

31962

1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

EFFECTO DE ANTAGONISTAS GABAERGICOS Y DE DOS
ANSIOLITICOS SOBRE LA ADQUISICION Y LA RETENCION
DE UNA TAREA DE EVITACION INHIBITORIA

T E S I S

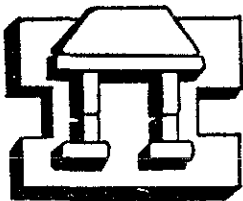
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN FARMACOLOGIA CONDUCTUAL

P R E S E N T A

I.B.Q. MARIA EUGENIA GARIN AGUILAR

145842



IZTACALA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SARA E. CRUZ MORALES

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEXICO

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Psicofarmacología de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala bajo la dirección de la Dra. Sara E. Cruz Morales.

DEDICATORIA

A mis padres:

**Dr. Francisco Garín Camacho y
Profra. Margarita Aguilar Avellaneda
Con cariño y profundo agradecimiento.**

A mis Hermanos:

**Mago, Norma, Nadia, Rosalba, Gina, Mireya, Diana,
Ariadna y Francisco
A quienes estoy unida por el lazo maravilloso e
indisoluble del amor fraterno.**

A mis cuñados y sobrinos:

Por su cariño y ternura sinceros.

A la Familia Valencia del Toro:

Con quien he compartido momentos inolvidables.

A mi esposo Gustavo:

**A quien admiro y amo profundamente
Gracias por tu apoyo constante.**

A mis hijos Amílcar Ulises y Mara Itzel:

Quienes constituyen el regalo más bello de la vida.

Al Dr. Marcos Soto Hernández:

**A quien agradezco su amistad
y el impulso brindado.**

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sara E. Cruz Morales:

Por el papel que jugó en mi formación y su valioso apoyo en la realización de este trabajo.

A los miembros del jurado:

**Mtra. Rosalva Cabrera Castañón
Dr. Guillermo Cobos Zapián
Mtro. J. C. Pedro Arriaga Ramírez
Mtro. Juan Manuel Mancilla Díaz**

Por la revisión del trabajo y sus atinadas sugerencias para mejorarlo.

A mis compañeros:

**Laura
Mary
Lety
José y
Gabriel**

Por sus observaciones durante los seminarios y por compartir conmigo este momento.

CONTENIDO

RESUMEN	i
CAPITULO 1 APRENDIZAJE Y MEMORIA	
TIPOS DE APRENDIZAJE	2
CONDICIONAMIENTO CLASICO	2
CONDICIONAMIENTO OPERANTE	4
EVITACION INHIBITORIA	6
LA MEMORIA	8
ETAPAS DE LA MEMORIA	9
CONSOLIDACION DE LA MEMORIA	13
CAPITULO 2 ASPECTOS GENERALES DE NEUROFISIOLOGIA	
ACETILCOLINA	21
SEROTONINA (5-HT)	29
ACIDO GAMMA-AMINOBUTIRICO (GABA)	38
CAPITULO 3 SISTEMAS NEUROQUIMICOS Y SU IMPLICACION EN LOS PROCESOS MNEMONICOS Y LA ANSIEDAD	
NEUROFISIOLOGIA DEL APRENDIZAJE Y LA ACETILCOLINA	52
GABA Y PROCESOS DE MEMORIA Y APRENDIZAJE	56
NEUROFARMACOLOGIA DEL APRENDIZAJE Y 5-HT	62
MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE AGENTES ANSIOLITICOS	68
LA RESPUESTA DE EVITACION COMO MODELO PARA EVALUAR ANSIEDAD	70
JUSTIFICACION	72
OBJETIVOS	74
CAPITULO 4 MATERIALES Y METODOS	
METODO GENERAL	76
CAPITULO 5 RESULTADOS Y DISCUSION	
EXPERIMENTO 1	81
EXPERIMENTO 2	88
EXPERIMENTO 3	114
EXPERIMENTO 4	134
CAPITULO 6 DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES	140
CAPITULO 7 REFERENCIAS	148

RESUMEN

Datos en la literatura apoyan el punto de vista que los procesos de aprendizaje/memoria y ansiedad pueden estar íntimamente relacionados, sin embargo, otros hallazgos parecen indicar que se trata de procesos independientes. Con el objeto de proporcionar información sobre el papel de los antagonistas GABAérgicos picrotoxina y bicuculina, y de los ansiolíticos diazepam y buspirona sobre los procesos de ansiedad/aprendizaje/memoria, en este estudio se realizaron cuatro experimentos. En el primero se determinó el efecto de la administración post-entrenamiento de diazepam y buspirona en una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo. En el segundo se evaluó el efecto de la pre-administración de los ansiogénicos bicuculina y picrotoxina y de diazepam y buspirona (ansiolíticos) bajo un procedimiento de evitación inhibitoria de ensayo múltiple. Debido a que en el experimento anterior los fármacos se administraron antes del entrenamiento, el tercer experimento se diseñó para determinar la presencia de aprendizaje ligado a estado. Y el último evaluó el efecto de los ansiolíticos sobre la actividad motora, para descartar la posibilidad que los efectos observados durante la tarea de evitación inhibitoria se debieran a un deterioro motor en los sujetos. Los resultados indican que la buspirona produce amnesia retrógrada y que la amnesia anterógrada producida por el diazepam y la escopolamina es de naturaleza distinta. El procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple permitió apreciar el efecto facilitatorio de los ansiogénicos bicuculina y picrotoxina. Se evidenció que ante el incremento en la experiencia de aprendizaje la huella de memoria puede ser ampliamente distribuida en el cerebro. Ante el bloqueo colinérgico es evidente que otros sistemas neuroquímicos participan en los procesos mnemónicos. El procedimiento de evitación inhibitoria permitió detectar el efecto ansiolítico de la buspirona y sugiere la presencia de aprendizaje ligado a estado con la administración de diazepam. Nuestros datos sugieren una disociación entre los efectos ansiolíticos y los de memoria de la buspirona pero no permiten hacer esta disociación con el diazepam. Los datos de actividad motora descartan la posibilidad de interferencia del efecto miorrelajante de los ansiolíticos con la tarea de evitación inhibitoria. Estos datos y los que se obtengan con otros modelos animales permitirán ir estableciendo las múltiples interacciones que existen entre fenómenos tan complejos como el aprendizaje la memoria y la ansiedad.

