression of spontaneous exploratory activity in rats. *Brain Res*, 477: 202-210
291. Young JZ (1897) Memory. In: *The Oxford Companion of the Mind*. Oxford, Oxford University Press
292. Young JZ (1979) Animal learning and memory. *Roy Soc Med*, 72: 801-809

CAPÍTULO 2

DESAROLLO EXPERIMENTAL

EXPERIMENTO 1. (Enviado a Psychopharmacology)

DOSE- AND TIME-DEPENDENT SCOPOLAMINE-INDUCED RECOVERY OF AN INHIBITORY AVOIDANCE RESPONSE AFTER EXTINCTION IN RATS.

Gabriel Roldán¹, Guillermo G. Cobos-Zapiain²

Gina L. Quirarte³ and Roberto A. Prado-Alcalá³

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina

² ENEP-Iztacala, and ³Centro de Neurobiología, UNAM, México, D.F.

Corresponding author: Gabriel Roldán

Department of Physiology, Faculty of Medicine, UNAM.

P.O. Box 70-250, México 04510, México D.F.

Fax: (525) 6232364

e-mail: roldan26@servidor.unam.mx

* Requests for reprints should be addressed to: Dr. Gabriel Roldán

Department of Physiology, Faculty of Medicine, UNAM.

P.O. Box 70-250, México 04510, México D.F.

Abstract

The present investigation was aimed at elucidating the dose and time dependency of scopolamine-induced recovery of inhibitory avoidance after its extinction. Two experiments were conducted: in the first one, we analyzed the effects of four doses (1, 2, 4, and 8 mg/kg) of the muscarinic receptor antagonist, scopolamine, on the expression of this conditioned response once extinguished. Independent groups of rats were trained in a one-trial, step-through inhibitory avoidance task and submitted to 14 daily retention (extinction) tests. After 9 extinction sessions, animals were intraperitoneally injected, 10 min before retention testing, either with saline on Days 10 and 14, or scopolamine on Days 11 and 13, using one dose for each group; on Day 12 animals received no treatment. Results show that scopolamine produced a dose-dependent recovery of the avoidance response. The second experiment was carried out in the same animals, which were tested for retention of inhibitory avoidance one, two, three, six, and nine months after completion of the first experiment. All rats received counterbalanced injections of saline or scopolamine 10 min before testing at each time interval. Each group received the corresponding dose used in the first experiment. Reliable recovery of the avoidance response was observed at the one month interval with a clear dose-dependency, while after the second month, only the groups treated with the two higher doses continued responding, but with a decreasing intensity. The results indicate that recovery of the extinguished response produced by muscarinic blockade follows dose- and time-dependent curves, and may be achieved even long periods after a single training session. These data suggest that the inhibitory avoidance memory trace is retained in the brain after behavioral extinction of this response, thus supporting the view of extinction as a new learning that affects the retrieval of the original memory, but does not modify its storage.

Introduction

Different lines of experimental and clinical research have demonstrated that cerebral acetylcholine (ACh) plays an essential role in mnemonic phenomena (For reviews see Overstreet 1984; Warburton and Wesnes 1984; Bartus et al. 1985; Smith 1988; McGaugh 1989; Fibiger 1991; Prado-Alcalá et al. 1993). With exception of some isolated reports (Lewis and Bregman 1972; Hagan et al. 1986), it has been consistently found that cholinergic blockade results in acquisition impairments, and retrograde amnesia in various animal species and different learning tasks (Ridley et al. 1984; Prado-Alcalá 1985; Aigner et al. 1991; Spangler et al. 1988; Vanderwolf 1991; Lévy et al. 1997; Roldán et al. 1997). On the other hand, stimulation of the brain cholinergic systems can improve learning and memory processes in normal and cognitively compromised subjects (Sitaram et al. 1978; Flood et al. 1983, 1985; Prado-Alcalá et al. 1984; Sweeny et al. 1990). Most of these studies dealt with the acquisition and consolidation phases of learning, while little attention has been paid to the extinction process, possibly due to the fact that extinction has been often confused with forgetting, i.e., the decay or erasure of the original memory (Deutsch 1953; Estes 1955; Rescorla and Wagner 1972), and, therefore, it would have little relationship with learning itself. This view, however, seems to be incorrect, and most of authors have agreed with the idea that extinction does not represent a forgetting process, but on the contrary, a new learning (Pavlov 1927; Miller and Stevenson 1936; Deutch, 1969, 1971; Rescorla 1979; Falls 1992; Bouton 1994). Thus, pharmacological treatments that interfere with acquisition and consolidation of different learning tasks, also produced a blockade of its extinction. For example, the NMDA receptor antagonist MK-801 prevents both acquisition and extinction of a conditioned hypoalgesic response (Cox and Westbrook 1994), and of fear conditioning (Baker and Azorlosa 1996) in the rat; similar effects have been reported by intracerebral c-Fos antisense injection on conditioned taste aversion in mice (Swank et al. 1996), after reversible inactivation of the cerebellum by muscimol on the rabbit conditioned nictitating membrane response (Ramnani and Yeo 1996), and by protein synthesis inhibition on pole jump active avoidance in mice (Flood et al. 1977).

Previous investigations have shown that a variety of manipulations are able to restore

conditioned responses after extinction; these include timing and context cues (Spear 1978; Bouton 1993, 1995), noncontingent footshocks (Lashley et al. 1987), as well as hormonal (Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987; Ahlers et al. 1989) and pharmacological treatments (Kovalyov et al. 1990). Richardson and colleagues, have reported the recovery of extinguished active and passive avoidance responses by systemic ACTH administration at different training to testing intervals (Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987); moreover, pre-training injection of dexamethasone, inhibits this effect of ACTH (Ahlers and Richardson 1985). The authors concluded that ACTH release during training forms a part of the original memory trace, and that exogenous ACTH injection mimics this physiological state thus facilitating memory recovery. The treatment with L-aspartic acid, an NMDA receptor agonist, also produced the reinstatement of inhibitory avoidance after natural extinction (Kovalyov et al. 1990).

Recently, we have reported that muscarinic receptor blockade by systemic administration of scopolamine, induced a recovery of an inhibitory avoidance behavior after extinction (Prado-Alcalá et al. 1994). This result suggested that scopolamine may interfere with retrieval of the new acquired habit (i.e., extinction of inhibitory avoidance), without affecting the recall of the original avoidance memory engram. To further investigate the involvement of ACh in extinction, two series of experiments were carried out. In the first one, we analyzed the dose-response relationship of scopolamine-induced reversal of extinction. In the second experiment, the time course of this phenomenon during nine months was studied.

General Method

Animals

Male Wistar rats weighing 250-350 g at the beginning of the study were used. They were maintained in individual cages in a light- and temperature-controlled room, having *ad libitum* access to food and tap water. Rats were kept in this conditions for at least one week before starting the experiments.

Apparatus

The conditioning chamber consisted of a wooden box divided into two compartments of the same size (30 X 30 X 30 cm each) separated by an opaque guillotine door. The lid of the compartments and the door were made of orange-colored lucite. The floor of the safe compartment was a grid of aluminum bars (6 mm in diameter), separated 1.5 mm center-to-center, and was equipped with a 10 W light bulb located in the center of the lid, for providing illumination. The punishment compartment was dark and had V shaped lateral walls made of stainless steel plates, that were continuous with half the floor, which was separated by a 1.5 cm slot. The walls and the floor of the punishment compartment could be electrified. Thus, when the rat enter this compartment, it produced a short circuit receiving a footshock. The conditioning chamber was located inside a dark, sound-deadening room, equipped with background masking noise (BRS/LVE, model AU-902).

Procedure

Training and testing were carried out in the same conditioning chamber. During training, each animal was put inside the gridded compartment; 10 s later the guillotine door was opened and the latency to enter the punishment compartment with all four paws (acquisition latency) was measured. Once in the second compartment, the door was closed and a footshock of square pulses of 2.5 mA, 100 V, 15 ms pulse duration, and 15 pps, was applied through the stainless steel plates. After 5 s the door was reopened, thus allowing the animal to escape the safe compartment, and the escape latency was measured; the door was closed again and the animal remained there for 30 additional seconds before being gently withdrawn and put back in its home cage. One day latter, and during 14 consecutive days, each rat was tested for retention; these 14 retention (extinction) sessions were programmed as the training one except that the footshock was not delivered and rats were permitted to explore both compartments during 600 s. The step-through latency to enter the punishment compartment (retention score) was computed; if a rat did not cross within the 600 s period to this compartment, the session was ended and a score of 600 was assigned.

EXPERIMENT 1

Groups and Treatments

Rats were randomly assigned to one of six independent groups. Four groups (EXT-1, EXT-2, EXT-4 and EXT-8), were trained for inhibitory avoidance, submitted to 14 extinction sessions, and injected in the last 5 sessions, twice with scopolamine at doses of 1, 2, 4, and 8 mg/kg, respectively, and twice with isotonic saline in a balanced schedule, leaving one day in between without treatment (see below). Thus, each group served as its own control. Previous studies conducted in our laboratory, show that 1 and 2 mg/kg had no effects on memory consolidation of this task, while 4 mg/kg produced mild effects, and 8 mg/kg resulted in severe memory impairments (Durán-Arévalo, et al., 1990). Therefore, these doses of scopolamine were chosen in order to evaluate its efficacy on memory retrieval after extinction. Two additional groups (NO-EXT and NO-SHOCK) were included in the study; the first one was trained, and tested only three times: one day after training without drug treatment, and on days 11th and 13th, in which these rats were injected with scopolamine 8 mg/kg. The second group was not trained (i.e., rats were not given a footshock), but was submitted to 14 "testing" sessions in the same manner of the trained groups, and administered with 8 mg/kg of scopolamine or saline, under the same schedule of the first four groups. The injection schedule was as follows: after nine consecutive days of retention testing (extinction training), rats received saline on Days 10 and 14, scopolamine on Days 11 and 13, and on Day 12, they did not receive any treatment. All injections were applied ip, 10 min before testing.

Statistics

The Friedman analysis of variance (ANOVA) was computed to analyze the retention scores across the extinction sessions without treatment (i.e., the first nine sessions) for the groups submitted to extinction, as well as for the non-extinguished control groups (i.e., NO-EXT and NO-SHOCK), followed, when appropriate, by the Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test. To compare the effect of the treatments as well as the different doses tested, a two way ANOVA was used, followed by the Duncan's Multiple Comparison Test. In this analysis the last (ninth)

extinction session and the next five (treatments) sessions were included.

Results

There were no significant differences among all groups regarding acquisition and escape latencies. Figure 1 depicts the retention scores of the groups EXT1, EXT2, EXT4 and EXT8 across the first nine extinction sessions. As shown in this figure, a progressive decline on retention latency was found as extinction sessions increased in all four groups, reaching significant differences [$X_r(8) = 58.95$, $p < 0.0001$; $X_r(8) = 37.31$, $p < 0.0001$; $X_r(8) = 30.01$, $p < 0.0002$, and $X_r(8) = 57.58$, $p < 0.0001$, for the groups EXT1, EXT2, EXT4, and EXT8, respectively; Friedman test]. When the performance of the first retention day was compared against each of the eight following sessions, it was found that the reduction in performance reached statistical significance between the fourth to sixth extinction sessions depending on the group (all p 's ranging between 0.001 and 0.0008; Wilcoxon test). Results also show that scopolamine administration induced a clear dose-dependent recovery of the inhibitory avoidance response, as evidenced by an increase in the step-through latency. Two-way ANOVA (treatment \times dose) revealed a significant main effect of the drug treatment ($F_{3, 38} = 21.66$, $p < 0.001$) and significant interaction ($F_{15, 175} = 1.87$, $p < 0.03$). Subsequent Duncan's comparison showed a significant difference between the scopolamine treatments at doses of 2 mg/kg ($p < 0.05$), 4, and 8 mg/kg ($p < 0.01$) when compared either, to the 9th extinction session, the saline injection sessions or the no treatment session. Moreover, a significant difference was observed between 4 and 8 mg/kg scopolamine treatments when compared with 1 or 2 mg/kg (p 's ranging between 0.05 and 0.01).

Figure 1, also shows the retention scores of NO-EXT and NO-SHOCK groups. In contrast to the previous four groups, independent Friedman ANOVA revealed no statistical difference for the NO-EXT group [$X_r(2) = 0.100$, $p = 0.75$] and NO-SHOCK group [$X_r(13) = 13.12$, $p = 0.43$].

EXPERIMENT 2

Reliable retrieval of the inhibitory avoidance memory has been reported, even several

months after training. Since in Experiment 1 a clear recovery performance of this task was observed when animals were treated with scopolamine, thus indicating the persistence of the inhibitory avoidance engram, in this experimental series a follow up of this phenomenon during nine months was carried out.

Procedure

The same rats of the groups treated with 1, 2, 4, and 8 mg/kg of scopolamine, (EXT-1, EXT-2, EXT-4, and EXT-8) of Experiment 1 were used. The rats were kept in their individual cages with free access to food and water for nine months. Retention tests were programmed one, two, three, six, and nine months after completion of the first Experiment. In order to balance the treatments, half of the animals from each group was injected with scopolamine and the other half with saline on a first retention session, and the opposite was done on the next day for each testing period. The doses of scopolamine used were the same as in Experiment 1 for the corresponding group.

Statistics

A two-way ANOVA was used to compare the effect of the treatments and the different doses tested for the five retention tests across the nine-month period. When appropriate, the Duncan's Multiple Comparison Test was computed to compare individual groups.

Results

Retention scores for all four groups tested at one, two, three, six, and nine month intervals are depicted in figure 2. As shown in this figure, a clear dose-dependent increase in retention latency was observed after the injection of scopolamine, while saline administration did not produce any effect. Two-way ANOVA (dose x treatment) showed significant main effects of the dose ($F_{3, 33} = 491.0, p < 0.001$) as well as of treatment ($F_{9, 306} = 28.68, p < 0.001$) and significant interaction ($F_{27, 270} = 5.24, p < 0.001$). Additionally, the scopolamine-induced recovery of inhibitory avoidance was decreasing as testing intervals increased. Thus, animals of the group

EXT-2 showed a higher a retention latency ($p < 0.05$) only at one month interval, whereas in EXT-4 and EXT-8 groups, they continued showing a significant increase of retention latency even at the nine month testing interval (p 's ranging between 0.05 and 0.01); however, a statistically significant reduction of retention latency was found between the first month and the last two months in EXT-4 and EXT-8 groups ($p < 0.05$). Finally, comparisons of the distinct doses of scopolamine at each time interval revealed statistical differences between the doses of 1 and 2 mg/kg, and the doses of 4 and 8 mg/kg (p 's ranging between 0.05 and 0.01).

Discussion

The findings of the present study provide additional evidence indicating that muscarinic cholinergic receptors are involved in retrieval of an extinguished conditioned response. The main result of this work was that systemic scopolamine administration induced the recovery of inhibitory avoidance after its extinction in a dose- and time-dependent manner, thus confirming and extending our previous observation that a single injection of this drug before retention testing produced a reversal of extinction (Prado-Alcalá, et al. 1994). This finding was interpreted as the possibility that muscarinic antagonism inhibited retrieval of the extinction memory without affecting the recall of the original inhibitory avoidance memory trace. This conclusion seems plausible since it has been shown that cholinergic antagonism does not affect a well consolidated learning, while impairs a newly acquired conditioning (Spangler et al. 1988; Aigner et al. 1991); moreover, we observed in this study (Experiment 1), that scopolamine administration was without effect on memory retrieval in animals that were not submitted to extinction (NO-EXT group), 11 and 13 days after training. Thus, pharmacological dissociation between retrieval of the two memories, i.e., inhibitory avoidance and extinction of inhibitory avoidance, by scopolamine may be likely. Additionally, the results presented here, showed that doses as low as 2 mg/kg of scopolamine, which have no effect on inhibitory avoidance memory consolidation (Durán-Arévalo et al. 1990), produced a reliable expression of this response after extinction. This observation may indicate that blockade of the extinction memory recall can be achieved with lower doses of this muscarinic antagonist, than that necessary to induce retrograde amnesia of the same task. This

conclusion is consistent with earlier reports showing that recovery of extinguished behaviors can be induced by simple manipulations in time of testing intervals (Spear 1978; Bouton 1993), as well as by changes in contextual cues during extinction and testing (Bouton 1993, 1994), which has yielded the hypothesis that extinction may be forgotten more readily than conditioning (Bouton 1994).

Because all groups were tested after scopolamine administration, it could be argued that the drug induced an unspecific effect on motivational or motor factors necessary for performance of the extinguished behavior, thus producing an inhibitory avoidance-like reaction. However, this objection is unlikely, since scopolamine injection before retrieval testing did not induce any effect in animals that were not trained (NO-SHOCK group), confirming previous data (Prado-Alcalá et al. 1994). A state-dependent effect could be also considered in the scopolamine-induced inhibitory avoidance recovery, because animals were tested under the effects of this drug, but they were neither trained nor extinguished under this condition. Unfortunately, the design of the experiment did not allow to treat animals in these two situations, due to the strong amnesic activity of this muscarinic antagonist. If an animal is trained after scopolamine application they do not show any conditioning at all (Durán-Arévalo et al. 1990; Quirarte et al. 1994); on the other hand, if they are extinguished under its effects, a delay in extinction is observed (Roldán et al. 1995), indicating that an inhibition of extinction learning might be taking place. Nevertheless, the groups that were not trained (NO-SHOCK), and not extinguished (NO-EXT), and received scopolamine before retention testing did not show any alteration of its expected behavior, that is, the first group showed no avoidance response as reflected by a very low step-through latency, and the second one, exhibited a very high retention latency revealing a strong avoidance to the dark compartment. Therefore, we inferred that an unspecific effect on step-through latency, or a state-dependency phenomenon do not account for the renewal of inhibitory avoidance observed as a consequence of scopolamine application.

The results of the second experiment showed that the inhibitory avoidance reinstatement due to scopolamine can be induced even after nine months of a single training session. This is a remarkable finding suggesting that the inhibitory avoidance memory engram persists over long periods after behavioral extinction of this response and can be retrieved under particular

circumstances. Thus it might be speculated that extinction does not modify the original memory trace of a conditioned behavior by erasing it, but by producing a retrieval inhibition. This idea had been previously put forward by other authors (Rescorla 1979; Bouton 1994). However, it was also found that the ability of scopolamine to recover the inhibitory avoidance response declines with passing of time, indicating that actual forgetting (i.e., erasure of the original memory engram) may proceed after several months of training.

The capability to disrupt both, acquisition and extinction of various conditioned responses by using the same interventions (e.g., Baker and Azorlosa 1996; Ramnani and Yeo 1996; Swank et al. 1996), supports the view that similar neural circuits and neurotransmission mechanisms are involved in these two processes. Moreover, recovery from extinction has been usually reported as a result of learning enhancers such as exogenous ACTH (Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987; Ahlers et al. 1989), or NMDA receptor agonists (Kavalov et al. 1991). Hence, the fact that scopolamine, a typical amnesic agent, reinstated an extinguished response seems surprising. A possible explanation for this paradox could be that both, stimulation and inhibition of memory retrieval may have the same effect on the expression of an extinguished behavior because, as argued above, they would facilitate what was originally learnt in the first case, while blocking a newly acquired and less consolidated engram (extinction) in the second case. Further research is necessary to clarify this point. It is worth noting, however, that despite the participation of similar mechanisms in acquisition and extinction of conditioning has been postulated, the possibility to dissociate pharmacologically both memories, leads to the conclusion that behavioral expression of each of these memories depends on a distinct set of cholinergic neurons (Prado-Alcalá et al. 1994), and, therefore they might be codified by a different synaptic array. Future investigations may help us to understand the role neural cholinergic mechanisms in this interesting mnemonic phenomenon.