CAPITULO 1 APRENDIZAJE Y MEMORIA

La mayoría de los individuos del reino animal cuenta con un importante avance evolutivo que les ha ayudado a adaptarse mejor a su medio: el *aprendizaje*.

Los animales filogenéticamente menos desarrollados poseen un repertorio conductual limitado y responden reflejamente ante los cambios de la estimulación circundante. Aquellos que han logrado un mayor avance evolutivo cuentan, además, con respuestas instintivas más complejas que las reflejas; pero aún así, sus patrones de respuesta son restringidos y difícilmente pueden ser modificados.

Los organismos cuyo sistema nervioso es más complejo, son capaces de modificar sus reacciones de un momento a otro en una situación determinada, dependiendo del resultado de sus experiencias en la misma situación o ante circunstancias similares.

Las definiciones de ***aprendizaje*** coinciden en que este proceso es un cambio en la conducta, relativamente permanente, que resulta de la experiencia. Mediante el aprendizaje se origina y mejora la ejecución a través de la experiencia. El cambio de la conducta no debe explicarse en términos de respuestas innatas, factores de motivación, adaptación sensorial; también se excluyen cambios de conducta que son el resultado de la maduración, la senectud o de variables fisiológicas o estados temporales como la fatiga, intoxicación, etc. (Bower & Hilgard, 1973; Kimble, 1969).

La respuesta innata y el aprendizaje

La mayor parte de los organismos cuenta con respuestas que pueden ser provocadas por estímulos específicos a esa respuesta sin ningún aprendizaje previo, tales respuestas no aprendidas se llaman reflejos (innatos) o respuestas instintivas. En general, estas respuestas proporcionan un mantenimiento y una protección conductual automática para el animal desde sus más tempranos contactos con el medio; estos reflejos dependen de la activación neuronal cuya distribución espacial o arquitectónica ha sido determinada genéticamente y que por

lo tanto son más o menos variables en cada especie. En este tipo de reflejos el sujeto responde de una manera estereotipada cada vez que son estimulados los receptores adecuados (Bower & Hilgard, 1973; Kimble, 1969; Reynolds, 1973).

Referirse a una conducta específica innata, significa que se establece en el sistema nervioso de todos los miembros de la especie, como se indicó, independiente de ciertas formas de experiencia. Pero resulta muy difícil clasificar conductas como totalmente innatas o totalmente aprendidas. La expresión de muchos comportamientos instintivos depende de la experiencia o del aprendizaje (Hinde, 1966).

TIPOS DE APRENDIZAJE

La forma más simple de aprendizaje es el **no asociativo**, este se caracteriza porque para presentarse no es necesario que se establezca una asociación entre un estímulo y una respuesta, o entre dos estímulos; a este tipo de aprendizaje corresponden la habituación y la sensibilización.

El aprendizaje **asociativo** implica el establecimiento de una asociación entre un estímulo y una respuesta, o entre dos estímulos. Los principales tipos de aprendizaje asociativo son el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante o instrumental.

Condicionamiento Clásico o Pavloviano

También llamado reflejo condicionado Tipo I o condicionamiento respondiente. Este tipo de aprendizaje se establece apareando (asociando) un estímulo neutro que no produce respuestas reflejas específicas con un estímulo incondicionado que puede producir una respuesta refleja específica. Después de cierto número de asociaciones el estímulo antes neutro es capaz de producir, por sí solo, la respuesta refleja. Después de que el estímulo ha adquirido el poder para evocar la respuesta, recibe el nombre de estímulo condicionado y la respuesta evocada por este estímulo recibe el nombre de respuesta condicionada. En sus experimentos

clásicos, Pavlov estudió en perros la salivación inducida por la presentación de estímulos incondicionados como comida. Una campana se tocaba justamente antes de la presentación del estímulo incondicionado y esto se repetía cierto número de veces hasta que el animal producía saliva cuando se tocaba la campana aunque no se colocara carne en la boca. En este experimento, la carne que se colocaba en la boca era el estímulo incondicionado (**EI**), el estímulo que normalmente produce una respuesta incondicionada particular. El estímulo condicionado (**EC**), era el toque de la campana. Después de que el **EC** y el **EI** habían sido apareados el número suficiente de veces, el **EC** producía la respuesta originalmente evocada sólo por el **EI**.

Si el **EC** se presenta repetidas veces sin el **EI**, llega un momento en que el reflejo condicionado desaparece, esto se llama extinción o inhibición interna. Si un estímulo externo (una luz) es presentado inmediatamente después de aplicar el **EC**, la respuesta condicionada puede no ocurrir (inhibición externa). Sin embargo, si el reflejo condicionado es reforzado de tiempo en tiempo, apareando de nuevo el **EC** y el **EI**, la respuesta condicionada persiste indefinidamente (Ganong, 1974; Mednick, 1992; Pavlov, 1927)

Es obvio que para que ocurriera el condicionamiento, en el ejemplo anterior, el animal debió estar bajo cierto estado motivacional (hambre), pero el condicionamiento pavloviano no solamente se establece a través de asociaciones con estímulos con contenido afectivo positivo, como la comida. Muchas de nuestras conductas de temor o de ansiedad son establecidas por medio del condicionamiento clásico (Pavlov, 1927)

En el condicionamiento clásico, la relación temporal precisa entre el **EC** y el **EI** puede variar. Esa relación temporal diferente entre el **EC** y el **EI** ha permitido que el condicionamiento clásico sea clasificado en cinco procedimientos diferentes: a) condicionamiento simultáneo, b) demorado, c) huella, d) hacia atrás e) temporal (Reynolds, 1973).

Durante el desarrollo del condicionamiento clásico, pueden estudiarse varias etapas; adquisición, mantenimiento, generalización y discriminación de estímulos, extinción y recuperación espontánea.

Condicionamiento Operante o Instrumental

Otro tipo de aprendizaje asociativo es el condicionamiento operante (también llamado instrumental o aprendizaje por ensayo y error o condicionamiento Tipo II). En contraste con el condicionamiento clásico, en el que un estímulo determinado (EI) provoca una respuesta específica (R1), en el aprendizaje instrumental u operante, los organismos pueden estar emitiendo, espontáneamente un número determinado de respuestas que forman parte de su repertorio (operantes); conductas que al alterar el ambiente ocasionan consecuencias sobre el sujeto, de esta manera se llega a modificar la conducta del organismo. Si una de esas respuestas es seguida por algún evento o estímulo favorable para el organismo, entonces esa conducta tenderá a repetirse, por lo tanto, la frecuencia de la conducta operante básicamente está determinada por el efecto que produce el evento ambiental que va después de ella. A los efectos, estímulos o consecuencias que siguen a la respuesta o conducta se les llama reforzadores. Un reforzador es cualquier estímulo o evento que incrementa la probabilidad de que una conducta se repita (Skinner, 1953), estos pueden ser positivos o negativos. Si la aparición de un estímulo como consecuencia de una respuesta incrementa la probabilidad de que la respuesta ocurra en el futuro, el estímulo recibe el nombre de estímulo reforzante positivo o reforzador positivo. Si la desaparición de un estímulo aversivo como consecuencia de una respuesta ocasiona que la respuesta ocurra en el futuro con una mayor probabilidad, el estímulo recibe el nombre de estímulo aversivo o reforzador negativo. El reforzamiento negativo implica la eliminación de un estímulo aversivo. El escape y la evitación son los dos paradigmas en que los estímulos aversivos incrementan o mantienen la acción de responder. En la evitación, una respuesta le permite al organismo posponer o evitar el comienzo de un estímulo

aversivo, mientras que en el escape, la respuesta da término a un estímulo aversivo después de que se ha iniciado su presentación; el organismo no puede evitar la aparición del estímulo aversivo (Reynolds, 1973; Chance, 1995). Mientras que en el condicionamiento clásico, el **EC** y el **EI** ocurren dentro de una secuencia regular, sin importar lo que el organismo esté haciendo, en el condicionamiento operante, una respuesta va seguida de un estímulo reforzador que no ocurrirá a menos que ocurra la respuesta. Podemos decir entonces que el condicionamiento operante implica la asociación de una respuesta con un estímulo reforzador.

Programas de reforzamiento

Skinner (1938) definió un reforzador como un estímulo cuya presentación incrementa la frecuencia de la conducta que precede a dicho estímulo. La presentación del reforzador puede programarse siguiendo dos procedimientos básicos. Primero, el reforzador puede administrarse con base al *número de respuestas* emitidas. Un **programa de reforzamiento de razón** es aquella situación en la que la contingencia específica hace necesario un número determinado de respuestas para producir el reforzamiento.

El reforzamiento programado con base al *tiempo* se denomina **programa de reforzamiento de intervalo**. En este programa, el reforzador está disponible durante un cierto periodo de tiempo después del último reforzamiento. Cualquier conducta que se produzca durante el intervalo no es reforzada; solamente se refuerza la respuesta emitida al final del intervalo.

Hay dos clases de programas de razón y de intervalo: reforzamiento fijo y variable. En un **programa de razón fija (RF)** el número de respuestas necesario para obtener el reforzador es *constante*. Por el contrario en un **programa de razón variable (RV)** el reforzamiento se produce después de un número variable de respuestas; es decir, el número de respuestas necesario para el reforzamiento varía de un reforzador al siguiente. El reforzamiento puede programarse con base a un **programa de intervalo fijo (IF)**, en el cual los reforzadores disponibles están

separados siempre por un intervalo mínimo. También puede administrarse el reforzamiento tras un intervalo de tiempo variable. En un **programa de intervalo variable (IV)** hay un intervalo medio entre los reforzamientos disponibles, pero el valor particular de cada subintervalo varía entre cada uno de ellos. El patrón y la tasa de respuestas puede variar mucho dependiendo del tipo de programa de reforzamiento. La contingencia entre la conducta y el reforzamiento a veces implica más de un programa. En un **programa compuesto** se combinan dos o más programas simples (Bower & Hilgard, 1973; Klein, 1994; Reynolds, 1973).

EL PARADIGMA DE EVITACION O PREVENCIÓN

Ya se indicó que en la evitación una respuesta le permite al sujeto evitar o posponer el comienzo de un estímulo aversivo. Este procedimiento presenta dos variantes: el entrenamiento de evitación activa, y el de evitación pasiva.

En el procedimiento de **evitación activa** el sujeto termina con un estímulo aversivo cuando emite una respuesta operante explícita, como presionar una palanca o evitar un lugar particular en el espacio experimental. Las pruebas de evitación activa pueden ser de dos sentidos y un sentido. En la evitación activa de un sentido el animal se coloca en un lado de la caja (castigo) y después de una demora de 10 segundos recibe un choque eléctrico en las patas, el choque puede ser evitado por el desplazamiento del animal de un lado a otro (seguro) de la caja. Posteriormente el animal es removido del lado seguro de la caja y después de un intervalo inter-ensayo se coloca de nuevo en el lado de castigo y se le da un choque eléctrico al final del período de demora; la latencia para realizar la respuesta de desplazamiento al lado seguro se considera como índice de aprendizaje. En la evitación activa de dos sentidos, el animal no es removido del lugar seguro durante el primer ensayo, en lugar de esto, transcurrido el período de demora se presenta un tono (señal) indicando que el choque ocurrirá en este compartimento, obligando al sujeto a desplazarse al lado contrario de la caja (Beninger, 1989). Las respuestas que pueden ser medidas con el procedimiento de evitación activa en un

sentido son la latencia de escape, el número de evitaciones, etc.; en el procedimiento de evitación activa en dos sentidos las respuestas a determinar son la respuesta de evitación condicionada, el número de escapes, la latencia de evitación etc.

En el procedimiento de **evitación pasiva o inhibitoria**, los sujetos son entrenados para evitar el estímulo aversivo por medio de la inhibición de una respuesta; generalmente se entrena a los sujetos a que eviten un choque eléctrico. El procedimiento consta de dos sesiones: durante la primera, también llamada de **entrenamiento** el animal se coloca en un compartimento bien iluminado (lugar seguro de la cámara); poco tiempo después se abre una compuerta y se le permite la entrada al compartimento oscuro (de castigo) de la cámara donde se administrará el choque eléctrico inevitable ya que la compuerta que permitió el acceso permanecerá cerrada impidiendo que el animal se desplace al compartimento seguro de la cámara. El tiempo que el animal tarda para cruzar del compartimento seguro al de castigo durante esta sesión será la **latencia de adquisición**. En la otra sesión llamada de **prueba**, que generalmente se realiza a las veinticuatro horas procediendo de manera semejante que en la sesión de entrenamiento, excepto por la presentación del choque, se registra el tiempo que tarda el animal para cruzar del compartimento seguro al de castigo; a este tiempo se le denomina **latencia de retención** (Gold, 1986). Se esperaría que durante la sesión de entrenamiento el animal asocie el compartimento oscuro con el choque de tal manera que colocándolo nuevamente en el compartimento seguro de la cámara, evite recibir el choque inhibiendo la respuesta de entrada al compartimento de castigo. La medida de retención usada en esta tarea es la latencia de la respuesta de entrada al compartimento en donde recibieron el choque. Las latencias cortas son consideradas como evidencia de amnesia, y las latencias largas como evidencia de retención y aprendizaje. En la prueba de retención, si los sujetos permanecen en el compartimento inicial por un período de tiempo arbitrario, se supone que retienen la respuesta, por lo tanto el criterio de retención debe ser lo