References

Ahlers ST, Richardson R (1985) Administration of dexamethasone prior to training blocks ACTH-induced recovery of an extinguished avoidance response. *Behav Neurosci* 99: 760-764

Ahlers ST, Richardson R, West C, Riccio DC (1989) ACTH-produced long-lasting recovery following partial extinction of an active avoidance response. *Behav Neural Biol* 51: 102-107

Aigner TG, Walker DL, Mishkin M (1991) Comparison of the effects of scopolamine administered before and after acquisition in a test visual recognition memory in monkeys. *Behav Neural Biol* 55: 61-67

Baker JD, Azorlosa JL (1996) The NMDA antagonist MK-801 blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 110: 618-620

Bartus RT, Dean RL, Pontecorvo MJ, Flicker C (1985) The cholinergic hypothesis: A historical overview, current perspectives, and future directions. *Ann NY Acad Sci* 44: 332-358

Bouton ME (1993) Context time and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychol Bull* 114: 80-99

Bouton ME (1994) Conditioning remembering and forgetting. *J Exp Psychol, Anim Behav Proc* 20: 219-231

Cox J, Westbrook RF (1994) The NMDA receptor antagonist MK-801 blocks acquisition and extinction of conditioned hypoalgesic responses in the rat. *Q J Exp Psychol* 47B 187-210

Deutsch JA (1953) A new type of behavior theory. *Br J Psychol* 44: 307-317

Deutsch JA (1971) The cholinergic synapse and the site of memory. *Science* 174: 788-794

Deutsch JA, Wiener NI (1969) Analysis of extinction through amnesia. *J Comp Physiol Psychol* 69: 179-184

Durán-Arévalo M, Cruz-Morales SE, Prado-Alcalá RA (1990) Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Res Bull* 24: 725-727

Estes WK (1955) Statistical theory of spontaneous recovery and regression. *Psychol Rev* 62: 145-154

Falls WA, Miserendino MJD, Davies M (1992) Extinction of fear-potentiated startle: Blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *J Neurosci* 12: 854-863

Fibiger HC (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends Neurosci* 14: 220-223

Flood JF, Jarvik ME, Bennett EL, Orme AE, Rozenzweig MR (1977) Protein synthesis inhibition and memory for pole jump active avoidance and extinction. *Pharmacol Biochem Behav*, 7: 71-77

Flood JF, Smith GE, Cherkin A (1983) Memory retention: potentiation of cholinergic drug

combinations in mice. *Neurobiol Aging* 4: 37-43

Flood JF, Smith GE, Cherkin A (1985) Memory enhancement: supra-additive effect of subcutaneous cholinergic drug combinations in mice. *Psychopharmacol* 86: 61-67

Hagan JJ, Tweedie F, Morris RGM (1986) Lack of task specificity and absence of posttraining effect of atropine on learning. *Behav Neurosci* 100: 483-493

Kovalyov GV, Sazhin VA, Yanitskaya AV (1991) Effects of N-acetyl-aspartic acid on memory and learning processes in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 54: 8-11 (in Russian)

Lashley RL, Richardson R, Riccio DC (1987) ACTH- and noncontingent footshock-induced recovery of an extinguished passive avoidance response. *Physiol Behav* 40: 677-680

Lévy F, Richard Ph, Meurisse M, Ravel N (1997) Scopolamine impairs the ability of parturient ewes to learn to recognize their lambs. *Psychopharmacol* 129: 85-90

Lewis JD, Bregman NJ (1972) The cholinergic system, amnesia and memory. *Physiol Behav* 8: 511-514

McGaugh JL (1989) Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Ann Rev Neurosci* 12: 255-287

Miller NE, Stevenson SS (1936) Agitated behavior of rats during experimental extinction and a curve of spontaneous recovery. *J Comp Psychol* 21: 231-250

Overstreet DH (1984) Behavioral plasticity and the cholinergic system. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiat* 8: 133-151

Pavlov IP (1927) *Conditioned reflexes*. Oxford U P, Oxford

Prado-Alcalá RA, Cepeda G, Verduzco L, Jiménez A, Vargas-Ortega E (1984) Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance. *Neurosci Lett* 51: 31-36

Prado-Alcalá RA (1985) Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sci* 37: 2135-2142

Prado-Alcalá RA, Fernandez-Ruiz J, Quirarte GL (1993) Cholinergic neurons and memory. In: Stone TW (ed) *Aspects of synaptic transmission 2: Acetylcholine, sigma receptors, CCK and eicosanoids, neurotoxins*. Taylor and Francis Ltd, London, pp 59-71

Prado-Alcalá RA, Haiek M, Rivas S, Roldán-Roldán G, Quirarte GL (1994) Reversal of extinction by scopolamine. *Physiol Behav*, 56: 27-30

Quirarte GL, Cruz-Morales SE, Cepeda A, García-Montañez M, Roldán-Roldán G, Prado-Alcalá RA (1994) Effects of central muscarinic blockade on passive avoidance: Anterograde amnesia, state dependency, or both? *Behav Neural Biol* 62: 15-20

Rammani N, Yeo CH (1996) Reversible inactivation of the cerebellum prevent the extinction of conditioned nictitating membrane responses in rabbits. *J Physiol* 495.1: 159-168

Rescorla RA, de (1979) *Conditioned inhibition and excitation*. Erlbaum, Hillsdale, NJ

Rescorla RA and Wagner AR (1972) A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. In: Black HA, Prakash WF (eds) *Classical conditioning: II. Current research and theory*. Appleton-Century-Crofts, New York, pp 64-99

Richardson R, Riccio DC, Devine L (1984) ACTH-induced recovery of extinguished avoidance responding. *Physiol Psychol* 12: 184-192

Ridley RM, Bowes PM, Baker HF, Crow TJ (1984) An involvement of acetylcholine in object discrimination learning and memory in the marmoset. *Neuropsychologia* 22: 253-263

Roldán G, Bolaños-Badillo E, Quirarte GL Prado-Alcalá RA (1995) Effects of muscarinic blockade during and after extinction of inhibitory avoidance learning in rats. 4th International Behavioral Neuroscience Society Conference, Santiago de Compostela, Spain

Roldán G, Bolaños-Badillo E, González-Sánchez H, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1997) Selective M1 muscarinic receptor antagonists disrupt memory consolidation of inhibitory avoidance in rats. *Neurosci Lett* 230: 93-96

Sitaram N, Weingartner H, Gillin JC (1978) Human serial learning: enhancement by arecholine and choline and impairment with scopolamine. *Science* 201: 274-276

Smith G (1988) Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. *Brain Res Rev* 13: 103-118

Spangler EL, Chachich ME, Ingram DK (1988) Scopolamine in rats impairs acquisition but not retention in a 14-unit T maze. *Pharmacol Biochem Behav* 30: 949-955

Spear EN (1978) *The processing of memories: Forgetting and retention*. Hillsdale, NJ. Erlbaum.

Swank MW, Ellis AE, Cochran BN (1996) c-FOS antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport* 7: 1866-1870

Sweeny JE, Bachman ES, Coyle JT (1990) Effects of different doses of galanhamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacol* 102: 191-200

Vanderwolf CH (1991) Anti-muscarinic drug effects in a swim-to-platform test: dose-response relations. *Behav Brain Res* 44: 217-219

Warburton DM, Wesnes K (1984) Drugs as research tools in psychology: Cholinergic drugs and information processing. *Neuropsychobiol* 11: 121-132

Wilson A, Brooks DC, Bouton ME (1995) The role of the rat hippocampal system in several effects of context in extinction. *Behav Neurosci* 109:828-836

Figure 1. Mean (\pm SEM) retention latency of animals trained in passive avoidance, submitted to extinction, and injected with saline (sal) or scopolamine (sco) in doses of 1, 2, 4, and 8 mg/kg (groups EXT-1, EXT-2, EXT-4, and EXT-8, respectively), before retention testing. This figure also shows the mean (\pm SEM) retention latency of non-extinguished animals and administered with SCO on days 9 and 11 (NO-EXT), and animals that were not trained and were injected with SAL and SCO (NO-SHOCK; note that a different absisa sacle was used in this group). All treatments were applied 10 min before retention tests on the days indicated in the ordinate. For probability values see text. Numbers inside parenthesis represent sample size.

Figure 2. Mean (\pm SEM) retention latency of groups of animals injected either with sal (dark bars) or sco in doses of 1, 2, 4, and 8 mg/kg (groups EXT-1, EXT-2, EXT-4, and EXT-8, respectively, lighth bars), 1, 2, 3, 6, and 9 months after the completion of the first experiment. All treatments were applied 10 min before retention tests. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, for comparisons between sal and sco at each time interval. # $p < 0.05$, for comparisons between the first and the remaining time intervals in sco treated groups with the same dose. Other description as in Fig. 1.

FIG.1

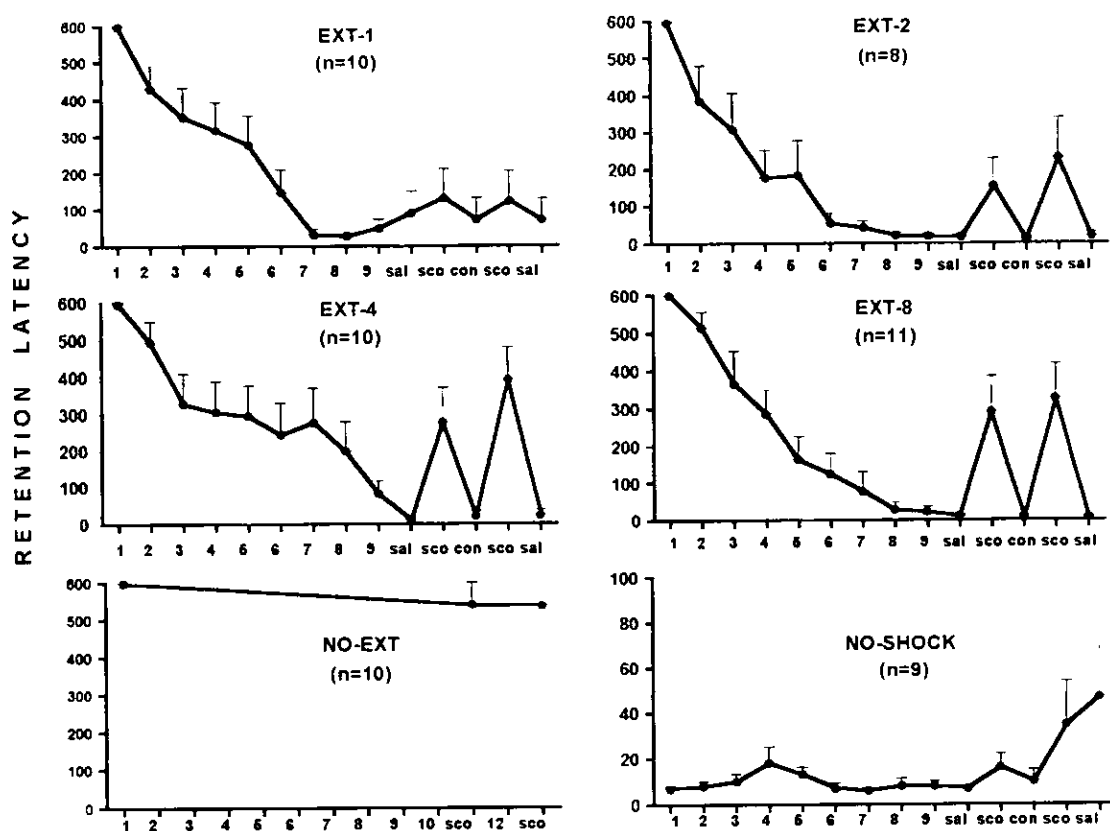
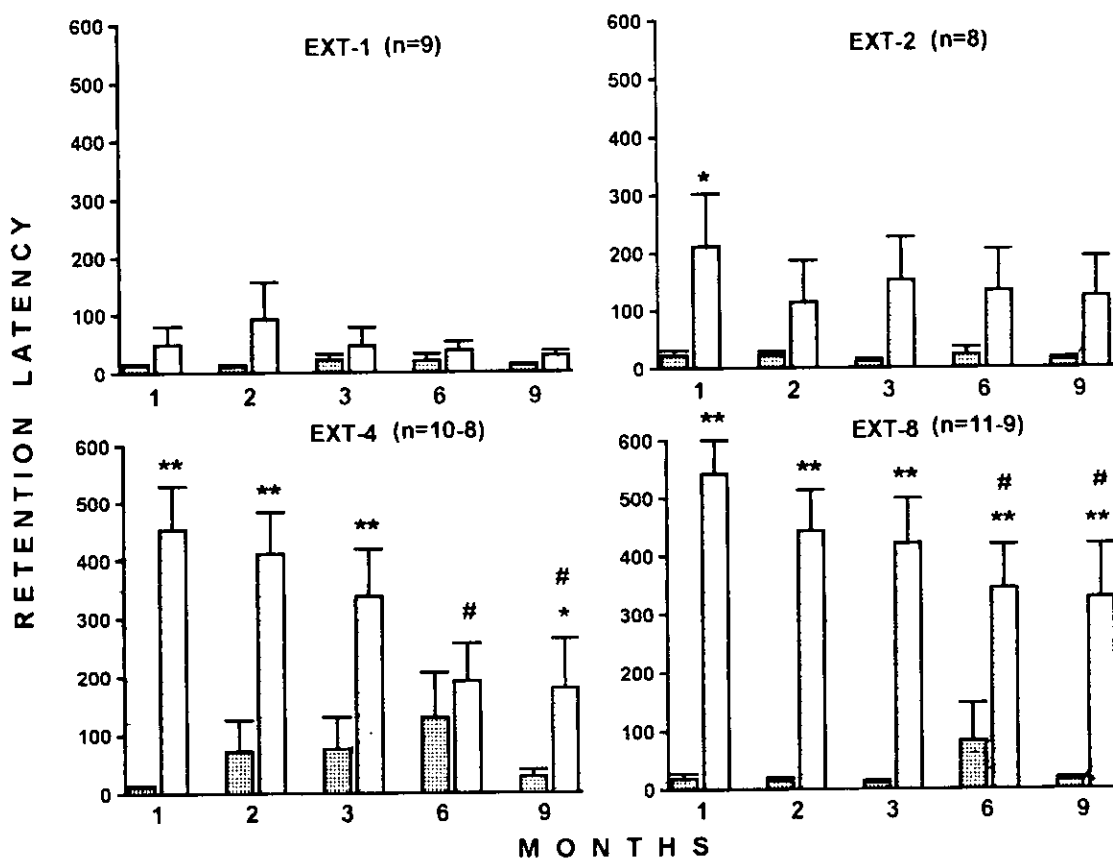


FIG. 2



EXPERIMENTO 2. Publicado en Neuroscience Letters, 230: 93-96, 1997

**SELECTIVE M1 MUSCARINIC RECEPTOR ANTAGONISTS DISRUPT
MEMORY CONSOLIDATION OF INHIBITORY AVOIDANCE IN RATS***

Gabriel Roldán¹, Enrique Bolaños-Badillo¹, Héctor González-Sánchez¹,

Gina L. Quirate², and Roberto A. Prado-Alcalá²

**¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina and ²Centro de Neurobiología,
Universidad Nacional Autónoma de México**

Corresponding Author: Gabriel Roldán

Department of Physiology, Faculty of Medicine,

UNAM. P.O. Box 70-250, México 04510, D.F. México.

Fax: (525) 623-2241

Phone: (525) 623-2364

e-mail: roldan26@servidor.unam.mx

*Requests for reprints should be addressed to Gabriel Roldán, Department of Physiology, Faculty of Medicine, UNAM. P.O. Box 70-250, México 04510, D.F. México. Fax: (525) 623-2241, Phone: (525) 623-2364.

e-mail: roldan26@servidor.unam.mx. Supported by DGAPA and PADEP (UNAM).

ABSTRACT

The effect of three different M1 muscarinic antagonists, pirenzepine, biperiden, and trihexyphenidyl on memory consolidation was investigated. Rats were trained in a one-trial step-through inhibitory avoidance task and injected intraperitoneally immediately afterwards, either with pirenzepine, biperiden, or trihexyphenidyl (dose range from 0 to 16 mg/kg). The non-selective antimuscarinic compound scopolamine, was also administered for comparison. One day later, rats were tested for retention. Results show that biperiden, trihexyphenidyl and scopolamine produced a dose-dependent impairment of inhibitory avoidance consolidation, while pirenzepine had no effect. The amnesic state produced by biperiden and trihexyphenidyl was comparable to that observed after the administration of scopolamine. These results indicate that the selective blockade of the central M1 muscarinic receptors interfere with memory consolidation of inhibitory avoidance and suggest that this receptor subtype is critically involved in mnemonic functions.

Key Words: M1 muscarinic receptor, inhibitory avoidance, memory consolidation, biperiden, trihexyphenidyl, pirenzepine, scopolamine.

Experimental and clinical evidence has given strong support to the hypothesis that brain cholinergic systems are critically involved in mnemonic processes [7, 12, 17, 20]. It is generally accepted that cholinergic stimulation facilitates learning and memory consolidation, while its blockade produces amnesia. Thus, administration of anticholinergic drugs, mainly muscarinic antagonists such as atropine and scopolamine, induces learning deficits in a wide variety of tasks [12, 17]; in contrast, treatments which enhance cholinergic transmission improve memory [21, 22]. From the molecular point of view, five different muscarinic receptors (m1 to m5) have been identified [3] and four of them (M1 to M4) have been pharmacologically characterized [9]; however their role in learning and memory formation is not well understood. The differential distribution of muscarinic receptor subtypes in the brain, suggests that the M1 subtype may be particularly important for these processes, since this receptor is rich in forebrain areas such as neostriatum, amygdala, hippocampus, and cerebral cortex [11, 23], where cholinergic synapses seem to mediate acquisition and storage of new information [7, 17]. Several attempts to explore the involvement of the different muscarinic receptors in learning and memory have been done. Thus, the disrupting effects of intracerebral application of pirenzepine, a relatively selective M1 antagonist, on acquisition of inhibitory avoidance response in mice [5], as well as on spatial learning [8, 10], and representational memory in rats [13, 14], have been reported. As in these cases, intraperitoneal (ip) administration of high doses of pirenzepine blocks acquisition of inhibitory avoidance learning in rats [25]. Recently, Bymaster et al. [4] observed a clear relationship between the neurochemical anticholinergic activity of subcutaneous administration of pirenzepine and trihexyphenidyl with the behavioral blockade of working memory performance in rats. The same impairment of working, but not of reference memory was confirmed using intrahippocampal pirenzepine administration [15]. Muscarinic antiparkinsonian drugs such as biperiden and trihexyphenidyl have been characterized as selective M1 antagonist that readily cross the blood-brain barrier [2, 4]; therefore, systemic administration of these compounds may be useful as pharmacological tools to investigate the role of brain M1 muscarinic receptors in learning processes. The purpose of the present study was to analyze the effects of three M1 antimuscarinic drugs, biperiden, pirenzepine and trihexyphenidyl, on memory consolidation of a one-trial inhibitory avoidance task. Since the amnestic activity of the non-selective muscarinic antagonist scopolamine is well documented [24], this drug was also tested for comparison.