suficientemente grande para poder asegurar que el efecto obtenido es el resultado de un proceso de retención (McGaugh, 1973). Este procedimiento presenta dos variantes: **la evitación pasiva de un ensayo y la evitación pasiva de ensayo múltiple**. La **evitación pasiva de un ensayo** permitirá el registro de respuestas como la latencia de retención; en la **evitación pasiva en ensayo múltiple** se pueden medir además de las latencias, el número de ensayos requeridos para alcanzar el criterio de aprendizaje arbitrariamente elegido, el número de aciertos y errores (Reese & Lipsitt, 1975).

En los trabajos dedicados al estudio del aprendizaje y la memoria se han empleado diferentes procedimientos entre ellos los de evitación activa y de evitación pasiva. Algunas de las ventajas que presenta el entrenamiento de evitación inhibitoria es el hecho que la respuesta es rápidamente aprendida, la memoria es estable por un tiempo considerable después de entrenar a los sujetos, y los resultados obtenidos son comparables a aquellos obtenidos usando otras tareas como discriminación visual, apetitivas, y de aversión al sabor entre otras. Puesto que en los estudios encaminados a examinar los efectos de diversos tratamientos sobre memoria, generalmente los animales –tanto experimentales como control- reciben el tratamiento poco después del entrenamiento, los efectos observados en la sesión de prueba no pueden ser atribuidos a acciones del tratamiento sobre la ejecución sensorial o motora las cuales pueden influenciar el aprendizaje (Gold, 1986).

LA MEMORIA

Para que un sujeto aprenda, se requiere que las experiencias del pasado se almacenen de alguna forma, de manera que cuando se encuentren otra vez los mismos estímulos, la reacción a éstos está determinada por lo que sucedió antes, a esta capacidad de recordar se le ha llamado memoria.

Algunos autores se refieren al aprendizaje y a la memoria como términos indistintos, pero otros señalan la diferencia entre ambos. Los estudios sobre aprendizaje hacen énfasis en la adquisición de conocimiento y desarrollo de nuevas conductas, y los

de memoria subrayan el papel de la retención o recuerdo de las conductas y otros eventos; la memoria se refiere a la persistencia del aprendizaje en un estado que puede ser revelado un tiempo después (Squire, 1987). Sin embargo, es claro que para que el conocimiento se de o se manifieste, se tiene que hacer referencia tanto a la memoria como a los mecanismos que permiten que la información se recupere; la memoria es la prueba de haber aprendido, es el conocimiento de una experiencia pasada (Sperling, 1964).

Etapas, mecanismos o procesos de la memoria

La memoria ha sido considerada como un proceso que implica las siguientes etapas: registro o codificación, que corresponde a la entrada de la información que es recibida por el sistema nervioso central; consolidación o almacenamiento de la información; y evocación, recuperación o decodificación de la información (Baddeley, 1994).

Tipos de memoria

Atkinson & Shiffrin (1971) sugirieron que hay tres etapas en el almacenamiento de la información o almacén de memoria: registro sensorial o memoria sensorial, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo (Fig. 1).



Figura 1. Diagrama simplificado que ilustra el modelo de Atkinson y Shiffrin presentado en Klein, 1994, sobre el almacenamiento de la memoria en tres etapas. La interpretación y organización de las experiencias se lleva a cabo durante la segunda etapa, o memoria de corto plazo. La etapa final, o memoria de largo plazo, constituye el lugar de almacenamiento permanente o casi permanente en la memoria.

El registro sensorial.- La investigación sobre las características del almacén sensorial ha analizado dos sistemas sensoriales: el sistema visual y el sistema auditivo. La copia visual que contiene el registro sensorial se denomina *ícono* y se almacena en la **memoria icónica**. La **memoria ecoica** contiene una réplica de una experiencia auditiva, y el *eco* se almacena en el registro sensorial.

La investigación clásica de Sperling (1963) examinando el almacenamiento de información visual en el registro sensorial mostró que: 1) un ícono es una copia exacta de una experiencia visual, y 2) la memoria icónica dura sólo un breve período de tiempo tras el evento. El trabajo de Sperling sugiere que las imágenes visuales se almacenan en el registro sensorial durante 0.25 segundos. Sin embargo dependiendo de las condiciones, los íconos pueden permanecer hasta 1 segundo o menos de 0.25 segundos. La intensidad de los acontecimientos visuales parece influir en la duración de un ícono.

En el registro sensorial se puede almacenar también un duplicado exacto de una experiencia auditiva. Neisser (1967) denominó memoria ecoica, o eco de un evento reciente, al recuerdo de una experiencia auditiva almacenado en el registro sensorial. Aunque podría pensarse que un eco tiene la misma duración que un ícono, Wingfield & Bymes (1981) sugieren que la duración usual de un eco es de dos segundos.

Los términos icónica o ecoica representan mecanismos de almacenamiento preliminar y transitorio de información. Este tipo de memoria también se conoce con el nombre de memoria inmediata y engloba los recuerdos que duran segundos, sólo mientras la persona continúa pensando en ellos (Neisser, 1967; Sperling, 1960 citado en Klein, 1994).

Memoria de Corto Plazo.- La información almacenada en el registro sensorial es transferida a la memoria a corto plazo, donde se retiene durante un breve período de tiempo antes de ser almacenada permanentemente (o casi permanentemente) en la memoria a largo plazo. La duración de un recuerdo en la memoria a corto plazo

normalmente es de unos 15 a 20 segundos. El tiempo de permanencia depende de dos procesos: primero del repaso; sin el repaso la información puede desaparecer de la memoria a corto plazo antes de que sea almacenada en una forma significativa ya que el repaso también permite organizar la información; segundo, del desplazamiento de información anterior cuando entra nueva información, puesto que sólo se puede retener una cantidad limitada de información en la memoria a corto plazo (Postman & Keepeel, 1970; Norman, 1973). La memoria de corto plazo se refiere a un sistema que retiene información de manera temporal en un estado especial mientras llega a ser incorporada o transferida, dentro del almacén de memoria de largo plazo más estable y potencialmente permanente (Squire, 1987).