Male albino Wistar rats (250-350 g body weight) served as subjects. They were individually housed in a light- and temperature-controlled room, with free access to solid food and tap water in

their home cages. Animals were habituated to these conditions for at least 5 days before the beginning of the experiments. The experiments were performed in a step-through inhibitory avoidance conditioning chamber, which consisted of a wooden box divided into two compartments (30 x 30 x 30 cm each), by an opaque guillotine door. Both compartments were covered with a lid made of orange-colored lucite. The safe compartment was illuminated by a 10-watt bulb located in the center of the lid and had a grid floor made of 6 mm diameter aluminum bars separated 15 mm center-to-center. The punishment compartment was dark and had V-shaped lateral walls made of stainless steel plates, that continued with half the floor. There was a slot of 15 mm separating each half-floor, which were connected to a stimulator (Grass, model S 48) in series with a constant current unit (Grass, model CCU 1A). Thus, when the animals entered the punishment compartment, they were in contact with both half-floors producing a short circuit and receiving a footshock when the stimulator was turned on. The conditioning chamber was inside a sound-deadening room, illuminated with a dim light and equipped with background masking noise. During training, subjects were placed inside the lighted (safe) compartment and 10 s later the guillotine door was raised, permitting the access to the dark (punishment) compartment. The latency to enter with all four paws inside the latter compartment (training latency) was measured. Immediately afterwards, the door was closed and a footshock of square pulses of 2.5 mA, 100 V, 15 ms pulse duration, and 15 pps, was delivered. After 5 s, the door was opened again thus allowing the rat to escape; the escape latency was computed. Once in the safe compartment the door was closed, the footshock was turned off and the animal remained there for 30 s, before being gently withdrawn and put back in its home cage. The retention session was programmed 24 h later in the same manner of the training one, except for the delivery of the footshock. The latency to enter the dark compartment (retention latency, RL) was recorded, and if an animal did not cross within 10 min to this compartment an RL score of 600 s was assigned and the session ended. The drugs used in this study were: pirenzepine dihydrochloride (Sigma, St. Louis, MO), biperiden lactate (Akineton®, Knoll, Mexico), trihexyphenidyl hydrochloride (RBI, Natick, MA) and (-)-scopolamine hydrobromide (Sigma, St. Louis, MO). All drugs were dissolved in distilled water and injected ip in a volume of 1 ml/kg, immediately after training. The doses tested for the three M1 antagonists were 2, 4, 8, and 16 mg/kg, and for scopolamine 4, 8, and 16 mg/kg. Additionally, two control groups, one intact and one injected with distilled water served as controls. The doses of scopolamine were chosen based on previous experience where the same training procedure was followed; it was found that 2 and 4 mg/kg did not induce memory impairments, 6

mg/kg produced a retention deficit of about 50%, and 8 and 12 mg/kg produced a marked amnesic state [6]. Independent Kruskal-Wallis ANOVA tests were used to compare training, escape, and retention latencies for the different doses of each drug; in each of these analyses the two control groups were included. When appropriate, the Mann-Whitney U test was computed for comparisons between pairs of groups.

There were no significant differences among the groups regarding training and escape latencies. Figure 1 depicts the effects of all four drugs on RL during retrieval testing, as well as sample size of each group. As shown in this figure, posttraining administration of biperiden, trihexyphenidyl, and scopolamine produced a clear reduction of RL in a dose-related fashion. Pirenzepine treatment was without effect at all doses tested. Independent Kruskal-Wallis ANOVA's revealed significant differences for the groups treated with biperiden ($H[5] = 18.4, p < 0.002$), trihexyphenidyl ($H[5] = 17.2, p < 0.004$), and scopolamine ($H[4] = 22.6, p < 0.0002$). Post-hoc comparisons showed that there was not a significant difference between the main control (water injected) group and the intact group; however, the groups treated with biperiden (4, 8, and 16 mg/kg), and with trihexyphenidyl or scopolamine (8 and 16 mg/kg), significantly differed from the intact and the water injected groups (p 's ranging from 0.03 to 0.001).

The main finding of the present study was that selective blockade of the M1 muscarinic receptor subtype produced a dose-related impairment in memory consolidation of inhibitory avoidance. Two M1 antagonists, biperiden and trihexyphenidyl, shared the capability to disrupt memory consolidation with the non-selective antimuscarinic, scopolamine. Therefore, it can be argued that the well documented amnesic activity of this drug and other non-selective muscarinic antagonists such as atropine [12, 17, 24], may be mediated, at least partially, by its action on M1 receptors. The results also show that systemic injection of pirenzepine was ineffective; since this drug does not readily penetrate into the brain [4, 26], it is possible that, at the doses tested in this experiment, pirenzepine induced only a peripheral blockade, thus supporting the view for a role of the central population of M1 receptors in the consolidation of inhibitory avoidance learning. Despite the fact that previous reports have shown amnesic effects of systemically administered pirenzepine on working memory [4] and inhibitory avoidance [26], the effective doses used in these studies were much higher (i.e., 30 and 75 mg/kg, respectively) than those in the present work, perhaps explaining the apparent discrepancy between these investigations. The finding that biperiden and trihexyphenidyl were as effective as scopolamine to induce amnesia suggests that M1 receptors are critical for

inhibitory avoidance consolidation. This view is in line with previous reports which indicate that acquisition and retrieval of various types of learning can be impaired by M1 receptor blockade [4, 5, 8, 15, 19, 25]; to our knowledge, this is the first report in which memory consolidation was studied using selective antagonists of this subtype of muscarinic receptors. In contrast to other studies, animals were trained and tested in a drug-free condition, thus assuring no interference with motivational, sensory or motor mechanisms necessary for behavioral performance of the task. As pointed out in the Introduction, the preferential distribution of the M1 receptor subtype in forebrain areas which mediate memory storage, suggests that this receptor may play an important role in mnemonic phenomena. This hypothesis has been further strengthened by several studies showing that intracerebroventricular or intrahippocampal injections of pirenzepine disrupt acquisition and expression of different conditioned responses [5, 13, 14, 15, 19]. Interestingly, recent biochemical experiments show an upregulation of M1 receptors without modification of M2 receptors in neostriatum, hippocampus and cerebral cortex as a result of inhibitory avoidance learning [17]. There is a coexistence of M1 and M2 receptor subtypes in telencephalic regions namely, the hippocampus, thalamus, amygdala, striatum and cortex [11, 23], where the M2 subtype primarily belongs to the presynaptic autoreceptor population [for references see 1, 18]. Even though the selective antimuscarinic drugs used in this study bind preferentially to M1 receptors, they may also interact with other muscarinic receptor subtypes when administered in high doses. Nevertheless, an involvement of M2 receptors in the disrupting effect on memory observed after the administration of biperiden and trihexyphenidyl seems unlikely, since M2 receptor blockade modulates memory processes in an opposite way than that of M1, facilitating acquisition and consolidation of new information, possibly by presynaptic regulation of acetylcholine release [1, 18]. However, the contribution of other muscarinic receptor subtypes on memory consolidation cannot be ruled out. Further investigation is necessary to clarify this point.





REFERENCES

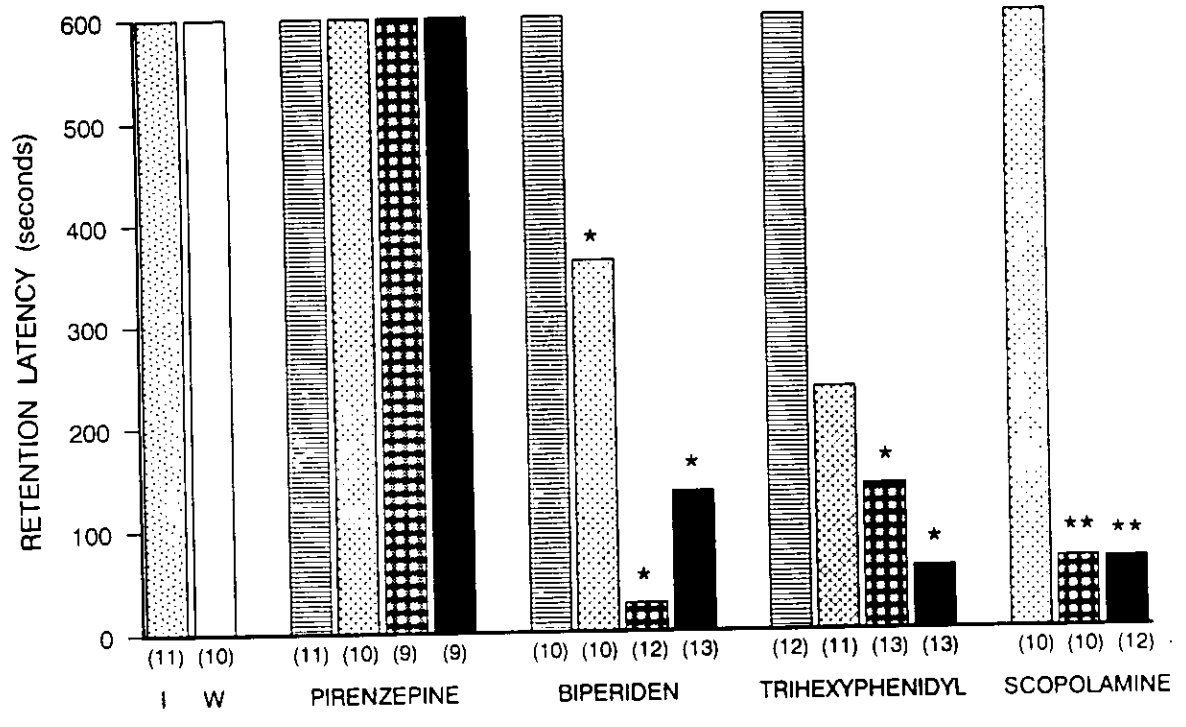
- 1 Baratti, C.M., Opezzo, J.W. and Kopf, S.R., Facilitation of memory storage by the acetylcholine M2 muscarinic receptor antagonist AF-DX 116, *Behav. Neural Biol.*, 60 (1993) 69-74.
- 2 Bolden, C., Cusack, B. and Richelson E., Antagonism by antimuscarinic and neuroleptic compounds at the five cloned human muscarinic cholinergic receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 260 (1992) 576-580.
- 3 Bonner, T.I., Buckley, N.J., Young, A.C. and Brann, M.R., Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. *Science*, 237 (1987) 527-532.
- 4 Bymaster, F.P., Heath, I., Hendrix, J.C. and Shannon, H.E., Comparative behavioral and neurochemical activities of cholinergic antagonists in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 267 (1993) 16-24.
- 5 Caufield, M.P., Higgins, G.A. and Straughan, D.W., Central administration of the muscarinic receptor subtype-selective antagonist pirenzepine selectively impairs passive avoidance learning in the mouse. *J. Pharm. Pharmacol.*, 35 (1983) 131-132.
- 6 Durán-Arévalo, M., Cruz-Morales, S.E. and Prado-Alcalá, R.A., Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Res. Bull.*, 24 (1990) 725-727.
- 7 Fibiger, H. C., Cholinergic mechanisms in learning memory and dementia: A review of recent evidence. *Trends Neurosci.*, 14 (1991) 220-223.
- 8 Hagan, J.J., Jansen, J.H.M. and Broekkamp, C.L.E., Blockade of spatial learning by the M1 muscarinic antagonist pirenzepine. *Psychopharmacology*, 93 (1987) 470-476.
- 9 Hulme, E.C., Birdsall, N.J.M. and Buckley, N.J., Muscarinic receptor subtypes. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30 (1990) 633-673.
- 10 Hunter, A.J. and Roberts, F.F., The effect of pirenzepine on spatial learning in the Morris water maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30 (1988) 519-523.
- 11 Levey, A.I., Kitt, C.A., Simonds, W.F., Price, D.L. and Brann M.R., Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype specific antibodies. *J. Neurosci.*, 11 (1991) 3218-3226.
- 12 McGaugh, J.L. Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Ann. Rev. Neurosci.*, 12 (1989) 255-287.
- 13 Messer, W.S., Jr., Bohnett, M. and Stibbe, J., Evidence for a preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neurosci Lett.*, 116 (1990) 184-189.

- 14 Messer, W.S., Jr., Thomas, G.J. and Hoss, W., Selectivity of pirenzepine in the central nervous system. II. Differential effects of pirenzepine and scopolamine on performance of a representational memory task. *Brain Res.*, 407 (1987) 37-45.
- 15 Ohno, M., Yamamoto, T. and Watanabe S., Blockade of hippocampal M1 muscarinic receptors impairs working memory performance of rats. *Brain Res.*, 650 (1994) 260-266.
- 16 Ortega, A., Diaz del Guante , M.A., Prado-Alcalá, R.A. and Alemán, V., Changes in brain muscarinic receptors after inhibitory avoidance learning. *Life Sci.*, 58 (1996) 779-789.
- 17 Prado-Alcalá, R.A., Fernández-Ruiz, J. and Quirarte, G.L., Cholinergic neurons and memory. In T. W. Stone (Ed.), *Aspects of Synaptic Transmission 2: Acetylcholine, Sigma Receptors, CCK and Eicosanoids, Neurotoxins*, Taylor and Francis Ltd, London, 1993, pp. 59-71.
- 18 Quirion, R., Wilson, A., Rowe, W., Aubert, I., Richard, J., Doods, H., Parent, A., White, N. and Meaney, M.J. Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M2-muscarinic receptor antagonist in aged memory impaired rats. *J. Neurosci.*, 15 (1995) 1455-1462.
- 19 Sala, M., Braidà, D., Calcaterra, P., Leone, M.P., Comotti, F.A., Gianola, S. and Gori, E., Effect of centrally administered atropine and pirenzepine on radial arm maze performance in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 194 (1991) 45-49.
- 20 Smith, G., Animal models of Alzheimer's disease: Experimental cholinergic denervation. *Brain Res. Rev.*, 13 (1988) 103-118.
- 21 Sitaram, N., Weingartner, H. and Gillin, J.C., Human serial learning: Enhancement by arecholine and choline and impairment with scopolamine. *Science*, 201 (1978) 274-276.
- 22 Sweeny, J.E., Bachman, E.S. and Coyle, J.T., Effects of different doses of galanthamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacology*. 102 (1990) 191-200.
- 23 Wei, J., Walton, E.A., Milici, A. and Buccafusco, J.J., m1-m5 muscarinic receptor distribution in rat CNS by RT-PCR and HPLC. *J. Neurochem.*, 63 (1994) 815-821.
- 24 Wilson, W.J. and Cook, J.A., Cholinergic manipulations and passive avoidance in the rat effects on acquisition and recall. *Acta Neurobiol. Exp.*, 54 (1994) 377-391.
- 25 Worms, P., Gueudet, C., Pério A. and Soubrié P., Systemic injection of pirenzepine induces a deficit in passive avoidance learning in rats. *Psychopharmacology*. 98 (1989) 286-288.

Figure 1. Median retention latency displayed by groups of rats injected with pirenzepine, biperiden, trihexyphenidyl, or scopolamine, immediately after training. I, intact group; W, water injected group. probability values: * $p < 0.02$; ** $p < 0.01$; vs W group, Mann-Whitney U test. Numbers inside parenthesis represent sample size.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

2 mg/kg 
 4 mg/kg 
 8 mg/kg 
 16 mg/kg 



EXPERIMENTO 3.**EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS RETARDA LA EXTINCIÓN FORZADA DE LA RESPUESTA DE PREVENCIÓN PASIVA****Gabriel Roldán¹ y Roberto A. Prado-Alcalá²****¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y****²Centro de Neurobiología, UNAM, México, D.F., México*****Introducción***

Numerosas evidencias han demostrado que la acetilcolina (ACh) juega un papel determinante en la adquisición de información y su consolidación en la memoria (Overstreet, 1984; Warburton y Wesnes 1984; Bartus et al. 1985; Decker y McGaugh 1991; Fibiger 1991; Hasselmo y Bower 1993; Prado-Alcalá et al. 1993). Diversas manipulaciones como las lesiones específicas de núcleos colinérgicos cerebrales (Bartus et al. 1985; Smith 1988) y tratamientos farmacológicos que bloquean la transmisión mediada por ACh, resultan en deficiencias en el aprendizaje y la formación de la memoria (Ridley et al. 1984; Prado-Alcalá 1985; Aigner et al. 1991; Spangler et al. 1988; Vanderwolf 1991; Wilson y Cook 1994; Lévy et al. 1997), mientras que la facilitación de la actividad sináptica colinérgica, mejora estas funciones (Sitaram et al. 1978; Prado-Alcalá y Cobos-Zapiain 1979; Flood et al. 1983, 1985; Prado-Alcalá et al. 1984; Sweeny et al. 1990). Es bien sabido que los antagonistas de los receptores muscarínicos como la atropina y la escopolamina, interrumpen el aprendizaje de una gran variedad de tareas condicionadas, incluyendo la prevención activa y pasiva, la resolución de laberintos y la memoria "de trabajo", entre otros (Deutsch 1971; Bammer 1982; Gold y Zornetzer 1983; Bartus et al. 1985; Buresova et al. 1986; Izquierdo 1989; Kelly y Malanowski 1993; Andrews et al. 1994; Castellano et al. 1996). Prácticamente todas estas investigaciones se han centrado en las fases de adquisición y consolidación de la memoria, por lo cual la participación de este neurotransmisor en el proceso de extinción es todavía desconocida. Recientemente, sin embargo, hemos encontrado que el bloqueo de los receptores muscarínicos mediante la administración sistémica de escopolamina es capaz de

revertir la extinción de la respuesta de prevención pasiva de manera dependiente de la dosis y del tiempo (Prado-Alcalá et al. 1994; Roldán et al. 1997). Estos hallazgos fueron discutidos sobre la base de que el tratamiento con fármacos antimuscarínicos podría haber inducido una interferencia sobre la evocación de la memoria de extinción, sin afectar la memoria original de la tarea de prevención pasiva. Por otro lado, se ha reportado un papel diferencial de los distintos subtipos de receptores muscarínicos en los fenómenos mnémicos. Así, se ha observado consistentemente que el antagonismo del subtipo M1 entorpece la adquisición y provoca amnesia retrógrada en varias formas de aprendizaje (Caufield et al. 1983; Hagan et al. 1987; Hunter et al. 1988; Messer et al. 1987, 1990; Ohno et al. 1994; Roldán et al. 1997), mientras que el bloqueo del subtipo M2 tiene efectos contrarios (Baratti et al. 1993; Packard et al. 1990; Quirion et al. 1995). Asumiendo que la extinción de una respuesta condicionada implica la adquisición de un nuevo aprendizaje, esto es, a no responder debido a la ausencia del reforzador (Rescorla 1979; Falls et al. 1992; Prado-Alcalá et al. 1994), es de esperarse que la administración de un agente amnésico durante el desarrollo de la extinción, provoque un retardo en la adquisición del nuevo hábito, es decir, dilate la extinción de la conducta originalmente aprendida. De hecho, los reportes disponibles en la literatura muestran que los mismos tratamientos que impiden la adquisición y consolidación de respuestas condicionadas, provocan, igualmente, una inhibición de su extinción (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996; Swank et al. 1996).

Con el objeto de evaluar experimentalmente esta predicción, se entrenaron ratas en la tarea de prevención pasiva y, posteriormente, se sometieron a pruebas de extinción forzada bajo el efecto del antagonista muscarínico inespecífico, la escopolamina, o del bloqueador selectivo del receptor M1, el biperidén. Las pruebas de retención y de extinción forzada fueron realizadas en días alternados con el fin de determinar la tasa de extinción.

Método

Animales

Ratas macho de la cepa Wistar sin experiencia experimental previa, con un peso de entre 250 y 350 gramos, fueron utilizados como sujetos. Los animales se mantuvieron en cajas individuales de acrílico transparente con acceso irrestricto a agua y comida, y en condiciones de luz y temperatura constantes.

Aparatos

Los experimentos se realizaron en una cámara de condicionamiento de prevención pasiva, la cual consistió en una caja de madera rectangular dividida en dos compartimientos del mismo tamaño (30X30X30 cm c/u), separados por una puerta tipo guillotina de acrílico opaco. Las tapas de ambos compartimientos fueron hechas de acrílico anaranjado transparente, con el fin de facilitar el monitoreo conductual de los animales, sin ser observados por ellos. El comportamiento de seguridad (CS) estaba iluminado por un foco de 15 Watts y tenía como piso un enrejado de barras de aluminio de 0.5 cm de diámetro separadas entre sí por 1 cm. El comportamiento de castigo (CC) era oscuro y tenía las paredes laterales compuestas por dos placas de acero inoxidable en forma de "V", las cuales se continuaban con la mitad del piso; una zanja de 1.5 cm separaba cada mitad del piso. Las placas de acero estaban conectadas a un estimulador (Grass mod. S-48) en serie con una unidad de corriente constante (Grass CCU-1A). De este modo, cuando los sujetos entraban en este compartimiento hacían contacto con ambas placas, produciendo un corto circuito y recibiendo un choque eléctrico.

Procedimiento

Tanto la adquisición, como las pruebas de extinción forzada y de retención se realizaron en la misma caja de condicionamiento. Durante la sesión de adquisición cada rata fue puesta en el compartimiento iluminado y 10 segundos después se abrió la puerta permitiendo el acceso al otro compartimiento. Se registró el tiempo que le tomó a cada animal entrar, con las cuatro patas, al CC (latencia de adquisición). Inmediatamente después de que el sujeto entró a este último compartimiento, la puerta se cerró y se administró un choque eléctrico consistente en un tren de pulsos cuadrados de 100 V, 2.5 mA, 15 ms de duración, a razón de 15 pps durante 5 segundos. Pasado este tiempo, se abrió la puerta, permitiendo al sujeto escapar, y se midió la latencia de escape. Una vez en el compartimiento de seguridad, se cerró la puerta y se dejó al sujeto en el CS durante otros 30 segundos, pasados los cuales se devolvió a su caja hogar. Las sesiones de retención se iniciaron 24 horas más tarde y continuaron cada 48 horas siguiendo el mismo procedimiento que en la sesión de adquisición excepto que el choque eléctrico no fue administrado. Se registró el tiempo de entrada al CC (latencia de retención) en sesiones de 10 minutos. Si el sujeto no entraba a dicho compartimiento en este lapso, se le asignaba una latencia

de retención de 600 y se daba por terminada la sesión. Las pruebas de retención fueron alternadas con sesiones de extinción forzada en las que los sujetos fueron confinados en el CC durante 10 minutos sin posibilidad de escapar. La cámara de condicionamiento se encontraba en un cuarto sonoamortiguado, iluminado con luz tenue y ruido de fondo.

Grupos y tratamientos

Los sujetos se asignaron aleatoriamente en cuatro grupos experimentales y cinco controles. Los grupos experimentales fueron inyectados con escopolamina o biperiden en dosis de 8 mg/kg, 10 minutos antes o inmediatamente después de cada sesión de extinción forzada (grupos ESC-AN, ESC-DES, BIP-AN, BIP-DES); dos grupos controles se inyectaron con solución salina isotónica 10 minutos antes o inmediatamente después de dichas sesiones (SAL-AN, SAL-DES), y los otros tres con escopolamina o biperidén (8mg/kg), o solución salina (NO-EXT-ESC, NO-EXT-BIP y NO-EXT-SAL, respectivamente) los días de extinción forzada, pero no se sometieron a esta maniobra, i.e., no fueron confinados en el CC.

Estadística

Los resultados de las latencias de adquisición, escape y retención fueron analizados mediante pruebas no paramétricas. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de Friedman, seguido de la prueba de Wilcoxon para determinar diferencias estadísticas entre las distintas sesiones de retención para cada grupo. Asimismo, se utilizó prueba de ANOVA de Kruskal-Wallis y la prueba U de Mann-Whitney para hacer las comparaciones entre grupos independientes en las latencias de adquisición, escape y de cada una de las sesiones de retención.

Resultados

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las latencias de adquisición y escape entre los distintos grupos. Sin embargo, se observó una disminución significativa en las latencias de retención en todos los grupos sometidos a extinción forzada, a medida que las sesiones de prueba progresaban [$Xr(4)=15.6$, $p<0.035$; $Xr(4)=23.4$, $p<0.0001$; $Xr(4)=20.1$, $p<0.0005$; $Xr(4)=42.0$, $p<0.0001$, grupos ESC-AN, ESC-DES, BIP-AN, BIP-DES, respectivamente, ANOVA de Friedman], esto es, se detectó una curva de extinción de la respuesta

de prevención pasiva. Dos de los grupos controles no confinados en el CC (NO-EXT-ESC y NO-EXT-BIP), también mostraron una disminución de la latencia de retención que alcanzó significancia estadística [$Xr(4)=13.1$, $p<0.01$, y $Xr(4)=11.2$, $p<0.02$, respectivamente], indicando la tasa de extinción natural que se produce durante las pruebas de retención. En el tercer grupo control (NO-EXT-SAL), se encontró una tendencia similar que no fue estadísticamente significativa [$Xr(4)=8.8$, $p=0.065$].

La Figura 1, muestra las latencias de retención de los grupos tratados con escopolamina (panel A) y biperidén (panel B), así como sus respectivos controles. Como se puede apreciar en esta figura, los animales tratados tanto con escopolamina como con biperidén 10 minutos antes de las sesiones de confinamiento forzado, mostraron un retardo en la extinción de la conducta de prevención pasiva, evidenciado por una latencia de retención significativamente mayor que los grupos inyectados con salina a partir de la tercera prueba de retención (valores de p entre 0.03 y 0.003, U de Mann-Whitney). Por otro lado, los grupos tratados con estos fármacos inmediatamente después de cada ensayo extinción forzada (Figura 1) no mostraron diferencias significativas con respecto a los grupos inyectados con salina. Finalmente, los grupos NO-EXT-ESC, NO-EXT-BIP y NO-EXT-SAL no difirieron significativamente entre sí, al comparar su latencia de retención en cada sesión de prueba ($p>0.05$, Kruskal-Wallis), lo cual indica que ni la escopolamina ni el biperidén interfieren con la ejecución de la tarea 24 horas después de su aplicación (Figura 2).

Discusión

Los resultados de este estudio mostraron que la administración de escopolamina o biperidén previa a cada sesión de confinamiento forzado, redujo la tasa de extinción provocando el mantenimiento de la respuesta de prevención pasiva por un periodo significativamente más prolongado. Esto sugiere que el entrenamiento dado por el confinamiento forzado fue bloqueado por los tratamientos farmacológicos, pero sólo cuando dichos tratamientos se aplicaron antes de esta maniobra experimental, ya que, como lo indican los datos, la inyección de los antimuscarínicos posterior al confinamiento no provocó un retardo significativo en la curva de extinción, si bien se observó una tendencia a ello (Figura 1). El hecho de que los tratamientos post-extinción no hayan sido efectivos para retardar dicho proceso, podría indicar que durante los 10 minutos de confinamiento se produce cierto grado de consolidación del nuevo aprendizaje. En

este sentido, se ha publicado que la aplicación sistémica de escopolamina después del entrenamiento en la tarea de prevención pasiva, afecta la consolidación en un intervalo de 15 minutos, pasados los cuales disminuyen sus efectos amésicos radicalmente (Prado-Alcalá et al. 1981); asimismo, se ha observado un gradiente de consolidación en esta tarea, que puede interrumpirse a través del confinamiento forzado en la CC, siempre y cuando esto se haga inmediatamente después de la adquisición (Ambrogi-Lorenzini et al. 1993)

Como se mencionó en la Introducción, varios autores han encontrado que los tratamientos farmacológicos capaces de interrumpir la adquisición de diferentes condicionamientos son también efectivos para bloquear su extinción; de este modo, se ha reportado que la inhibición de la síntesis de proteínas impide ambos procesos en una prueba de prevención activa (Flood et al. 1977); la administración sistémica o en la amígdala de antagonistas del receptor NMDA, como el AP5 y el MK-801, inhiben el aprendizaje y la extinción de condicionamientos reflejos de tipo Pavloviano (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994, Baker y Azarlosa 1996); por último, la inyección intracerebroventricular de un antisuero específico contra c-Fos tiene efectos similares sobre el condicionamiento aversivo al sabor (Swank et al. 1996). Por lo tanto, nuestros resultados son congruentes con el postulado de que estas dos fases del aprendizaje dependen de los mismos mecanismos bioquímicos y de neurotransmisión (Falls et al. 1992, Baker y Azarlosa 1996; Swank et al. 1996).

El hecho de que los sujetos hayan sido entrenados y probados sin estar bajo la acción de los fármacos, descarta la posibilidad de que un efecto inespecífico sobre componentes motivacionales, perceptuales o de ejecución motora hayan interferido con la adquisición o las pruebas de retención. Sin embargo, debe mencionarse que los animales de los grupos ESC-AN y BIP-AN se encontraban bajo los efectos de estos antimuscarínicos durante todas las sesiones de confinamiento en el CC, lo cual abre la posibilidad de que un fenómeno de *dependencia de estado** (Izquierdo y Dias 1983; Prado-Alcalá et al. 1994) fuera responsable de los efectos observados. Es decir, los sujetos se encontraban en un estado psicofisiológico distinto durante

las sesiones del entrenamiento de extinción (confinamiento forzado) y las de prueba, lo cual podría inducir una percepción alterada del EC (la caja de condicionamiento) provocada por las drogas, y confundir la interpretación de los resultados. Aunque es imposible descartar por completo un efecto de dependencia de estado en los experimentos descritos, es improbable que éste haya sido

el caso, ya que se ha reportado que la administración de escopolamina no afecta la retención de aprendizajes previamente consolidados (Spangler et al. 1988; Aigner et al. 1991), ni provoca dependencia de estado con los niveles de choque empleados en este experimento (Quirarte et al. 1994). Cabe señalar la dificultad de añadir grupos control tratados con escopolamina o biperidén antes de las sesiones de adquisición, confinamiento y prueba, para eliminar la posibilidad de dependencia de estado, debido a la potente actividad amnésica de dichos compuestos (Prado-Alcalá et al. 1993; Roldán et al. 1997). No obstante, cuando se ha considerado este problema (Baker y Azarlosa 1996), los datos no han apoyado este efecto inespecífico.

Los resultados también mostraron que la inyección de escopolamina o biperidén en los días alternos a las sesiones de prueba (grupos NO-EXT-ESC, NO-EXT-BIP y NO-EXT-SAL), no induce amnesia anterógrada, es decir, no modifica la ejecución de la respuesta de prevención pasiva 24 horas más tarde, y, aparentemente, no tiene efectos acumulativos por aplicaciones repetidas que modifiquen el curso de la extinción natural que ocurre durante las sesiones de retención de la tarea de prevención pasiva.

En suma, los hallazgos de este experimento nos permiten concluir que, igualmente a lo reportado en otros estudios y con otros sistemas de neurotransmisión, particularmente el glutamatérgico (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996), la interrupción de la actividad colinérgica impide que se consolide la memoria de extinción, poniendo de manifiesto que la acetilcolina es necesaria tanto para aprender la tarea de prevención pasiva como para extinguirla.

** La dependencia de estado es un fenómeno que consiste en que la imposibilidad de evocar en condiciones normales aquello que se ha aprendido en un estado psicofisiológico alterado (o viceversa), por efecto de manipulaciones exógenas, particularmente farmacológicas. Como resultado de las modificaciones perceptuales y de procesamiento de información que ocurren cuando se aprende o evoca bajo los efectos de una droga y las propiedades de estímulo que puede tener la misma, el sujeto es incapaz de reconocer los estímulos específicos de una situación de aprendizaje. Así, se ha encontrado que la actividad amnésica atribuida a un compuesto dado pueden deberse simplemente a este fenómeno, ya que cuando los sujetos se entrenan y prueban en las mismas condiciones farmacológicas se pierde dicho efecto amnésico*

Referencias

1. Aigner TG, Walker DL, Mishkin M (1991) Comparison of the effects of scopolamine administered before and after acquisition in a test visual recognition memory in monkeys. *Behav Neural Biol* 55: 61-67
2. Ambrogio-Lorenzini C, Bladi E, Bucherelli C, Tassoni G. (1993) Forced extinction as a mean to evaluate consolidation gradient of a passive avoidance response in the rat. *Physiol. Behav.*, 53: 873-877.
3. Andrews JS, Jansen JHM, Linders S, Princen A (1994) Effects of disrupting the cholinergic system on short-term spatial memory in rats. *Psychopharmacol*, 115: 485-494
4. Baker JD, Azorlosa JL (1996) The NMDA antagonist MK-801 blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 110: 618-620
5. Baratti, C.M., Opezzo, J.W. and Kopf, S.R., Facilitation of memory storage by the acetylcholine M2 muscarinic receptor antagonist AF-DX 116, *Behav. Neural Biol.*, 60 (1993) 69-74.
6. Bammer G (1982) Pharmacological manipulations of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding: A review and some new results. *Neurosci Biobehav Rev*, 6: 247-296
7. Bartus RT, Dean RL, Pontecorvo MJ, Flicker C (1985) The cholinergic hypothesis: A historical overview, current perspectives, and future directions. *Ann NY Acad Sci*, 44: 332-358
8. Buresova O, Bolhuis JJ, Bures J (1986) Differential effects of cholinergic blockade on performance of rats in the water tank navigation task and in a radial water maze. *Behav Neurosci*, 100: 476-482
9. Castellano , Cabib S, Pugliesi-Allegria S (1996) Psychopharmacology of memory modulation: Evidence for multiple interaction among neurotransmitters and hormones. *Behav Brain Res*, 77: 1-21
10. Caufield, M.P., Higgins, G.A. and Straughan, D.W., Central administration of the muscarinic receptor subtype-selective antagonist pirenzepine selectively impairs passive avoidance learning in the mouse *J Pharm. Pharmacol.*, 35 (1983) 131-132.
11. Decker MW and McGaugh JL. (1991) The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory systems in learning and memory. *Synapse*, 7: 151-168.
12. Deutsch JA (1971) The cholinergic synapse and the site of memory. *Science*, 174: 788-794
13. Fibiger HC (1991) Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends Neurosci* 14: 220-223
14. Gold P Zornetzer S (1983) The mnemon and its juices: Neuromodulation of memory processes *Behav Neural Biol*, 38: 151-189
15. Hagan, J.J., Jansen, J.H.M. and Broekkamp, C.L.E., Blockade of spatial learning by the M1 muscarinic antagonist pirenzepine. *Psychopharmacology*, 93 (1987) 470-476.

16. Hasselmo ME, Bower JM. (1993) Acetylcholine and Memory. *TINS*, 16: 218-222.
17. Hunter, A.J. and Roberts, F.F., The effect of pirenzepine on spatial learning in the Morris water maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30 (1988) 519-523.
18. Izquierdo I (1989) Mechanisms of amnestic action of scopolamine. *TIPS*, 10: 175-180
19. Izquierdo I and Dias RD. Memory as a state dependent phenomenon: Role of ACTH and epinephrine. *Behav. Neural Biol.*, 38: 144-149, 1983.
20. Kelly PH, Malanowski J (1992) Cholinergic effects on spatial exploration and its memory. *Can J Physiol Pharmacol*, 71: 352-364
21. Messer, W.S., Jr., Bohnett, M. and Stibbe, J., Evidence for a preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neurosci. Lett.*, 116 (1990) 184-189.
22. Messer, W.S., Jr., Thomas, G.J. and Hoss, W., Selectivity of pirenzepine in the central nervous system. II. Differential effects of pirenzepine and scopolamine on performance of a representational memory task. *Brain Res.*, 407 (1987) 37-45.
23. Ohno, M., Yamamoto, T. and Watanabe S., Blockade of hippocampal M1 muscarinic receptors impairs working memory performance of rats. *Brain Res.*, 650 (1994) 260-266.
24. Overstreet DH (1984) Behavioral plasticity and the cholinergic system. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiat* 8: 133-151
25. Packard MG, Regenold W, Quirion R, White N. (1990) Post-training injection of the acetylcholine M2 receptor antagonist AF-DX 116 improves memory. *Brain Res.*, 524: 599-603
26. Prado-Alcalá RA, Cobos-Sapiain GG. (1979) Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. *Neurosci. Lett.*, 14: 253-258.
27. Prado-Alcalá RA, Fernandez-Ruiz J, Quirarte GL (1993) Cholinergic neurons and memory. In: Stone TW (ed) *Aspects of synaptic transmission 2: Acetylcholine, sigma receptors, CCK and eicosanoids, neurotoxins*. Taylor and Francis Ltd, London, pp 59-71
28. Prado-Alcalá RA, Signoret L, Figueroa M. (1981) Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15: 633-636.
29. Quirarte GL, Cruz-Morales SE, Cepeda A, Garcia-Montañez M, Roldán-Roldán G, Prado-Alcalá RA (1994) Effects of central muscarinic blockade on passive avoidance: Anterograde amnesia, state dependency, or both? *Behav Neural Biol* 62: 15-20
30. Quirion, R., Wilson, A., Rowe, W., Aubert, I., Richard, J., Doods, H., Parent, A., White, N. and Meaney, M.J. Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M2-muscarinic receptor antagonist in aged memory impaired rats. *J. Neurosci.*, 15 (1995) 1455-1462.

31. Ramnani N, Yeo CH (1996) Reversible inactivation of the cerebellum prevent the extinction of conditioned nictitating membrane responses in rabbits. *J Physiol* 495.1: 159-168
32. Rescorla RA, de (1979) *Conditioned inhibition and excitation*. Erlbaum, Hillsdale, NJ
33. Roldán G, Bolaños-Badillo E, González-Sánchez H, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1997) Selective M1 muscarinic receptor antagonists disrupt memory consolidation of inhibitory avoidance in rats. *Neurosci Lett* 230: 93-96
34. Sitaram N, Weingartner H, Gillin JC (1978) Human serial learning: enhancement by arecholine and choline and impairment with scopolamine. *Science* 201: 274-276
35. Smith G (1988) Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. *Brain Res Rev* 13: 103-118
36. Spangler EL, Chachich ME, Ingram DK (1988) Scopolamine in rats impairs acquisition but not retention in a 14-unit T maze. *Pharmacol Biochem Behav* 30: 949-955
37. Spear EN (1978) *The processing of memories: Forgetting and retention*. Hillsdale, NJ. Erlbaum.
38. Swank MW, Ellis AE, Cochran BN (1996) c-FOS antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport* 7: 1866-1870
39. Sweeny JE, Bachman ES, Coyle JT (1990) Effects of different doses of galantamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacol* 102: 191-200
40. Vanderwolf CH (1991) Anti-muscarinic drug effects in a swim-to-platform test: dose-response relations. *Behav Brain Res* 44: 217-219
41. Warburton DM, Wesnes K (1984) Drugs as research tools in psychology: Cholinergic drugs and information processing. *Neuropsychobiol* 11: 121-132
42. Wilson, W.J. and Cook, J.A., Cholinergic manipulations and passive avoidance in the rat: effects on acquisition and recall. *Acta Neurobiol. Exp.*, 54 (1994) 377-391.

Figura 1. Latencias de retención durante 5 pruebas alternadas con cuatro sesiones de extinción forzada (EF) en los grupos tratados con solución salina o escopolamina (Panel A), y con solución salina o biperidén (Panel B), en dosis de 8 mg/kg, 10 minutos antes (SAL-AN, ESC-AN y BIP-AN) o inmediatamente después (SAL-DES, ESC-DES y BIP-DES) del confinamiento forzado en el compartimiento de castigo. Los valores se expresan en medias \pm error estándar. ANOVA de Kruskal-Wallis para la tercera, cuarta y quinta sesión de retención, respectivamente: $H(3)=9.6$, $p<0.03$; $H(3)=11.1$, $p<0.02$; $H(3)=12.2$, $p<0.007$. * $p<0.05$; ** $p<0.01$, grupo ESC-AN vs grupos SAL-AN o SAL-DES; + $p<0.01$, grupo ESC-AN vs grupo ESC-DES, U de Mann-Whitney. Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

Figura 2. Latencias de retención durante 5 pruebas alternadas con cuatro sesiones de tratamiento farmacológico (T) con escopolamina o biperidén en dosis de 8 mg/kg, o solución salina (grupos NO-EXT-ESC, NO-EXT-BIP, NO-EXT-SAL). Los valores se expresan en medias \pm error estándar. ANOVA de Kruskal-Wallis para la tercera, cuarta y quinta sesión de retención, $p>0.05$. Entre paréntesis se indica el número de sujetos por grupo.