Memoria de Largo Plazo.- Es el sistema de memoria más importante y complejo; parece tener una capacidad ilimitada de almacenamiento de información (Lyndsay & Norman, 1972; Norman, 1973). Por lo general, se cree que la memoria a largo plazo es el resultado de cambios estructurales reales en las sinapsis que aumentan o suprimen la conducción de señales (Guyton, 1992). Dos procesos pueden dificultar la recuperación de la información de la memoria a largo plazo, la *interferencia* de otros recuerdos o bien a la ausencia de un estímulo específico (*atributos de la memoria*) para recordar un evento dado.

Dentro de la memoria de largo plazo son consideradas dos distinciones: **memoria declarativa** (memoria para hechos y episodios) y **memoria procedimental** (memoria para habilidades y otras operaciones cognoscitivas). La memoria procedimental es la memoria sobre habilidades o destrezas, estas memorias no son accesibles al conocimiento consciente; una prueba de una memoria procedimental sólo puede obtenerse a través de la observación de la ejecución. Esta memoria representa conocimiento de cómo hacer las cosas, que son almacenadas como resultado de las experiencias de condicionamiento instrumental. Las memorias procedimentales pueden representar también reacciones emocionales ante eventos ambientales, como miedo al atravesar un puente elevado. Estas reacciones

emocionales se almacenan como resultado del condicionamiento pavloviano. Las memorias procedimentales se adquieren lentamente a través de la experiencia repetida. Squire relaciona la memoria declarativa con la memoria de hechos (Squire, 1986). Nosotros tenemos un conocimiento consciente de las memorias declarativas, para Squire, una memoria declarativa puede existir en la forma de un pensamiento verbal o de una imagen no verbal. La memoria declarativa puede formarse en una única experiencia, aunque la práctica puede aumentar la capacidad para recordar una memoria declarativa.

Dentro de la **memoria declarativa** se hace una subdivisión: memoria **episódica** y memoria **semántica**. La memoria episódica se refiere a la memoria para eventos pasados o acontecimientos específicos en la vida del individuo (autobiografía), consta de información sobre acontecimientos relacionados temporalmente, mientras que la memoria semántica contiene el conocimiento necesario para la utilización del lenguaje. La memoria episódica puede ser sobre un evento experimentado en un momento y lugar determinados y la memoria semántica incluye información sobre las palabras y otros símbolos, sus significados y referentes, las relaciones entre las palabras y los símbolos, y las reglas, fórmulas o algoritmos para la adquisición de conceptos y resolución de problemas.

La información que contiene la memoria episódica está organizada temporalmente; es decir, un evento precede, se produce al mismo tiempo o sigue a otro evento. Por el contrario, el conocimiento en la memoria semántica está organizado conceptualmente. La fuente de memoria episódica es la estimulación sensorial; la comprensión del conocimiento cultural constituye la fuente de la memoria semántica (Squire, 1987; Tulvin, 1972 citado en Baddeley, 1994).

Investigaciones con pacientes amnésicos que llevaron a disociar entre aprendizaje y memoria, permitieron concluir que el individuo posee **memoria implícita**, es decir, que puede aprender, pero sin conservar el recuerdo de la experiencia que lo ha conducido a tal aprendizaje; todo lo contrario de la **memoria explícita**, que se refiere a la capacidad de mantener en la memoria los acontecimientos relacionados

con el aprendizaje. Otra clasificación de la memoria es hecha en función al proceso de recuperación de la información durante los procesos de condicionamiento animal, por lo que se clasifica en memoria de trabajo y memoria de referencia. Las diversas situaciones de entrenamiento animal implican señales durante el ensayo, y la respuesta correcta que se espera del sujeto, debe guiarse por la memoria de esas señales, por lo que el animal debe generalmente ignorar la memoria de estímulos relevantes de ensayos precedentes y hacer uso de la **memoria de trabajo** dentro de cada ensayo. La diferencia crítica entre la memoria de trabajo y las otras memorias es que diferentes estímulos gobiernan el criterio de respuesta sobre diversos ensayos en los que la señal que el sujeto debe de recordar varía de ensayo a ensayo (Honig, 1978). Comúnmente se entiende que el aprendizaje implica la formación de asociaciones entre dos o más estímulos o entre respuestas y estímulos, los cuales siguen a ellas; cuando se establecen estas asociaciones llegan a ser parte de la **memoria de referencia**. Existen dos aspectos importantes en torno a la memoria de referencia. Primero, la memoria de referencia es normalmente latente, al igual que el almacenamiento a largo plazo de la memoria humana, las memorias de referencia permanecen inactivas hasta el momento de la presentación de señales apropiadas (recuperación o recuerdo), entonces la memoria puede controlar la conducta. Segundo, una memoria de referencia estable es necesaria para el mantenimiento de una buena ejecución en el paradigma utilizado (Honig, 1978)

En suma, parece que tres mecanismos interactúan en la producción de memorias: uno que media el recuerdo inmediato de los recuerdos sensoriales que duran segundos; otro que media los recuerdos de eventos que ocurrieron minutos u horas antes; y un tercero que media los recuerdos del pasado remoto.

Consolidación de la memoria

La consolidación es el proceso relativo a la transición de un sistema de almacenamiento de información lábil y de vida corta a un sistema viable de

almacenamiento a largo plazo. El desarrollo de la memoria a largo plazo parece ocurrir sobre períodos de tiempo y puede involucrar eventos bioquímicos que alteran la conectividad sináptica de un modo estable, o cambios morfológicos en la topografía de la conectividad sináptica (Squire & Davis, 1981).

Uno de los fundamentos neurales de la retención de la experiencia o del aprendizaje es la **visión estructural**, según la cual el aprendizaje consiste en algún cambio duradero de tipo físico, estructural o bioquímico en el sistema nervioso, cambio físico que persistirá incluso cuando los circuitos neuronales originales responsables de su establecimiento hayan regresado a la inmovilidad relativa a continuación de la experiencia inicial (Bower & Hilgard, 1973).

Müller y Pilzecker en 1900 (citados en Bower & Hilgard, 1973), sugirieron que la actividad neural responsable de almacenar un cambio físico que codifica una experiencia perdura un tiempo después de la experiencia y a consecuencia de la actividad neural persistente, los cambios físicos se establecen con más firmeza y alcanzan una mayor magnitud. A esta fijación progresiva con el paso del tiempo se le llama consolidación.

Donald Hebb (1949) consideraba que el recuerdo de un evento no es almacenado inmediatamente en la forma de una memoria permanente sino que, en un principio, es almacenado en una forma frágil. Según Hebb al experimentar un evento se activa un circuito neuronal en el sistema nervioso central. La actividad de este circuito neuronal "reverbera"; es decir, permanece durante un breve período de tiempo tras la terminación del evento. Para Hebb la función de la actividad reverberante es actuar de almacén temporal para la retención de un registro del evento hasta que pueda consolidarse en una representación permanente de ese evento por lo que la actividad reverberante debe mantenerse hasta que se complete el proceso de almacenamiento. Si se interrumpe la actividad reverberante, se paraliza el proceso de consolidación y no tienen lugar los cambios fisiológicos (Heeb, 1949 citado en Baddeley, 1974; Klein, 1994).

La evidencia esencial para la teoría de la consolidación de la memoria, procede de estudios donde se altera la actividad cerebral por medio de electrochoques convulsivos o por la administración de convulsivantes poco después de una experiencia. Igualmente una conmoción cerebral, la aplicación de anestesia general profunda o cualquier otro efecto que bloquee la actividad “reverberante” puede *impedir la consolidación* de modo que en una prueba posterior no se demostraría retención alguna; el escaso recuerdo producido tras el tratamiento se denomina **amnesia retrógrada** (Bower & Hilgard, 1973; Klein, 1994).

El almacenamiento de información puede verse también influido por la acción de varias estructuras fundamentales del sistema nervioso central. Un daño en esas estructuras puede dar lugar a una amnesia anterógrada o post-traumática. Una persona con **amnesia anterógrada** puede recordar una experiencia sólo durante un breve período de tiempo, sin embargo, cuando cambia su atención, la persona pierde su capacidad para recordar ese evento. Esto indica que con la amnesia anterógrada no puede transferirse la información sobre un evento de la memoria a corto plazo al almacén de largo plazo. Aunque con esta amnesia *no se puede almacenar nueva información, sí se pueden recordar los acontecimientos que se produjeron antes de la amnesia*, es decir, en este tipo de amnesia aunque el sujeto olvida un evento varios minutos después de que sucede, sí puede recordar experiencias que tuvieron lugar varios años antes. Este resultado muestra que la amnesia anterógrada no constituye un fallo en la recuperación. La amnesia anterógrada puede ocurrir por razones distintas: síndrome de Korsakoff, infecciones cerebrales como la sífilis, golpes y otros desórdenes permanentes en el flujo sanguíneo del cerebro, tumores en estructuras cerebrales que intervienen en el almacenamiento de la memoria, daños cerebrales por la exposición a sustancias tóxicas y también por algunas formas de demencia como el mal de Alzheimer.

Diversos enfoques y metodologías han sido empleadas en la investigación del aprendizaje y la memoria. Entre ellas se encuentran las manipulaciones

farmacológicas por ejemplo la administración de un fármaco que se puede realizar

a) Cuando los estudios están orientados a observar la adquisición o el aprendizaje, los tratamientos se administran antes del entrenamiento (pre-entrenamiento), lo que altera el registro de la información permitiendo estudiar la adquisición y los procesos motores, motivacionales y perceptuales entre otros. **b)** Cuando el punto de interés es la memoria o el mantenimiento de la respuesta, los tratamientos se administran después del entrenamiento (post-entrenamiento), entonces se puede estudiar la consolidación del aprendizaje. **c)** Si la droga se administra antes de la prueba, entonces se estará evaluando el proceso de recuperación de la información (Kovács & De Wied, 1994; McGaugh, 1966; 1989b).

El aprendizaje y la memoria son procesos multidimensionales que tienen lugar en el cerebro con la participación de diversos neurotransmisores y neuromoduladores (Altman & Normile, 1988; Olton & Wenk, 1990). En el siguiente capítulo se describe el papel que juegan algunos de esos neurotransmisores con respecto a las funciones que son investigadas en este trabajo.

CAPITULO 2

ASPECTOS GENERALES DE NEUROFISIOLOGIA

Se reconoce que en el sistema nervioso central los neurotransmisores principales son la acetilcolina, las monoaminas noradrenalina, dopamina y serotonina. Sin embargo pueden tener función de transmisor otras sustancias como la histamina, algunos aminoácidos dicarboxílicos como L-glutámico y L-aspártico y los aminoácidos monocarboxílicos ácido γ -aminobutírico y la glicina.

LUGARES DE ACCION DE LOS TRANSMISORES QUIMICOS

El papel de los neurotransmisores en diversos lugares anatómicos está perfectamente comprobado en algunos casos, e hipotético en otros. La información generalmente aceptada sobre el lugar de acción de estos compuestos puede resumirse así

- 1.-En las terminaciones nerviosas parasimpáticas posganglionares a nivel del músculo liso, músculo cardíaco y de las glándulas exócrinas: acetilcolina.
- 2.-En las terminaciones nerviosas simpáticas posganglionares sobre músculo liso, músculo cardíaco y glándulas exócrinas: noradrenalina (con excepción de las terminaciones nerviosas de las glándulas sudoríparas).
- 3.-En todas las sinapsis ganglionares autónomas: acetilcolina (aunque la dopamina puede modular la transmisión).
- 4.-En las terminales de fibras motoras a nivel de las uniones neuromusculares esqueléticas: acetilcolina.
- 5.-En las sinapsis del sistema nervioso central: acetilcolina, noradrenalina, dopamina, serotonina e histamina.
- 6.- Los ácidos L-glutámico y L-aspártico también pueden ser transmisores excitadores para varias neuronas. El ácido γ -aminobutírico es un transmisor inhibitorio en la corteza cerebral; la glicina puede tener papel inhibitorio en la médula espinal.