FIG.1

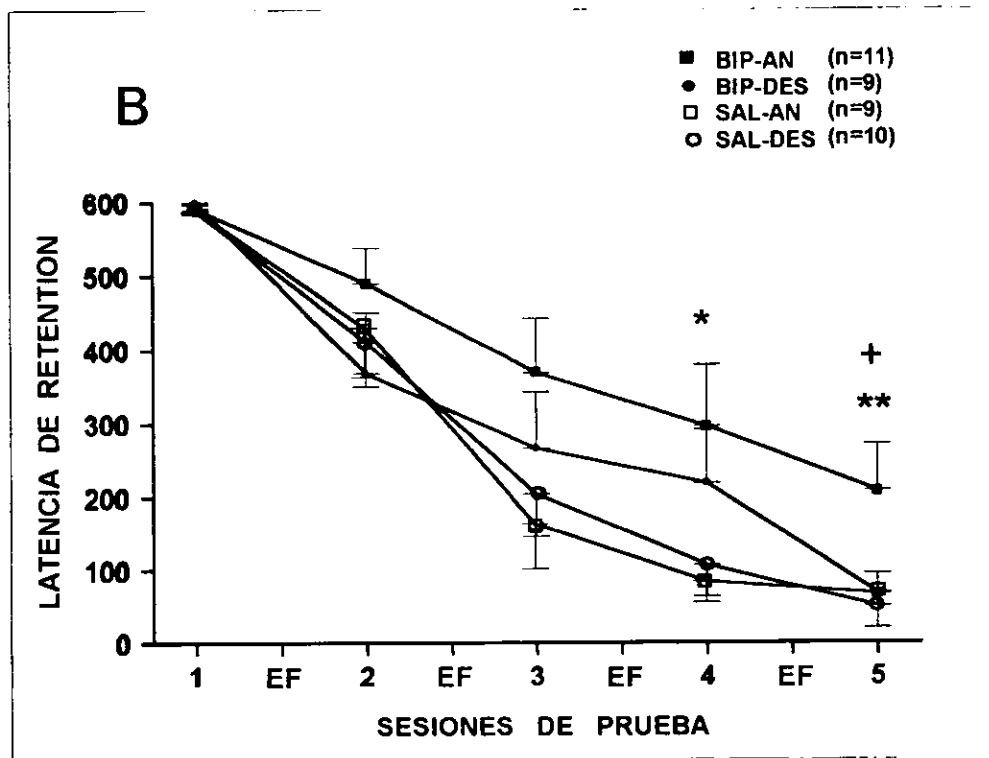
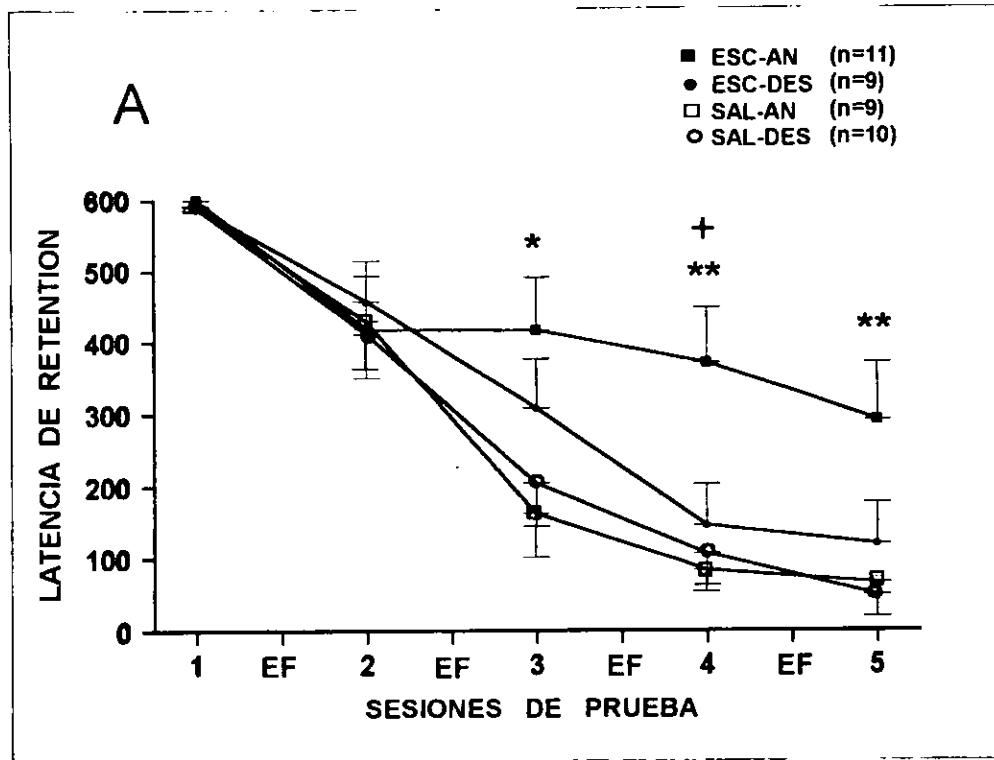
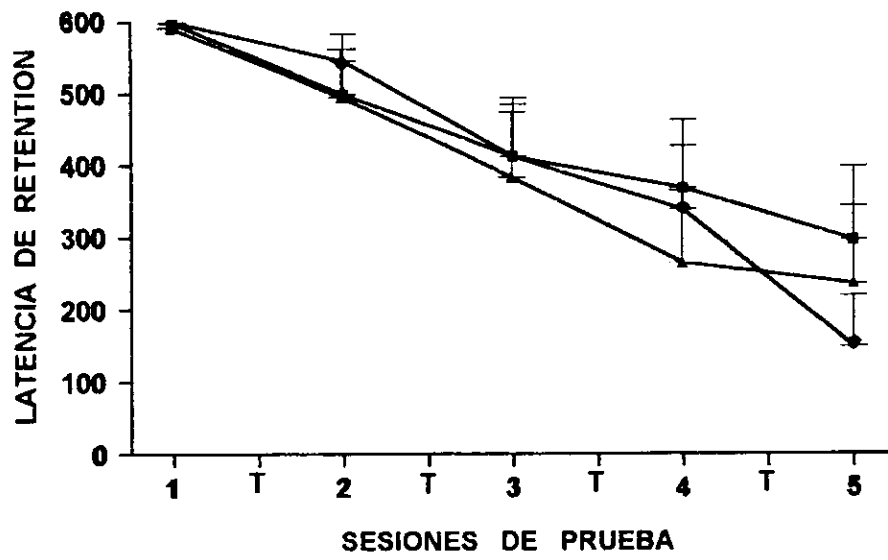


FIG. 2

- NO-EXT-ESC (n=9)
- ▲ NO-EXT-BIP (n=8)
- NO-EXT-SAL (n=8)



EXPERIMENTO 4. (Reporte Preliminar)**LA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA PERO NO INTRAESTRIATAL DE ESCOPOLAMINA REVIERTE LA EXTINCIÓN DE LA CONDUCTA DE PREVENCIÓN PASIVA****Gabriel Roldán y Roberto Prado-Alcalá***Nota aclaratoria:*

El objetivo central que se planteó en el protocolo de esta tesis fue el de explorar la participación de la ACh estriatal en el fenómeno de recuperación de la conducta de prevención pasiva después de su extinción. Sin embargo, las investigaciones previas necesarias para abordar el problema, pospusieron esta serie experimental hasta el final de los estudios. Aunque los resultados que se presentan a continuación son aún preliminares, no apoyan nuestra hipótesis original y nos sugieren que los receptores muscarínicos en el cuerpo estriado no participan en el fenómeno de recuperación post-extinción de la prevención pasiva; sin embargo, serán necesarios estudios adicionales para descartar completamente esta posibilidad.

Introducción

La participación del cuerpo estriado, y en particular del sistema colinérgico estriatal, en la adquisición y consolidación de distintas respuestas condicionadas se basa en múltiples estudios farmacológicos (Bermúdez-Rattoni et al. 1986; Neill y Grossman 1970; Prado-Alcalá et al. 1985, 1993;), bioquímicos (Backer et al. 1982; Ortega et al. 1996) y de lesiones, ya sean permanentes (Neill y Grossman 1970; Sandberg et al. 1984; Yamasaki et al. 1991) o reversibles (Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá 1989; Prado-Alcalá y Cobos-Sapiain 1979; Prado-Alcalá et al. 1980). Los trabajos referidos han mostrado que la interrupción de la actividad colinérgica estriatal deriva en deterioros en el aprendizaje y amnesia retrógrada. Sin embargo, el papel del sistema colinérgico del estriado en el proceso de extinción no ha sido explorado. En diversos estudios se ha encontrado que el bloqueo tanto de las estructuras neurales, como de los mecanismos de transmisión sináptica que interfieren con la adquisición y consolidación de la memoria, también lo hacen con la extinción de la misma conducta condicionada. Por ejemplo, la inactivación reversible por administración *in situ* de muscimol en el núcleo interpósito anterior del cerebelo, inhibe la adquisición y la extinción del reflejo condicionado de

la membrana nictitante en el conejo (Ramnani y Yeo 1996); la infusión sistémica o intra-amigdalina del antagonista selectivo del receptor glutamatérgico tipo NMDA, el ácido 2-amino-5-fosfonovalérico (AP5), bloquea los dos procesos mencionados en la prueba de sobresalto condicionado (Falls et al., 1992). Otro antagonista selectivo del receptor NMDA, el MK801, administrado sistémicamente bloquea igualmente la adquisición y la extinción de un condicionamiento Pavloviano (Baker y Azarlosa 1996) y de una respuesta de hiperalgesia condicionada (Cox y Westbrook 1994). La inhibición de la síntesis de proteínas inducida por anisomicina, cicloheximida o acetoxicicloheximida, inhibe tanto la consolidación de la memoria en una prueba de prevención activa, como su extinción (Flood et al., 1977). Finalmente, la infusión de un antisuero contra c-Fos en el cuarto ventrículo antes del entrenamiento o de la extinción, interrumpe ambos procesos en el condicionamiento aversivo al sabor (Swank et al. 1996). Los hallazgos mencionados apoyan la idea de que tanto el aprendizaje como la extinción de un aprendizaje en particular, dependen no sólo de los mismos sistemas de neurotransmisión, sino también de las mismas estructuras cerebrales. Es sorprendente, sin embargo, que no se hayan reportado investigaciones similares que aborden el sistema colinérgico, siendo éste el más conocido y estudiado en los fenómenos mnémicos.

Recientemente, hemos observado que la administración sistémica de escopolamina bloquea el desarrollo de la extinción de la conducta de prevención pasiva (Roldán et al. 1995), pero paradójicamente, facilita la evocación de esta misma respuesta condicionada, una vez que ésta se ha extinguido (Prado-Alcalá et al. 1994; Roldán et al. 1997). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la participación de los receptores muscarínicos estriatales en el fenómeno de recuperación de la respuesta de prevención pasiva una vez extinguida.

Método

Animales y Cirugía

Ratas macho de la cepa Wistar (250-400 gramos) separadas individualmente y con acceso a agua y comida *ad libitum*, se utilizaron como sujetos. Los animales se mantuvieron en condiciones de iluminación y temperatura constantes a lo largo del experimento, y fueron habituadas estas condiciones al menos una semana previa al inicio de los estudios conductuales.

Los sujetos experimentales fueron implantados con dos cánulas guía de acero inoxidable, fabricadas con agujas calibre 25, dirigidas al cuadrante anterodorsal del cuerpo estriado

(coordenadas AP=0, L=3, DV=4.5, Paxinos y Watson, 1982) utilizando técnicas estereotáxicas convencionales. Se mantuvieron una semana en observación como periodo de recuperación postoperatorio.

Procedimiento

La cámara de condicionamiento y los procedimientos de entrenamiento, extinción y prueba fueron idénticos a los descritos en el Experimento 3 de esta tesis, excepto que sólo se realizaron tres sesiones de confinamiento forzado en vez de cuatro, y los animales no recibieron ningún tratamiento farmacológico durante las mismas. El cuarto día de prueba, los sujetos fueron inyectados con solución salina isotónica o escopolamina por vía intraperitoneal (1 ml/kg) o intraestriatal (1 µl/hemisferio) 10 minutos antes del inicio de la sesión de retención. Los tratamientos fueron como sigue: escopolamina intraperitoneal en dosis de 4 u 8 mg/kg (grupos ESC-4 y ESC-8); escopolamina intracerebral 30 ó 60 µg en cada hemisferio (grupos ESC-30 y ESC-60); salina intraperitoneal o intracerebral (grupos SAL-ip y SAL-ic).

Una vez concluidos los experimentos conductuales se procedió a hacer el análisis histológico de los cerebros en los grupos que recibieron inyecciones en el cuerpo estriado, mediante cortes coronales de 30 micras teñidos por la técnica de Nissl.

Estadística

El análisis de los resultados para las latencias de adquisición y escape entre los distintos grupos se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba U de Mann-Whitney. Para comparar las latencias de retención en cada grupo se utilizó el análisis de varianza de Friedman, seguido de la prueba W de Wilcoxon. Igualmente, se utilizaron el análisis de varianza de Kruskal-Wallis y la prueba U de Mann-Whitney, para comparar el efecto de los tratamientos entre los diferentes grupos (Siegal 1956).

Resultados

No se encontraron diferencias significativas en a las latencias de adquisición y escape entre los grupos. En la Figura 1, se presentan los resultados de las latencias de retención para los tratamientos intrapritoneales (panel A) e intracerebrales (panel B). Las latencias de retención fueron disminuyendo conforme avanzaron las pruebas; los análisis de varianza de Friedman efectuados para cada grupo, revelaron diferencias significativas en todos ellos

[$Xr(3)=12.4$, $p<0.006$, grupo ESC-8; $Xr(3)=20.8$, $p<0.0001$, grupo ESC-4; $Xr(3)=15.1$, $p<0.002$, grupo SAL-ip; $Xr(3)=19.08$, $p<0.0003$, grupo ESC-60; $Xr(3)=20.3$, $p<0.0001$, grupo ESC-30, y $Xr(3)=17.2$, $p<0.0006$], indicando el desarrollo de la extinción (Figura 1). El análisis de varianza de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas en las latencias de retención de los grupos inyectados intraperitonealmente en la última sesión de prueba ($H(3)=7.1$, $p<0.02$); la prueba U de Mann-Whitney reveló un incremento estadísticamente significativo en los grupos ESC-4 ($p<0.01$) y ESC-8 ($p<0.03$) con respecto al grupo SAL-ip. No hubo diferencias entre los grupos inyectados intracerebralmente ($p>0.05$). Por último, la comparación entre todos los grupos tratados con escopolamina (ESC-4, ESC-8, ESC-30 y ESC-60) fue significativa ($H(3)=16.9$, $p<0.0007$, Kruskal-Wallis), mostrando diferencias entre las dos dosis intraperitoneales y las intracerebrales (valores de p entre 0.017 y 0.0014, U de Mann-Whitney).

El examen histológico reveló que en más del 90% se alcanzó la porción antero-dorsal del estriado (Figura 2). Sólo aquellos animales que fueron inyectados bilateralmente en esta región se incluyeron en el análisis estadístico.

Discusión

El presente estudio se realizó con el fin de identificar una de las probables áreas cerebrales involucradas en el fenómeno de recuperación de la conducta de prevención pasiva después de extinguida. Para ello, se hizo una comparación entre los efectos de la inyección intraperitoneal de este antagonista muscarínico y su infusión en el estriado antero-dorsal. Se escogió este núcleo debido a los antecedentes referidos en la literatura que demuestran la importancia de la transmisión colinérgica estriatal en la integración de este condicionamiento (Bermúdez-Rattoni et al. 1986; Neill y Grossman 1970; Prado-Alcalá et al. 1985, 1993; Sandberg et al. 1984; Yamasaki et al. 1991). Sin embargo, los resultados mostraron que el bloqueo de los receptores muscarínicos en el estriado no induce la expresión de la respuesta de prevención pasiva después de su extinción, a diferencia de lo que sucede con la administración sistémica (Prado-Alcalá et al. 1994; Roldán et al. 1997). En este experimento se utilizó un protocolo de extinción forzada por confinamiento inescapable de los sujetos en el compartimiento de castigo, lo cual establece una diferencia con los trabajos mencionados; no obstante, la administración intraperitoneal de escopolamina, revirtió la extinción forzada (Figura 1A), indicando que la falta de efecto de su infusión intraestriatal no es atribuible a las

diferencias en el procedimiento de extinción, sino a la vía de administración del fármaco. Una posible explicación al efecto de revertir la extinción inducido por la escopolamina es que dicha droga sea capaz de interferir con la evocación de la memoria de extinción sin afectar la memoria del aprendizaje original. En este sentido, se ha descrito que la administración de antagonistas colinérgicos en el estriado antes de la prueba de retención, interfiere con la evocación de la respuesta de prevención pasiva, 24 horas post-entrenamiento (Prado-Alcalá et al. 1980). Es factible que la aplicación de escopolamina, a pesar de haberse hecho 7 días después del entrenamiento en el presente estudio, pudiera tener el mismo efecto bloqueador sobre la expresión de esta conducta y, por lo tanto, los animales se comportaran como si nunca hubieran sido entrenados, es decir, desplegando latencias de retención muy breves.

A pesar de que los reportes previos indican que, tanto las áreas cerebrales, como los neurotransmisores involucrados en la adquisición y consolidación de la memoria en una tarea determinada, parecen ser los mismos que intervienen en la extinción de la misma (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996 Swank et al. 1996), no existen estudios en los cuales se hayan explorado las estructuras cerebrales responsables de la reinstalación de una conducta extinguida mediante la aplicación intracerebral directa de fármacos; en las referencias disponibles se han utilizado siempre aplicaciones sistémicas (Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987). Además, estos tratamientos facilitan el aprendizaje, no lo inhiben, como es el caso de la escopolamina. Una explicación posible a esta aparente contradicción es que tanto los agentes que facilitan la formación de la memoria, como los que la inhiben, puedan tener un efecto similar sobre la expresión de una conducta extinguida, debido a que actúan diferencialmente sobre la evocación de cada uno de los engramas que codifican los dos aprendizajes: el original y el de extinción. Así, mientras los compuestos que mejoran la formación de la memoria podrían igualmente estimular la evocación de ésta aún extinguida, los inhibidores de la misma, podrían bloquear la evocación del nuevo aprendizaje, permitiendo la evocación del engrama original. Desafortunadamente, nuestros resultados son muy preliminares como para permitirnos proponer esta interpretación.

En resumen los resultados que se presentan aquí, sugieren que la inhibición de la transmisión colinérgica en el estriado antero-dorsal no es responsable la recuperación de la respuesta de prevención pasiva después de su extinción, pero es prematuro afirmar que dicha estructura no participa en este efecto, ya que podrían existir otras alternativas. Investigaciones futuras serán necesarias para entender cabalmente este hallazgo.

Referencias

1. Backer LA, Glick SA, Green JP, Khandelwal J. (1982) Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one trial passive training. *Neuropharmacol.* 21: 183-185
2. Baker JD, Azorlosa JL (1996) The NMDA antagonist MK-801 blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 110: 618-620
3. Bermúdez-Rattoni F, Mújica-González M, Prado-Alcalá RA. (1986) Is cholinergic activity of the striatum involved in the acquisition of positively-motivated behaviors? *Pharmacol Biochem Behav* 24: 715-719
4. Cox J, Westbrook RF (1994) The NMDA receptor antagonist MK-801 blocks acquisition and extinction of conditioned hypoalgesic responses in the rat. *Q J Exp Psychol* 47B 187-210
5. Falls WA, Miserendino MJD, Davies M (1992) Extinction of fear-potentiated startle: Blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *J Neurosci* 12: 854-863
6. Flood JF, Jarvik ME, Bennett EL, Orme AE, Rozenzweig MR (1977) Protein synthesis inhibition and memory for pole jump active avoidance and extinction. *Pharmacol Biochem Behav*, 7: 71-77
7. Neill DB, Grossman PS (1970) Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of dorsal and ventral caudate of rats. *J Comp Physiol Psychol* 71: 311-317
8. Ortega, A., Diaz del Guante, M.A., Prado-Alcalá, R.A. and Alemán, V., Changes in brain muscarinic receptors after inhibitory avoidance learning. *Life Sci.*, 58 (1996) 779-789.
9. Paxinos G, Watson C (1982) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.
10. Pérez-Ruiz C, Prado-Alcalá RA (1989) Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: Protective effect of negative reinforcer. *Brain Res Bull* 22: 599-603
11. Prado-Alcalá RA, Cruz-Morales SE, López-Miró FA (1980) Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neurosci Lett*, 18: 339-345
12. Prado-Alcalá RA (1985) Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? *Life Sci* 37: 2135-2142
13. Prado-Alcalá RA, Cobos-Sapiain G (1979) Interference with caudate nucleus activity by potassium chloride. Evidence for a 'moving' engram. *Brain Res* 172: 577-583
14. Prado-Alcalá RA, Fernandez-Ruiz J, Quirarte GL (1993) Cholinergic neurons and memory. In: Stone TW (ed) *Aspects of synaptic transmission 2: Acetylcholine, sigma receptors, CCK and eicosanoids, neurotoxins*. Taylor and Francis Ltd, London, pp 59-71
15. Prado-Alcalá RA, Haiek M, Rivas S, Roldán-Roldán G, Quirarte GL (1994) Reversal of extinction by scopolamine. *Physiol Behav*, 56: 27-30
16. Prado-Alcalá RA, Kaufmann P, Moscona R (1980) Scopolamine and Kcl injections into the caudate-

- putamen. Overtraining-induced protection against deficits of learning. *Pharmacol Biochem Behav* 12: 249-253
17. Ramnani N, Yeo CH (1996) Reversible inactivation of the cerebellum prevents the extinction of conditioned nictitating membrane responses in rabbits. *J Physiol* 495.1: 159-168
 18. Roldán G, Bolaños-Badillo E, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1995) Effects of muscarinic blockade during and after extinction of inhibitory avoidance learning in rats. 4th International Behavioral Neuroscience Society Conference, Santiago de Compostela, Spain
 19. Roldán G, Bolaños-Badillo E, González-Sánchez H, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1997) Selective M1 muscarinic receptor antagonists disrupt memory consolidation of inhibitory avoidance in rats. *Neurosci Lett* 230: 1-4
 20. Sandberg K, Sandberg PR, Hanin I, Fisher A, Coyle JT (1984) Cholinergic lesions of striatum impair acquisition and retention of passive avoidance response. *Behav Neurosci* 98: 162-165
 21. Siegal S (1956) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. McGraw-Hill / Kogakusha LTD, Tokyo
 22. Swank MW, Ellis AE, Cochran BN (1996) c-FOS antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport* 7: 1866-1870
 23. Yamasaki N, Kato K, Kurihara E, Nagaoka A (1991) Cholinergic drugs reverse AF64A-induced impairments of passive avoidance in rats. *Psychopharmacol* 103: 215-222

Figura 1. Latencias de retención durante 4 pruebas alternadas con 3 sesiones de extinción forzada (EF) en los grupos tratados intraperitonealmente (Panel A) con escopolamina en dosis de 4 y 8 mg/kg (ESC-4 y ESC-8) o solución salina (SAL-ip), y en los grupos tratados intraestriatalmente con escopolamina en dosis de 30 y 60 μ g/hemisferio (ESC-30 y ESC-60) o solución salina (SAL-ic), 10 minutos antes de la cuarta prueba de retención. Los valores se expresan en medias \pm error estándar. ANOVA de Kruskal-Wallis para la cuarta sesión de retención de los tratamientos intraperitoneales: $H(2)=7.1$, $p < 0.03$; $*p < 0.05$, vs SAL-ip, U de Mann-Whitney. ANOVA de Kruskal-Wallis para la cuarta sesión de retención de los tratamientos intracerebrales, $p > 0.05$. Entre paréntesis se indica el número de sujetos en cada grupo.

Figura 2. Representación esquemática de las secciones histológicas que muestran la localización de la inyección en la porción anterodorsal del estriado. Se indican los sitios de infusión de escopolamina 60 μ g (cuadros), 30 μ g (círculos) y de solución salina (triángulos). Los diagramas fueron tomados del atlas esterotácico de Paxinos y Watson (1982) y las coordenadas están referidas a bregma.

FIG.1

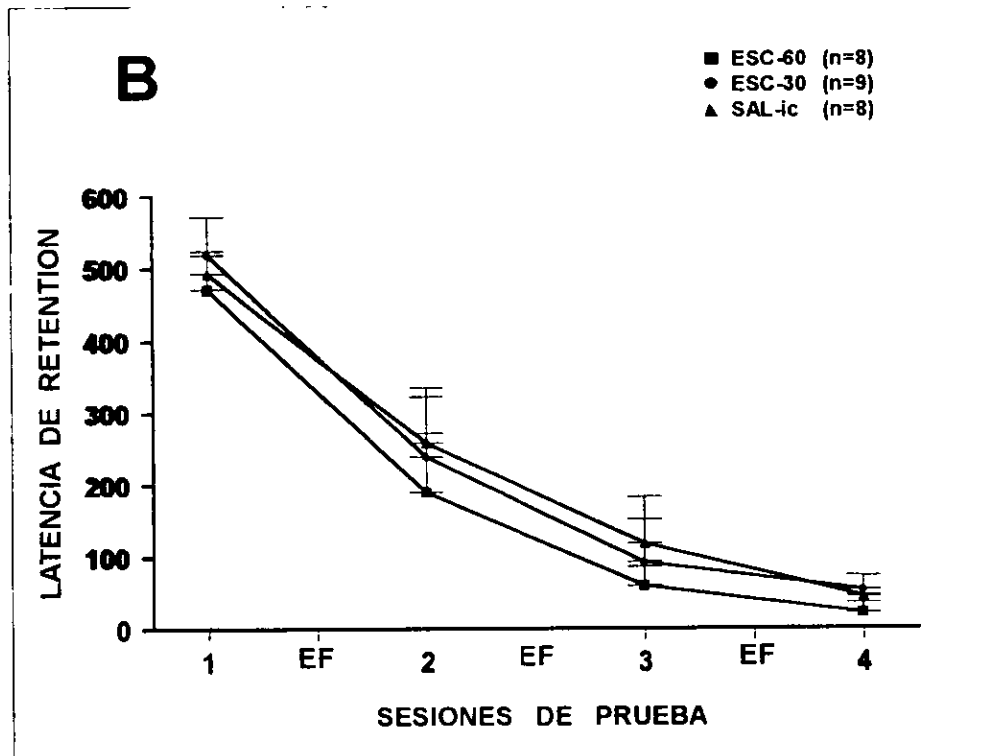
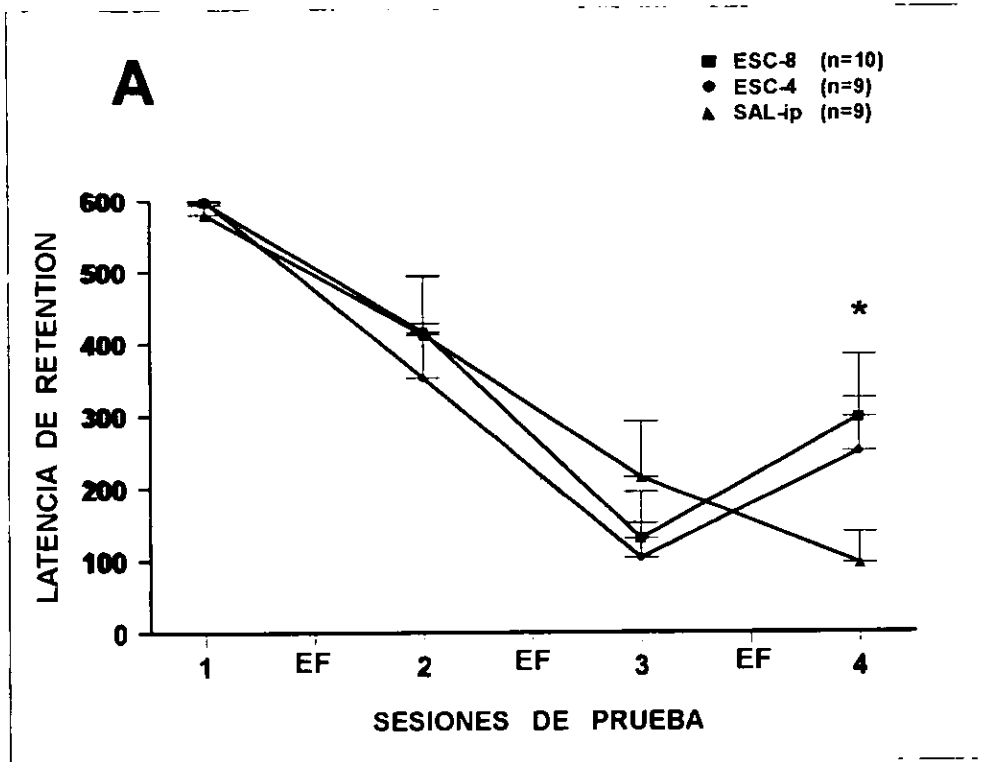
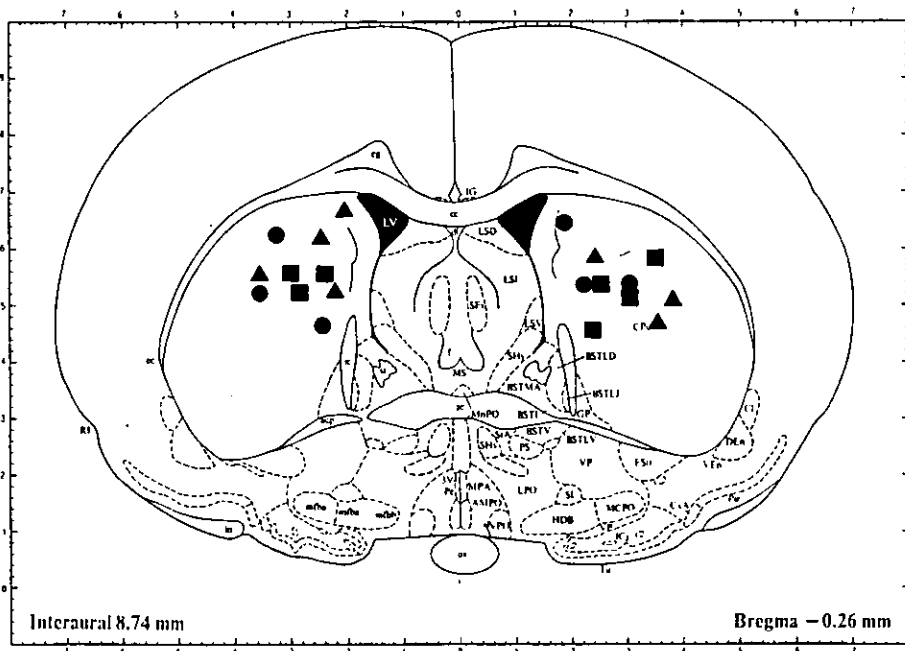
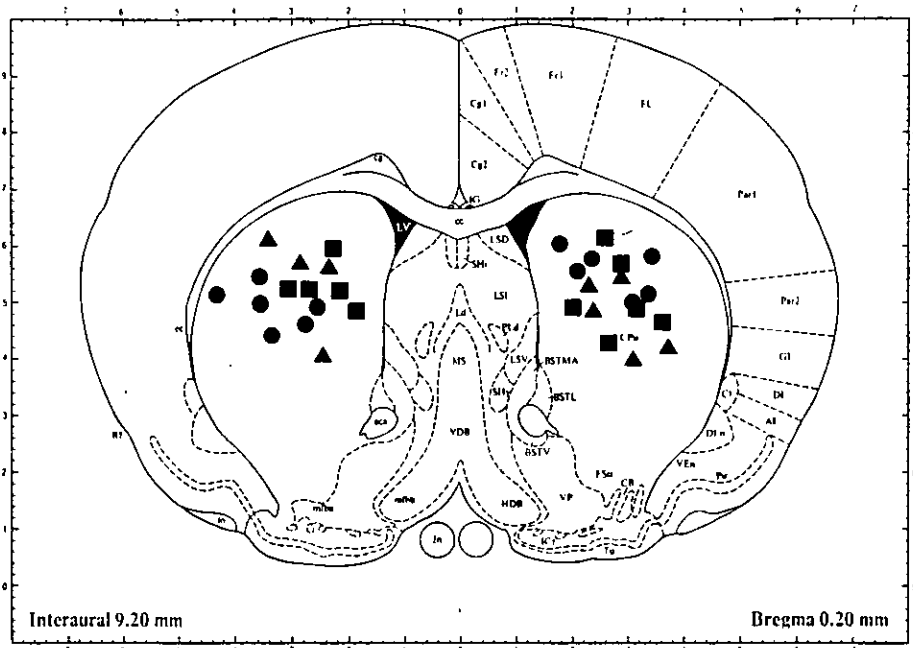


Fig. 2



CAPÍTULO 3

DISCUSIÓN GENERAL

Debido a que en la Introducción he abundado sobre la interpretación teórica de la extinción, y que los resultados de cada uno de los experimentos se han discutido por separado, en esta sección sólo se retomarán las conclusiones más importantes para hacer consideraciones globales sobre el significado biológico de este fenómeno; por ello, esta sección tendrá un carácter más especulativo.

La finalidad de los estudios descritos en la presente tesis fue examinar la participación de los receptores muscarínicos en la extinción de la respuesta de prevención pasiva y en su reinstalación una vez extinguida. Evidentemente, estos dos aspectos de la expresión de una conducta aprendida están íntimamente relacionados, pero se trata de dos procesos fisiológicos distintos. Por un lado, en el desarrollo de la extinción de una conducta están implicadas la adquisición y consolidación de un nuevo aprendizaje (Falls et al. 1992; Bouton 1994; Prado-Alcalá et al. 1994), mientras que en la recuperación de la misma después de su extinción, está involucrada la evocación de la memoria original (Richardson 1984; Lashley 1987; Prado-Alcalá et al. 1994). Como se ha mencionado en la Introducción, estos eventos constituyen fases diferentes del proceso de aprendizaje, que no dependen necesariamente de mecanismos idénticos, aunque puede inferirse que los hay comunes (ver 1.3).

3.1 EL RECEPTOR MUSCARÍNICO M1 Y EL APRENDIZAJE DE PREVENCIÓN PASIVA

Después de analizar detenidamente el efecto de la escopolamina sobre la recuperación de la respuesta de prevención pasiva por espacio de 9 meses (2.1), decidimos enfocarnos en la participación del receptor tipo M1 en el desarrollo de su extinción con el fin de evaluar si la neurotransmisión colinérgica a este nivel compartía mecanismos similares con la adquisición y consolidación de esta misma tarea, tal como se ha reportado en otros modelos (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996; Swank et al. 1996). Sin embargo, tuvimos que estudiar primero el papel de este subtipo de receptores muscarínicos en los dos últimos procesos, ya que no se habían reportado antecedentes directos en la rata, utilizando una estrategia farmacológica adecuada: compuestos con mayor especificidad por el receptor M1, dosis en un rango farmacológico que conserve la selectividad por este subtipo de receptores y un diseño experimental que permita

descartar efectos inespecíficos de las drogas sobre factores no mnémicos que participan en el aprendizaje (motivacionales, perceptuales, motores), además del efecto de dependencia de estado (2.2). Aunado a lo anterior, la conclusión del Experimento 1, como ya hemos visto, fue que la escopolamina podría ejercer un efecto inhibitorio sobre la evocación de la memoria de extinción. Por lo tanto, una premisa importante para interpretar el efecto de los antagonistas muscarínicos M1 en la extinción de una conducta, es que muestren propiedades amnésicas. Por ello, fue necesario verificar experimentalmente el papel de dicho receptor en la consolidación de la memoria de prevención pasiva en la rata (2.2). Cabe señalar que hemos observado la misma actividad amnésica de los antagonistas M1, no sólo en la consolidación de la memoria en esta tarea (2.2) y su extinción (2.3), sino en la recuperación de dicha respuesta post-extinción (Roldán et al. 1994, 1995; no se presentan los datos). Estos resultados han mostrado que la aplicación sistémica de biperidén es capaz de revertir la extinción forzada en un diseño igual al descrito en el Experimento 4. Asimismo, encontramos que esta droga evita el decremento de la respuesta de prevención pasiva provocada por una “extinción masiva” o “implosión”, consistente en un confinamiento forzado durante 30 minutos en el compartimiento de castigo, 1 hora después de la adquisición (no se muestran los datos). Dichos hallazgos aportan evidencias que indican que los bloqueadores del subtipo M1 tienen un perfil farmacológico muy similar al mostrado por los antagonistas muscarínicos inespecíficos sobre todas las fases del aprendizaje. Actualmente, el subtipo M1 es el más estudiado en relación a los procesos de aprendizaje normal y patológico, en vista de que los fármacos que actúan a este nivel, se propone, podrían tener utilidad terapéutica, particularmente en enfermedades neurodegenerativas como la de Alzheimer (Dawson y Iversen 1993; Brandies et al. 1995). En contraste, se han detectado problemas de aprendizaje inducidos por el tratamiento con antiparkinsonianos muscarínicos (que son precisamente aquellos que actúan sobre el receptor M1), como el biperidén (Akineton®) y el trihexifenidil (Artane®), tanto en sujetos normales de edad avanzada, como en pacientes con un compromiso cognitivo (Nakara et al. 1992; Van Speandonck et al. 1993; Silver y Gerainsy 1995). Por otro lado, los antagonistas del receptor M2 muestran características opuestas al del M1, esto es, facilitan el aprendizaje y la formación de la memoria (Baratti et al. 1993; Quirion et al. 1995), probablemente al impedir la regulación inhibitoria de la liberación de ACh, siendo que dicho receptor se encuentra preferentemente en las neuronas presinápticas de las estructuras donde se expresa (Pohorecki et al. 1988; Prusky y Cynader 1990; Richards 1990). No obstante, aún desconocemos cual es la participación de los subtipos M3, M4 y M5 en los fenómenos mnémicos. Resultados

preliminares de nuestro laboratorio indican que el receptor M3 tiene características similares al M1, pero difiere cuantitativamente respecto a su potencia amnésica.

3.2 EL SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LA EXTINCIÓN

Desde finales del siglo pasado se propuso que la variabilidad conductual es un factor que incide en la evolución de las especies (Baldwin 1896, Morgan 1896), pero sólo hasta hace unas décadas surge el interés por los aspectos funcionales de la memoria dentro de un contexto ecológico. Así por ejemplo, en diferentes estudios se han observado capacidades inesperadas de memorización para adaptarse a los retos que imponen las condiciones ambientales en aves (Sherry 1988; Kamil y Balda 1990; Shettleworth 1990), mamíferos (Alcock 1993; Harvey 1994; Byrne 1994), e insectos (Heinrich 1976; Seeley et al. 1991; Alcock 1993). Estas capacidades a veces se correlacionan con adaptaciones morfológicas que han evolucionado favoreciendo la ejecución de tareas específicas como el almacenamiento, la depredación o la polinización. El estudio de estos problemas refuerza la importancia de la experiencia individual en su hábitat natural para la sobrevivencia. Sin embargo, el énfasis de estas investigaciones se centra en los beneficios del aprendizaje. Para entender por qué la extinción, como un aprendizaje contrapuesto o al menos excluyente del aprendizaje inicial, participa activamente en mecanismos adaptativos, es conveniente recordar algunas de las características presentadas en los apartados 2.2 y 2.4, y los antecedentes referidos en ellos (e.g., Richardson et al. 1984; Lashley et al. 1987; Bouton 1993) en relación a que, aparentemente, resulta sencillo restituir una respuesta extinguida mediante diversas manipulaciones, como los cambios contextuales y temporales, o modificaciones fisiológicas (administración de fármacos y hormonas; ver 2.1) Dichas observaciones han llevado a la conclusión de que la memoria original no se pierde y que, además, puede volver a expresarse con relativa facilidad. Esto sugiere que existe cierto balance entre memorizar una conducta y extinguirla, donde el grado de retención de una respuesta y su gradiente de extinción dependerá de su importancia adaptativa. Así, la adquisición de conductas vitales para los individuos de una especie determinada, e.g., la evitación y huida de predadores, se puede llevar a cabo con un sólo ensayo y son sumamente resistentes a extinguirse y a olvidarse (en un contexto natural, un individuo puede no tener una segunda oportunidad para aprender), mientras que otros patrones de comportamiento, e.g., las estrategias de cacería o las afiliaciones sociales, requieren de múltiples ensayos y pueden modificarse constantemente.