La determinación del lugar preciso de acción de diversos neurotransmisores se complica, por dos consideraciones principales: a) Algunos de los mediadores pueden actuar también en zonas presinápticas, influyendo en esta forma en la liberación de mediadores. b) Los neurotransmisores pueden actuar en más de un receptor postsináptico (Bowman & Rand, 1985)

CONCEPTO DE RECEPTOR EN NEUROFARMACOLOGIA

Para que una sustancia sea clasificada como un verdadero neurotransmisor debe cumplir cuatro criterios: el compuesto debe ser sintetizado por la neurona, debe ser liberado por la neurona en suficiente cantidad para ejercer un efecto sobre otra neurona u otro órgano efector, la aplicación exógena en cantidades apropiadas debe imitar la acción del compuesto liberado endógenamente, y por último, debe de existir un mecanismo para remover el neurotransmisor desde el sitio de acción (Veca & Dreisbach 1988).

PASOS MOLECULARES EN LA NEUROTRANSMISION.

En toda transmisión sináptica, independientemente de cuál sea el transmisor utilizado, pueden distinguirse las siguientes etapas (O'Donnell & Pazo, 1994):

1.- Síntesis del neurotransmisor

Todos los neurotransmisores universalmente reconocidos tienen sus enzimas biosintéticas en las terminales presinápticas. Estas enzimas provienen de la maquinaria de síntesis proteica del soma, llevadas por el flujo axónico. Todas ellas son enzimas citoplasmáticas salvo la dopamina β -hidroxilasa, que se encuentra en el interior de las vesículas, y participa en la síntesis de noradrenalina. Los neuropéptidos en cambio, se sintetizan en el soma bajo la forma de péptidos precursores, que luego son transformados hasta obtener el transmisor y son transportados a las terminales por flujo axónico en el interior de las vesículas. Ésta como cualquier vía sintética, presenta pasos limitantes con enzimas alostéricas que regulan su actividad según la concentración del producto final.

2.- Almacenamiento del neurotransmisor

Durante el tiempo que el neurotransmisor permanece en la terminal hasta que es liberado, es protegido de la degradación por enzimas citoplasmáticas y almacenado para permitir una liberación efectiva, mediante la acumulación del transmisor dentro de las vesículas sinápticas. Para ello existen mecanismos de transporte del neurotransmisor o de sus precursores al interior de las vesículas; como estos mecanismos ocurren contra gradientes de concentración necesariamente implican la actividad de ATPasas (bombas).

3.- Liberación del neurotransmisor

Se acepta universalmente que la liberación del neurotransmisor al espacio sináptico proviene fundamentalmente de las vesículas (hipótesis vesicular). En este proceso, el calcio tiene un papel fundamental pues a lo largo de la membrana axónica existen unos pocos de iones Ca^{2+} dependientes del voltaje, cuya densidad aumenta notoriamente en las terminales sinápticas al punto que, ante la despolarización originada por la llegada del potencial de acción, se produce una importante entrada de Ca^{2+} . Es esta entrada de Ca^{2+} , y no el resto de los cambios iónicos que se verifican en la terminal presináptica lo esencial para la liberación.

Con respecto al mecanismo de acción del calcio, se han propuesto varias posibilidades: a) que anule la repulsión entre cargas negativas de los grupos carboxilos proteicos de las superficies de las vesículas y la membrana, favoreciendo el acercamiento de las primeras a la misma; b) que actúe por medio de la inhibición de una ATPasa $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{Mg}^{2+}$ dependiente que controlaría la liberación del neurotransmisor; y c) active una proteína contráctil presente en la zona activa presináptica, favoreciendo el acercamiento de ambas membranas.

La cantidad de neurotransmisor liberado está estrechamente ligada a la cantidad de Ca^{2+} que entra en la terminal, y esto en proporción directa a la duración y amplitud de los cambios de potencial de membrana de la terminal.

4.- Interacción con receptores

El neurotransmisor, luego de ser liberado, puede hacer contacto con la membrana postsináptica, donde existen sitios capaces de "reconocer" con gran especificidad a esta sustancia. Estos sitios, llamados receptores, son complejos proteicos especiales. Estas proteínas presentan sitios activos en su superficie, en donde van a anclar las moléculas de neurotransmisores.

Los efectos postsinápticos de un neurotransmisor no son características propias del transmisor, sino el resultado de su interacción con receptores específicos. Por ejemplo, la acetilcolina puede ser excitatoria en algunas sinapsis e inhibitoria en otras. Es el receptor el que determina si la sinapsis es facilitadora o inhibitoria. Con las caracterizaciones bioquímicas y los trabajos de clonado de algunos receptores, ha sido posible definir su localización en la cara externa de la membrana, su estructura, y hasta se ha establecido la secuencia de aminoácidos y la configuración espacial de algunos de ellos.

5.- Remoción del neurotransmisor

Mientras haya estímulos arribando a la terminal presináptica, generalmente en forma de potenciales de acción, habrá moléculas de neurotransmisor en el espacio sináptico e interactuando con sus receptores. Al cesar el estímulo, el neurotransmisor debe ser removido del espacio sináptico ya que, de lo contrario, continuará ejerciendo su efecto sobre la membrana postsináptica.

Para ello existen fundamentalmente tres mecanismos: a) *Difusión* desde el espacio sináptico al líquido extracelular. b) *Recaptura* en la terminal presináptica, que es posiblemente el mecanismo más importante y c) *Destrucción enzimática* del neurotransmisor.

A continuación se describirán aspectos generales del metabolismo y distribución en el sistema nervioso de los tres neurotransmisores revisados en este estudio acetilcolina, serotonina y ácido γ -aminobutírico.

ACETILCOLINA (ACh)

Distribución.- En los vertebrados, la acetilcolina (ACh) es la sustancia liberada en las sinapsis de los músculos esqueléticos (uniones neuromusculares), es también la sustancia transmisora en los ganglios (acumulaciones de cuerpos celulares y terminaciones nerviosas localizadas fuera del sistema nervioso central) del sistema nervioso autónomo. Este sistema es parte del sistema nervioso periférico relacionado con las funciones vegetativas (control del aparato digestivo, la frecuencia cardíaca, la presión sanguínea, etc.). Los axones de las neuronas preganglionares cuyos cuerpos celulares están localizados dentro del SNC entran a los ganglios periféricos, donde hacen sinapsis con neuronas postganglionares, cuyos axones pasan entonces a los órganos efectores inervados por ellas (corazón, vasos sanguíneos, intestino, esfínteres, etc.). La ACh se utiliza para transmitir potenciales postsinápticos eléctricos (PPSE) de neuronas preganglionares a neuronas postganglionares. Estas neuronas postganglionares afectan entonces sus órganos efectores secretando acetilcolina o noradrenalina (Carlson, 1984). La distribución de este neurotransmisor en estructuras específicas del SNC se describirá más adelante en el apartado de vías colinérgicas.