Para explicar la función adaptativa de las conductas derivadas de la experiencia, es importante

hacer notar la dicotomía estabilidad-variabilidad en la ecología del aprendizaje y la memoria. Estas capacidades son útiles principalmente cuando un organismo necesita adaptarse a un ambiente variable. Si su entorno es constante, sería igualmente efectivo y, desde luego, menos costoso en términos de energía y desarrollo de estructuras (como el sistema nervioso, DeVogd 1993), el que los individuos respondieran con patrones innatos al reto medioambiental (Alcock 1993). El aprendizaje, por lo tanto, tiene sentido cuando el ambiente cambia; sin embargo, cuando éste varía en extremo, el aprendizaje, la extinción y hasta el olvido adquieren mayor significado: en un entorno impredecible, lo que se aprende hoy será inútil mañana y la versatilidad de la memoria será más adaptativa. Puesto así, las conductas innatas, las aprendidas y las que se aprenden y extinguen continuamente, ocuparían un orden ascendente en la evolución de los organismos hacia la colonización de nichos ecológicos cada vez más competidos.

Para ilustrar lo anterior, revisemos un “modelo” de aprendizaje conocido como el condicionamiento toxicofóbico (cuya variante mejor estudiada es el condicionamiento aversivo a los sabores, CAS). Esta forma de aprendizaje observada inicialmente por Rzoska en 1953 y caracterizada luego por García y colaboradores en 1955, se basa en la capacidad que tienen los animales de asociar diversas cualidades de una presa, como su sabor, olor, forma y color, con las consecuencias viscerales de su ingesta, protegiéndolos de consumir alimentos tóxicos repetidamente. Se ha observado que este tipo de aprendizaje se presenta en todas las especies que se han estudiado, desde moluscos como *Limax maximus* (Gelperin 1975) hasta el humano (García y Robertson y García 1985). La implicación biológica más obvia del condicionamiento toxicofóbico es la elaboración de los hábitos alimenticios. A través de este aprendizaje, los organismos pueden seleccionar aquellas fuentes de alimento, tanto vegetal (en los herbívoros) como animal (en los predadores), que son tóxicas y diferenciarlas de las nutritivas (García y García y Robertson 1985). Sin embargo, en un contexto ecológico dinámico, donde nutrimentos y toxinas varían, donde predadores y presas varían también, y tomando en cuenta una escala temporal geológica, esta capacidad que, como he mencionado, se conserva a lo largo de la filogenia, podría jugar un papel relevante en fenómenos evolutivos sumamente complejos, como la formación de sistemas miméticos, en especial del llamado mimetismo apocemático (Batesiano). Me explico: existen numerosas especies que presentan patrones morfológicos y de coloración muy llamativos que las hacen conspicuas en su nicho ecológico, esto es, son fácilmente detectables por sus forrajeros y predadores (a diferencia de aquellas que presentan mimetismo críptico, y pasan desapercibidas en su ambiente). Una de las características más

sobresalientes de los organismos que presentan dicho apocematismo es que son altamente tóxicos o de sabor desagradable y, aparentemente, no cuentan con ninguna otra defensa (púas, conchas, etc.). Sin embargo, con frecuencia se han podido detectar poblaciones de una o varias especies con patrones morfológicos semejantes (en algunos casos prácticamente idénticos) a los de las especies tóxicas (modelos) y se encuentran asociadas a éstas compartiendo el mismo entorno; a dichas especies se les denomina imitadores. Ahora, consideremos las capacidades mnémicas en este ejemplo. Diversos autores han analizado los beneficios del aprendizaje y la extinción en un sistema mimético en el que un predador requiere discriminar entre un imitador inofensivo y su modelo ponzoñoso (Eastbrook y Jaspersen 1974; Bobisud y Potratz 1976; Speed 1993). El encuentro del predador con el modelo representa un ensayo de condicionamiento en el cual se asocian sus características distintivas con la intoxicación o el sabor repulsivo. Como resultado de este aprendizaje asociativo, el predador evita el consumo del modelo y esta aversión se generaliza a los imitadores debido a la similitud entre ambos (Morrell y Turner, 1978). El predador obtiene un beneficio a través de este aprendizaje, ya que no gastará recursos en buscar y capturar otra presa similar, además de que evitará intoxicarse. No obstante, el predador podría beneficiarse también al olvidar la experiencia y/o reintentar la caza de otra presa, siempre y cuando ésta sea el imitador inofensivo, lo que constituye un ensayo de extinción. Asumiendo unas cuantas premisas, Arnold (1978) postuló un modelo matemático en el que la dinámica de la conducta predatoria evoluciona de tal forma que refleja la dispersión de los modelos y los imitadores en el ambiente. Así, el predador recordaría la experiencia con el modelo lo suficiente para evitar futuros encuentros con él, pero olvidaría al cabo de algún tiempo para intentar depredarlo nuevamente y beneficiarse con la ingesta del imitador. La dinámica de depredación tiene una relación estrecha con la probabilidad de que el predador se encuentre con el modelo o con su imitador, de tal manera que cuando la población del modelo es abundante, el predador estará expuesto a un número mayor de experiencias aversivas (cabe señalar que en ambientes naturales el desarrollo del condicionamiento toxicofóbico se lleva a cabo en varios ensayos, García y García y Robertson 1985). Si esto sucede, el número de imitadores también crecerá, debido a la disminución de su depredación; al aumentar su población, el predador tendrá más encuentros no aversivos con el imitador que provocarán la extinción de la aversión, reduciendo nuevamente la cantidad de imitadores. El mimetismo Batesiano es adaptativo para el imitador en tanto que reduce su depredación; cuando los predadores aprenden a evitarlos, los imitadores se benefician, pero sólo si la población del modelo es suficientemente grande para establecer el aprendizaje aversivo. Esto parece

ocurrir realmente en la naturaleza, ya que se ha observado que las poblaciones de imitadores son relativamente pequeñas a comparación de las del modelo (Brower 1960; Edmunds 1974; Turner 1977). Por su parte, el modelo se beneficiará de la menor abundancia relativa del imitador, debido a que las oportunidades para la extinción de la aversión son escasas y de este modo no se pone en riesgo su forma de defensa. Además, la distribución real de modelos e imitadores en un área determinada no es azarosa, y obedece a diversos factores de selección. Así, la agregación en colonias de modelos e imitadores puede estar determinada por los recursos disponibles o por la conducta de los predadores hacia los animales aislados o rezagados, probablemente por ser más fáciles de distinguir. Sin embargo, una sobrepoblación de imitadores podría competir con el modelo por los recursos, convirtiéndose en una amenaza para la sobrevivencia de este último. En tal caso el predador controla nuevamente el tamaño de la población de imitadores, beneficiando, paradójicamente, a una de sus posibles presas: el modelo.

Un ejemplo clásico donde se puede ilustrar la dinámica de control poblacional referida, es el de la mariposa viceroy, cuya historia evolutiva la ha convertido en imitador de la desagradable y tóxica mariposa monarca. En el caso de la monarca se da un fenómeno adicional que consiste en la migración. La mariposa viceroy, no es una especie migratoria, de tal suerte que en cada ciclo, la presencia de la monarca incrementa la población de viceroy debido a la reducción de su depredación, la cual disminuye nuevamente al migrar la monarca y dejarla sin protección. Las aves predadoras aprenden a evitar a ambas mariposas durante el periodo en que se establece la monarca, pero extinguen dicha conducta una vez que ésta se ha ido. No obstante, pueden ocurrir aprendizajes nuevos en ciertas poblaciones de aves. Por ejemplo, se ha descrito un patrón de ingesta en la urraca mexicana *Aphelecoma ultramarina*, que consiste en disectar a la monarca evitando el contacto con las zonas del abdomen donde se concentran las toxinas (Brower 1969). Aunque sobrevive por un tiempo, la monarca ya no puede reproducirse, lo cual constituye una fuerte presión de selección ya que si un individuo no deja descendencia está, desde el punto de vista evolutivo, muerto. La resultante de este nuevo patrón conductual y su impacto sobre las poblaciones de monarca que se establecen en México, ha contribuido en buena medida a replantear algunos conceptos sobre los sistemas miméticos.

Como hemos visto, la evolución del mimetismo Batesiano es un fenómeno en el que las teorías del aprendizaje y la ecología conductual tienen un lugar común, aunque poco se ha avanzado en este campo. Podríamos entender mejor la regulación de diversos procesos ecológicos como el

citado, echando mano de lo que se sabe sobre la neurobiología del aprendizaje, por otro lado, teniendo una visión adaptativa y del contexto natural de las conductas que estudiamos, hubiéramos avanzado más en la comprensión de su regulación neurofisiológica. Se pueden citar múltiples ejemplos de esto último, pero volvamos al del CAS. Este fenómeno tiene una serie de características que fueron difíciles de aceptar por los teóricos del aprendizaje, ya que no se ajustaban a sus "postulados generales", como la falta de contigüidad temporal de los estímulos, es decir, el que la asociación entre el EC y el EI pudiera darse aún cuando la separación entre ellos fuera de varias horas (García et al. 1966), o el que dicho condicionamiento procediera aún cuando el sujeto se encontrara inconsciente (Buresova y Bures 1977; Bures et al. 1988). Estas objeciones, sin embargo, son infundadas si las analizamos desde un punto de vista adaptativo, ya que es perfectamente explicable por qué el CAS presenta dichas peculiaridades; de hecho, si no se contara con esta perspectiva teórica, sería difícil entenderlas. Así, para que pueda asociarse un sabor con sus efectos se requiere que el alimento sea digerido y absorbido, lo cual se da en un rango de horas; por otra parte, muchas toxinas provocan entre sus efectos estados depresivos (comatosos), lo que hace necesario un mecanismo asociativo del sabor y el malestar a "prueba de errores" (Bures et al. 1988). Si una toxina no puede asociarse, o si provoca la muerte del predador, ésta pierde su utilidad como defensa. Es en este sentido que una aproximación evolucionista a la fisiología del aprendizaje nos provee de un marco conceptual con un valor heurístico inapreciable.

En términos biológicos, no hay razón alguna para asumir que existan leyes generales aplicables a todas las formas de aprendizaje, independientemente de la situación en la que se manifiesten (lo cual ha sido defendido por la psicología comparada durante largo tiempo). Esto no quiere decir que pueda haber principios generales sobre la manera de operar del sistema nervioso en relación a estas funciones. Sin embargo, si vemos al aprendizaje dentro de un marco adaptativo-evolutivo, deberíamos tratar de revelar no solamente algunos de los denominadores comunes entre los mecanismos que regulan las conductas aprendidas, sino también explorar la plasticidad de los mecanismos en sí mismos, ya que estos han sido moldeados a través de la selección natural para lidiar con problemas particulares. Desde hace muchos años, los etólogos (e.g., Tinbergen 1951, Lorenz 1965) han mantenido una postura congruente con estas ideas. La escuela etológica ha considerado la importancia de tratar al aprendizaje dentro de un contexto natural, de tal suerte que éste es visualizado como una capacidad genéticamente programada para ocurrir en puntos específicos de una secuencia conductual, pero no en otros. Al confrontar las múltiples evidencias que ponen en

entredicho las supuestas “leyes generales del aprendizaje”, es conveniente contar con un paradigma conceptual que permita ampliar y ordenar la diversidad de estas leyes. Por tal motivo, un marco teórico que incluya la noción de especialización adaptativa, y que considere al aprendizaje desde esta perspectiva tiene ventajas importantes: 1) nos provee de una herramienta heurística para predecir el tipo de aprendizaje y sus mecanismos en una situación determinada; 2) nos proporciona una forma de entender algunos aspectos básicos de la conducta e inferir su valor adaptativo, y 3) nos permite enfocar la investigación en los puntos nodales que puedan explicar un hecho concreto y no simplemente describirlo hasta el último detalle, como pretenden algunos investigadores. La visión evolutiva de los procesos cerebrales ha demostrado su utilidad en muchas áreas de la neurobiología y ha facilitado nuestra comprensión de diferentes procesos sensoriales e integrativos.

Como he mencionado, la aplicación de los principios básicos de la evolución a los fenómenos mnémicos, nos ofrece un medio prometedor de ordenar y conceptualizar los datos cada vez más dispersos en este campo. Siendo el aprendizaje y la memoria resultado de la selección natural, deberíamos esperar que se desarrollara de manera óptima en aquellas especies y situaciones donde otras soluciones a los problemas ambientales sean menos adaptativas (Anderson 1995). Más aún, como las capacidades para aprender y memorizar son útiles frente a un problema o situación particular, parece razonable que dichas capacidades sean moldeadas por la situación misma, es decir, las funciones cognitivas deben tratarse como cualquier otra característica biológica, sujeta a la selección natural y, por lo tanto, adaptadas para el manejo de retos específicos. En la medida en que un problema de sobrevivencia (como la obtención de comida), presenta demandas o contingencias únicas para cada población, se esperaría encontrar modificaciones apropiadas de las habilidades aprendidas, articuladas en estrecha relación con la conducta instintiva del organismo (ver 1.1). El patrón de conducta descrito en la “úrraca cirujana” *A. ultramarina* es un buen ejemplo.

Cuando nos referimos al aprendizaje, casi siempre pensamos en comportamientos complejos y más, todavía, cuando lo ubicamos en un ambiente natural. No obstante, debemos tomar en cuenta que el refinamiento de patrones motores innatos como correr, balancearse, emitir sonidos, etc. y de funciones perceptuales “simples” como el reconocimiento visual (Hubel y Wiesel 1963), auditivo (Bolhuis 1991) y olfativo (Hudson 1993) tienen un componente aprendido importante; además, para aprender una gran variedad de destrezas, por elementales que parezcan, existe un tiempo crítico de adquisición, posterior al cual será muy difícil o imposible hacerlo (Nottebohm 1967; Tinbergen 1972; Bolhuis 1991). Es allí donde los lindes entre lo innato y lo aprendido no son siempre claros. Un hecho

que da cuenta de lo anterior es el poco éxito que se ha tenido en la reintroducción de diversas especies criadas en cautiverio o en condiciones de semilibertad a su hábitat natural; la enorme mortalidad de estos individuos nos indica que muchas conductas que suponíamos innatas, como el cortejo y el apareamiento, la depredación o la afiliación social, no se desarrollan adecuadamente en ausencia de los estímulos naturales y conducen al fracaso reproductivo y eventualmente, a la muerte.

3.3 EXTINCIÓN Y OLVIDO

A pesar de que he sido enfático a lo largo del presente trabajo en la distinción que hay entre extinción y olvido, posiblemente exista alguna relación entre ambos procesos. Para el análisis neurofisiológico del aprendizaje hemos tenido que elaborar modelos que simplifican nuestras condiciones de estudio y, suponemos, reflejan la realidad. No obstante, tendemos a utilizar diseños experimentales que nos permitan observar la expresión de una memoria completa o la ausencia total de ésta (el sujeto aprende o no aprende). Normalmente desdeñamos aquellas condiciones en que los sujetos manifiestan un aprendizaje parcial o apenas perceptible (medible). Pero en realidad, la memorización y el olvido constituyen un *continuum* en donde no se pueden establecer límites tajantes para el grado de almacenamiento de la información. La plasticidad del SNC opera de tal modo que los engramas de memoria se elaboran, se modifican y desaparecen constantemente. Por lo tanto, el que se extinga una respuesta no necesariamente implica que debe cambiar todo el patrón conductual ni, consecuentemente, todas las modificaciones plásticas que lo codifican (e.g., McCaughey et al. 1997); basta una modificación menor para cancelar su expresión. En tal caso, la extinción podría facilitar la remoción de una parte de la memoria original y así contribuir a olvidarla. La literatura sobre este tema (en contraste con nuestros hallazgos del Experimento 4) es consistente con la idea de que las mismas estructuras y mecanismos neurales intervienen en el aprendizaje de una respuesta determinada y su extinción (Falls et al. 1992; Cox y Westbrook 1994; Baker y Azarlosa 1996; Swank et al. 1996). Si esto es correcto, el impedimento para la evocación de una respuesta extinguida podría deberse a que el nuevo aprendizaje (extinción) comparte algo de la circuitería sináptica que codifica la memoria original. Al fortalecer el establecimiento de la nueva circuitería, la probabilidad de que se evoque el aprendizaje inicial disminuye y, de esta forma, la extinción podría acelerar su olvido. Como he señalado, durante los ensayos de extinción el sujeto está expuesto a algunos de los estímulos (i.e., al EC) que condicionaron el aprendizaje inicial, así que una parte del procesamiento de la nueva

información se lleva a cabo a través de las mismas vías neurales necesarias para la adquisición de la memoria original, lo cual podría explicar por qué la expresión conductual de los dos aprendizajes es incompatible. Sabemos que una gran cantidad de conductas requieren la repetición de la experiencia para consolidar la memoria y permitir su evocación ante situaciones apremiantes, donde el sujeto cuenta con poco tiempo para reaccionar; la extinción tiene sentido si pensamos en lo poco adaptativo que sería para los organismos el dejar al olvido (entendido como la imposibilidad de evocar una respuesta por efecto del tiempo) la tarea de borrar todas aquellas memorias que no son útiles en un momento determinado, y tenerlas que reaprender completamente de ser necesario.

Aunque el olvido es algo que reafirmamos a partir de la experiencia diaria y que desde los trabajos clásicos de Ebbinghaus (1885) ha llamado la atención de los científicos a lo largo de este siglo, su estudio se ha llevado a cabo casi exclusivamente en humanos (McGeoch 1942; Underwood 1948, 1957; Grissom et al. 1960); las investigaciones con animales de experimentación enfocados a analizar cómo sucede este proceso son relativamente recientes (Klein y Spear 1970; Gleitman 1971; Spear 1991; Izquierdo 1982). Sin embargo, todo parece indicar que ha llegado el momento en que los neurofisiólogos han decidido escudriñar sistemáticamente las bases biológicas del misterio que representa esta etapa tardía en la vida de nuestra memoria.

3.4 MODELO DE EXTINCIÓN

Teniendo en cuenta las especulaciones anteriores y los resultados experimentales de esta tesis, sugiero a continuación un modelo de extinción compatible con los hallazgos recientes de la literatura neurofisiológica. La figura 1 se ilustra el proceso de extinción desde el punto de vista conductual, mientras que en la figura 2 se hace una correlación de los fenómenos fisiológicos que suponemos tienen lugar durante este proceso.

MODELO CONDUCTUAL DE LA EXTINCIÓN

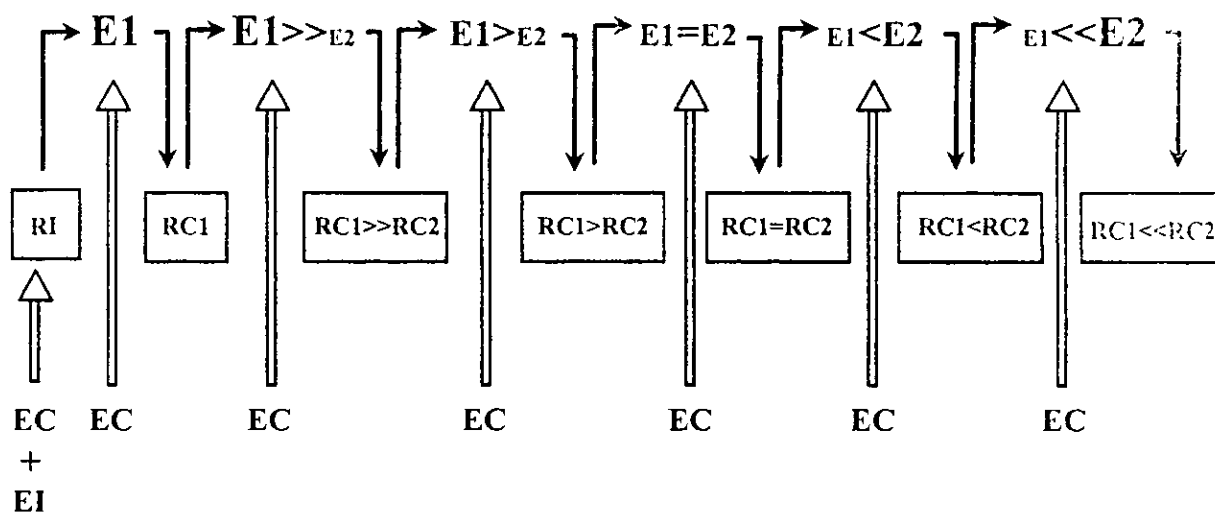


Figura 1. Durante la adquisición, la asociación del estímulo condicionado (EC) con el estímulo incondicionado (EI) resulta en la formación de un engrama primario (E1) que codifica la información para emitir la respuesta condicionada RC1. La presentación posterior del EC en ausencia del EI induce la evocación del EI y la consecuente emisión de la RC1; al mismo tiempo, posibilita la formación de un engrama secundario (E2) que codifica la información de la ausencia del EI, debido a que el sujeto aprende esta nueva situación. A medida que esto se repite, E2 se va consolidando en un engrama primario en tanto que E1 se convierte en secundario, provocando que el sujeto emita la respuesta condicionada RC2 en vez de RC1. De este modo, el aprendizaje de extinción modifica la memoria original E1 por efecto de la adquisición de información nueva durante el desarrollo mismo de las sesiones de extinción.

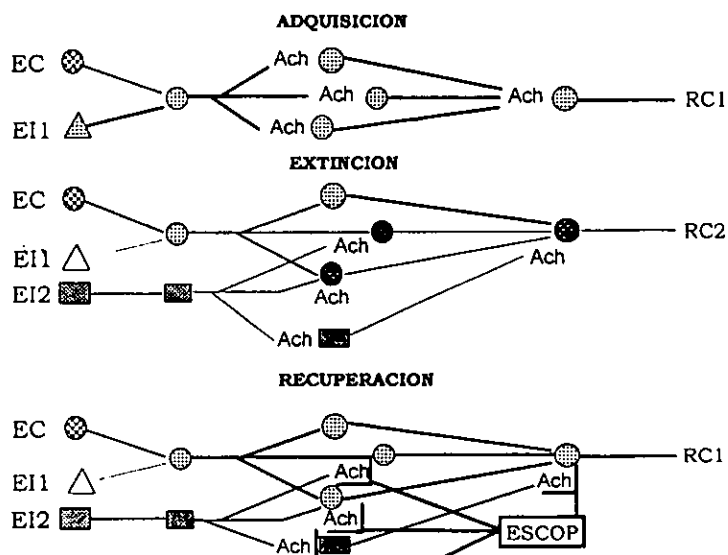


Figura 2. Durante la adquisición, el estímulo condicionado EC y el incondicionado EI1 son percibidos y procesados por las vías aferentes y asociados mediante sinapsis convergentes y divergentes. Estos procesos inician la consolidación de la memoria y requieren la participación de la acetilcolina (ACh). La presentación del EC desencadena la RC1. Durante la extinción se presenta el EC sin el EI1; la ausencia del EI1 constituye una información nueva (EI2) que se asocia con el EC y se codifica en un engrama que comparte algunas sinapsis del circuito original. La consolidación de este nuevo engrama requiere igualmente de la activación colinérgica, aun cuando la respuesta RC2 ya se haya establecido. Al bloquear los receptores muscarínicos con escopolamina (ESCOP) durante la recuperación, las únicas vías permeables para la evocación de la memoria son aquellas que no requieren ACh, es decir las del engrama previamente consolidado, lo cual resulta en la ejecución de la RC1.

3.5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

GENERALES:

1. LA EXTINCIÓN NO ES OLVIDO.

- a. La extinción depende de la experiencia, por lo tanto de un nuevo aprendizaje
- b. El olvido depende del tiempo

2. EL CORRELATO ANATOMOFUNCIONAL DE LA EXTINCIÓN ES UN CAMBIO PLÁSTICO EN EL SISTEMA NERVIOSO QUE AFECTA LA CODIFICACIÓN DE LA MEMORIA ORIGINAL.

- a. La extinción podría facilitar el olvido al compartir algunos de los substratos y mecanismos neurales que codifican la memoria original
- b. Sin embargo, la posibilidad de evocar ambos engramas por separado implica que su codificación es independiente, al menos durante algún tiempo.

3. LA CAPACIDAD DE APRENDER Y EXTINGUIR UNA RESPUESTA DEPENDE DE SU SIGNIFICADO ADAPTATIVO, SIENDO MÁS FÁCIL CUANTO MÁS IMPORTANTE SEA EMITIR DICHA RESPUESTA EN UN CONTEXTO Y UN MOMENTO DETERMINADOS PARA LA SOBREVIVENCIA DEL ORGANISMO.

ESPECÍFICAS:

Experimento 1. El bloqueo sistémico de los receptores muscarínicos induce la recuperación de la respuesta de prevención pasiva extinguida, dependiente de la dosis y del tiempo.

- a. Esto puede deberse a que la escopolamina inhiba la evocación de la memoria reciente (de extinción), sin afectar la original (de prevención pasiva).
- b. La relación lineal entre la dosis y el fenómeno antedicho sugiere un efecto farmacológico específico.
- c. La disminución de la recuperación de la respuesta por el paso del tiempo podría indicar un proceso de olvido.

Experimento 2. El antagonismo del subtipo M1 de los receptores muscarínicos interfiere con la consolidación de la memoria de prevención pasiva.

- a. La pirenzepina (antagonista poco permeable a través de la barrera hematoencefálica) carece de efectos, lo cual apoya la participación de los receptores M1 a nivel central.
- b. La potencia relativa del biperidén y el trihexifenidil es similar a la de la escopolamina sugiriendo que el receptor M1 tiene una función crítica en la consolidación de esta memoria.
- c. No se puede descartar la participación de otros receptores muscarínicos en dicho proceso

Experimento 3. Tanto el bloqueo inespecífico de los receptores muscarínicos, como el selectivo del

subtipo M1, retarda la extinción forzada de la respuesta de prevención pasiva.

- a. La interrupción de la actividad colinérgica impide la consolidación de la memoria de extinción.
- b. Este retardo depende del momento de aplicación de los antagonistas, siendo más efectivos antes de cada sesión de extinción forzada, lo que indica cierto grado de consolidación durante la experiencia del confinamiento.

Experimento 4. La infusión intraestriatal de escopolamina no induce la recuperación de la respuesta de prevención pasiva después de extinguida. Esto puede interpretarse como que:

- a. Los receptores muscarínicos en el cuerpo estriado no participan en la codificación ni en la evocación del engrama de la memoria original (de prevención pasiva).
- b. La escopolamina interfiere con la evocación de ambas memorias, provocando que el sujeto se comporte como si nunca hubiera sido entrenado.

PERSPECTIVAS

Las investigaciones futuras en torno a la extinción deberán contestar una serie de interrogantes cruciales entre las podrían anticiparse las siguientes:

1. Involucra los mismos substratos y mecanismos de plasticidad el aprendizaje y la extinción de una tarea determinada? La escasa literatura disponible sugiere que éste es el caso, sin embargo se requiere de una gran cantidad de estudios que exploren los circuitos neurales, sistemas de neurotransmisión, cambios morfológicos, bioquímicos y electrofisiológicos que subyacen a este fenómeno.
2. Cuál es la dinámica temporal de la extinción? Como hemos visto, el decaimiento de una respuesta no reforzada requiere de múltiples ensayos y depende, además, de la duración de cada uno de ellos, pero aún desconocemos la relación que guardan estos factores.
3. Por qué resulta fácil inducir que una respuesta extinguida reaparezca? Aparentemente, este efecto depende de la importancia adaptativa de la tarea que el sujeto ha aprendido inicialmente, pero puede inferirse que debido a la dificultad de aprender un patrón conductual que se opone a otro ya memorizado, cualquier cambio en las condiciones del nuevo aprendizaje conlleva a la evocación del engrama consolidado.
4. Cómo afecta la extinción a la memoria original? El hecho de que una respuesta se extinga conductualmente a pesar de mantener relativamente intacta su codificación en la memoria implica que los mecanismos para su evocación se encuentran bloqueados. Hemos sugerido que la consolidación

de la memoria de extinción podría afectar a la memoria original imposibilitando eventualmente que esta última se exprese. Sin embargo, no contamos con evidencias experimentales al respecto.

5. Cual es el significado biológico de la extinción? Quizás ésta sea la pregunta fundamental que debemos hacernos para encausar nuestras investigaciones futuras sobre este tema en un contexto adaptativo y evolutivo.

REFERENCIAS

1. Alcock J (1993) *Animal Behavior: An Evolutionary Approach*. Sunderland MA, Sinauer
2. Anderson RW (1995) Learning and evolution: a quantitative genetics approach. *J Theor Biol*, 175: 89-101
3. Arnold SJ (1978) The evolution of a special class of modifiable behaviors in relation to environmental pattern. *Amer Natur*, 112: 415-427
4. Baker JD, Azorlosa JL (1996) The NMDA antagonist MK-801 blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci* 110: 618-620
5. Baldwin JM (1896) A new factor in evolution. *Amer Natur*, 30: 441-451
6. Baratti, C.M., Opezzo, J.W. and Kopf, S.R., Facilitation of memory storage by the acetylcholine M2 muscarinic receptor antagonist AF-DX 116, *Behav. Neural Biol.*, 60 (1993) 69-74.
7. Bobisud LE, Potratz CJ (1976) One-trial versus multi-trial learning for a predator encountering a model-mimic system. *Amer Natur*, 110: 112-128
8. Bolhuis (1991) Mechanisms of avian imprinting: a review. *Biol Rev Camb Phil Soc*, 66: 303-345
9. Bouton ME (1993) Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of pavlovian learning. *Psychol Bull*, 114: 80-99
10. Bouton ME (1994) Conditioning remembering and forgetting. *J Exp Psychol, Anim Behav Proc* 20: 219-231
11. Brandies R, Sapir M, Hafif N, Abraham S, Oz N, Stein E, Fisher A (1995) AF150(S): A new functionally selective M1 agonist improves cognitive performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 51: 667-674
12. Brower JVZ (1960) Experimental studies of mimicry: IV. The reaction of starlings to different proportions of models and mimics. *Amer Natur*, 94: 271-282
13. Brower LP (1969) Ecological chemistry. *Sci Amer*, 220: 22-29
14. Bures J, Buresova O, Krivanek J (1988) *Brain and Behavior: Paradigms for Research in Neural Mechanisms*. Praha, Academia
15. Buresova O, Bures J (1977) The effects of anesthesia on acquisition and extinction of conditioned taste aversion. *Behav Biol*, 20: 41-50
16. Byrne RW (1994) The evolution of intelligence. En: Slater PJB, Halliday TR (Eds) *Behaviour and Evolution*, Cambridge, Cambridge Univ Press
17. Cox J, Westbrook RF (1994) The NMDA receptor antagonist MK-801 blocks acquisition and extinction of conditioned hypoalgesic responses in the rat. *Q J Exp Psychol* 47B 187-210
18. Dawson GR, Iversen SD (1993) The effects of novel anticholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. *Behav Brain Res*, 57: 143-153
19. DeVogd TJ, Krebs JR, Healy SD, Purvis A (1993) Relations between song repertoire and the volume of brain nuclei related to song: comparative evolutionary analyses amongst oscine birds. *Proc Roy Soc Lond*

- B, 254: 75-82
20. Eastbrook GF, Jaspersen DC (1974) Strategy for a predator encountering a model-mimic system. *Amer Natur*, 108: 443-457
 21. Ebbinghaus H (1885) *Das Gedachtnis: Untersuchunen zur experimentallen Psychologie*. Leipzig, Dunker & Humbolt
 22. Edmunds M (1974) *Defence in animals: A survey of anti-predator defences*. Harlow, England, Longman
 23. Falls WA, Miserendino MJD, Davies M (1992) Extinction of fear-potentiated startle: Blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *J Neurosci*, 12: 854-863
 24. Garcia J, Garcia y Robertson R (1985) The evolution of learning mechanisms. *The evolution of learning mechanisms. Amer Psychol Assoc: Master Lecture Series*, 4: 191-243
 25. Garcia J, Kimmeldorf J, Koelling RA (1955) A conditioned aversion towards saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122: 157-158
 26. Garcia J, Ervin FR, Koelling RA (1966) Learning with prolonged delay reinforcement. *Psychon Sci*, 5: 121-122
 27. Garcia y Robertson R, Garcia J (1985) X- rays and learned taste aversions. En: Burish TG, Levy MS (Eds), *Cancer Nutrition and Eating behavior: A Biobehavioral Perspective*, Lawrence Earlbaum Ass, Hillsdale, NJ, pp 11-41
 28. Gelperin A (1975) Rapid food-aversion learning by a terrestrial mollusk. *Science*, 189: 567-570
 29. Gleitman H (1971) Forgetting of long-term memories in animals. En: Hoing WK, James PHR (Eds) *Animal Memory*, New York, Academic Press, 1-44
 30. Grissom RJ, Suedfield P, Vernon J (1960) Memory for verbal material: Effects of sensory deprivation. *Science*, 138: 429-430
 31. Harvey IF (1994) Strategies of behaviour. En: Slater PJB, Halliday TR (Eds) *Behaviour and Evolution*, Cambridge, Cambridge Univ Press
 32. Heinrich B (1976) The foraging specializations of individual bumblebees. *Ecol Monog*, 46: 105-128
 33. Hubel DH, Wiesel TN (1963) Receptive fields of cells in striate cortex of very young, virtually inexperienced kittens. *J Neurophysiol*, 26: 994-1002
 34. Hudson R (1993) Olfactory imprinting. *Curr Op Neurobiol*, 3: 548-552
 35. Izquierdo I (1982) β -endorphin and forgetting. *TIPS*, 8: 455-457
 36. Kamil AC, Balda RP (1990) Spatial memory in seed-caching corvids. En: Bower GH (Ed) *The psychology of learning and motivation*, 26: 1-25, San Diego, CA, Academic press
 37. Klein SB, Spear NE (1970) Forgetting by the rat after intermediate intervals ("Kamin Effect") as a retrieval failure. *J Comp Physiol Psychol*, 71: 165-170
 38. Lashley RL, Richardson R, Riccio DC (1987) ACTH- and noncontingent footshock-induced recovery of an

- extinguished passive avoidance response. *Physiol Behav*, 40: 677-680
39. Lorenz K (1965) *Evolution and modification of behavior*. Chicago Univ Press, Chicago, Ill.
40. McCaughey SA, Giza BK, Nolan BJ, Scott TR (1997) Extinction of a conditioned taste aversion in rats: II. Neural effects in the nucleus of the solitary tract. *Physiol Behav*, 61: 373-379
41. McGeoch JA (1942) *The Psychology of Human Learning*. New York, Logmans Green
42. Morgan CL (1896) On modification of variation. *Science*, 4: 733-740
43. Morrell GM, Turner JRG (1970) Experiments on mimicry: I. The response of wild birds to artificial prey. *Behaviour*, 36: 116-130
44. Nakara BRS, Margolis RB, Gfeller JD, Grosberg GT, Sata LS (1992) The effect of a single low dose of trihexyphenidyl on memory functioning in the healthy elderly. *Int Psychogeriatr*, 4: 207-213
45. Nottebohm F (1967) The critical period of song learning. *Ibis*, 111: 386-387
46. Pohorecki R, Head R, Domino EF (1988) Effects of selected muscarinic cholinergic antagonists on [³H] acetylcholine release from rat hippocampal slices. *J Pharmacol Exp Ther*, 244: 213-217
47. Prado-Alcalá RA, Haiek M, Rivas S, Roldán-Roldán G, Quirarte GL (1994) Reversal of extinction by scopolamine. *Physiol Behav*, 56: 27-30
48. Prusky G, Cynader M (1990) The distribution of M1 and M2 muscarinic acetylcholine receptor subtypes in the developing cat visual cortex. *Dev Brain Res*, 56: 1-12
49. Quirion R, Wilson A, Rowe W, Aubert I, Richard J, Doods H, Parent A, White N, Meaney MJ (1995) Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M2-muscarinic receptor antagonist in aged memory impaired rats. *J Neurosci*, 15: 1455-1462
50. Richards MH (1990) Rat hippocampal muscarinic autoreceptors are similar to the M2 (cardiac) subtype: comparison with hippocampal M1, atrial M2, and ileal M3 receptors. *Br J Pharmacol*, 99: 753-761
51. Richardson R, Riccio DC, Devine L (1984) ACTH-induced recovery of extinguished avoidance responding. *Physiol Psychol*, 12: 184-192
52. Roldán G, Bolaños E, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA (1995) Effects of muscarinic blockade during and after extinction of inhibitory avoidance learning in rats. Fourth Conference of the International Behavioral Neuroscience Society, Santiago de Compostela, España
53. Roldán G, Quirarte GL, Salado R, Prado-Alcalá RA (1994) Efecto de diversos antagonistas muscarínicos sobre la tarea de prevención pasiva (PP) después de su extinción natural y forzada XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas, Montevideo, Uruguay.
54. Rzoska J (1953) Bait shyness, a study of rat behaviour. *Br J Anim Behav*, 1: 128-135
55. Seeley TD, Camazine S, Sneyd J (1991) Collective decision-making in honey bees: how colonies choose among nectar sources. *Behav Ecol Sociobiol*, 28: 277-290
56. Shettleworth SJ (1990) Spatial memory in food-storing birds. *Phil Trans Roy Soc B*, 329: 143-151

57. Silver H, Geraisy N (1995) Effects of biperiden and amantadine on memory in medicated chronic schizophrenic patients. *Br J Psychiat*, 166: 241-243
58. Spear NE (1971) Forgetting as retrieval failure. En: Hoing WK, James PHR (Eds) *Animal Memory*, New York, Academic Press
59. Speed MP (1993) Mullerian mimicry and the psychology of predation. *Anim Behav*, 45: 571-580
60. Swank MW, Ellis AE, Cochran BN (1996) c-FOS antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport* 7: 1866-1870
61. Tinbergen N (1951) *The study of instinct*. Clarendon Press, Oxford, UK
62. Tinbergen N (1972) The innate disposition to learn. En: Seligman MEP, Hager JL (Eds), *Biological boundaries of learning*, New York, Appleton-Century-Crofts
63. Turner J R G (1977) Butterfly mimicry: The genetical evolution of an adaptation. *Evol Biol*, 10: 163-206
64. Underwood BJ (1948) Spontaneous recovery of verbal associations. *J Exp Psychol*, 38: 429-439
65. Underwood BJ (1957) Interference and forgetting. *Psychol Rev*, 64: 49-60
66. Van Spaendonck KPM, Berger HJC, Horstink MWI, Buytenhuijs EL, Cools AR (1993) Impaired cognitive shifting in parkinsonian patients on anticholinergic therapy. *Neuropsychol*, 31: 407-411