Síntesis.- La acetilcolina es sintetizada por la enzima colina-acetiltransferasa (CAT), que antes se denominaba acetilasa de colina, según la siguiente reacción:



En presencia de la enzima CAT, el ion acetato de la molécula de acetil CoA es transferido a la molécula de colina, produciendo una molécula de ACh y una de la primitiva CoA simple. Durante la estimulación nerviosa, la ACh recién sintetizada puede ser liberada en forma preferente. Sin tomar en cuenta su fuente, la acetil CoA

es sintetizada primariamente en las mitocondrias. La CAT al parecer se encuentra en el citoplasma sinaptosómico.

La enzima colina-acetiltransferasa es activada por cloruros y es inhibida por reactivos sulfhidrilo y puede utilizar varios derivados acilo tanto de la coenzima A como de la etanolamina como sustrato. La colina, se sintetiza en el hígado, es una sustancia derivada del desdoblamiento de los lípidos y es captada por transporte activo, pasando a la neurona, tomándola de la circulación general tanto en forma libre como en forma de fosfolípido (posiblemente fosfatidilcolina). Hay tres mecanismos para regular la concentración de ACh en las células: una inhibición retroactiva de ACh sobre la colina- acetiltransferasa, la acción de masas y la disponibilidad de acetil CoA, colina o ambas. De estas tres posibilidades el factor de regulación más importante es el transporte de colina de alta afinidad. Además, la concentración endógena de ACh también interviene en la regulación de la concentración del transmisor en el cerebro (Bowman & Rand, 1985; Carlson, 1984; Cooper, Bloom & Roth, 1996).

Teóricamente, la producción de ACh guardaría relación directa con la concentración de colina. La ACh se almacena posteriormente en las vesículas sinápticas, de modo que al llegar el impulso nervioso, varios cientos de vesículas descargan simultáneamente el neurotransmisor hacia la hendidura sináptica. Los iones calcio, indispensables para este proceso, son antagonizados por los iones magnesio. En la fase de liberación no se vacían totalmente las vesículas, y un 15% de la sustancia permanece en la célula terminal (ACh estacionaria). La ACh que llega a la célula receptora se acopla a receptores específicos muscarínicos y nicotínicos. La activación del receptor muscarínico es rápida, mientras que la del nicotínico es más lenta y sostenida.

Desactivación.- La acetilcolina liberada por un impulso nervioso debe ser destruida rápidamente para que pueda actuar el impulso siguiente en una membrana postsináptica repolarizada, al cabo de unas pocas milésimas de segundo. La

destrucción de la acetilcolina se logra por las colinesterasas, que son de dos tipos. La acetilcolinesterasa (AChE), o colinesterasa específica, hidroliza los ésteres acetílicos de la colina más rápidamente que los ésteres butíricos. Por otra parte, la pseudocolinesterasa, o sea la colinesterasa no específica, se llama a veces butirilcolinesterasa porque hidroliza los ésteres butíricos y otros de la colina más rápidamente que el éster acetílico. Al continuar la hidrólisis de la ACh, aproximadamente el 35-50% de la colina liberada, es transportada nuevamente a la terminación presináptica por un sistema de transporte activo de alta afinidad dependiente de sodio, para que vuelva a ser utilizada en la síntesis de ACh, la colina sobrante puede ser catabolizada o llegar a incorporarse a los fosfolípidos que nuevamente pueden servir como fuente de colina (Cooper, Bloom & Roth, 1996).

Distribución en el SNC.- Las neuronas que liberan este neurotransmisor se elevan desde el cerebro anterior basal para inervar la corteza cerebral y el hipocampo (Johnston, McKinney & Coyle 1981; Lewis, Shute & Silver, 1967). Además una proyección colinérgica reticular asciende desde el tallo cerebral para inervar varias estructuras del cerebro anterior incluyendo la corteza cerebral (Hallanger & Wainer, 1988; Hoover & Jacobowitz, 1979). El núcleo caudado es rico en acetilcolina y es el que posee la actividad de la colina-acetiltransferasa más elevada de todas las regiones cerebrales. La acetilcolina es liberada espontáneamente desde la superficie del núcleo caudado, y dicha liberación aumenta por estimulación eléctrica de baja frecuencia a nivel del núcleo central anterior del tálamo. El núcleo caudado forma parte del sistema extrapiramidal, al cual corresponde el control fino de la actividad muscular esquelética. Los mecanismos colinérgicos del núcleo caudado guardan relación con la enfermedad de Parkinson. Algunas células talamocorticales son colinoceptivas, es decir, extremadamente sensibles a la acetilcolina aplicada. Aproximadamente el 30% de las neuronas estudiadas en el hipotálamo responden a la acetilcolina, con una proporción aproximadamente igual de efectos excitadores y efectos inhibidores. Las neuronas que tienen sus cuerpos celulares en los núcleos

supraópticos y paraventricular del hipotálamo, y que acaban en la neurohipófisis son estimulados por la acetilcolina y por anticolinesterasa.

Vías colinérgicas

Se ha propuesto que la mayoría de las vías colinérgicas podrían estar conectadas mediante una red ascendente tegmental-mesencefálico-cortical (Bueno, Sabanes, Salvador & Gascón, 1985). Específicamente, las vías colinérgicas en el SNC que se encuentran fundamentadas son las siguientes: vía dorso-tegmental, vía ventro-tegmental, vía septo-hipocampal y corteza.

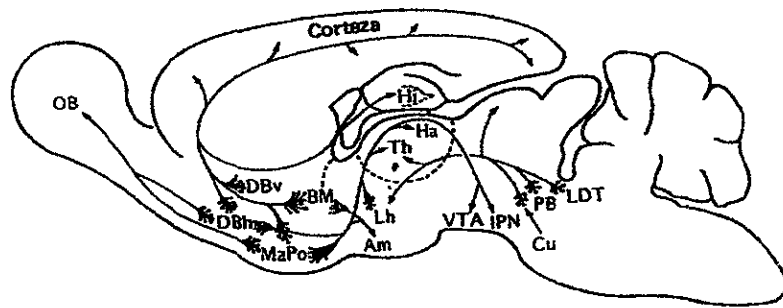
Vía dorso tegmental.- Esta vía se origina en el núcleo cuneatus de la médula y proyecta a los colículos de la región pretectal y a algunos núcleos talámicos incluyendo los cuerpos geniculados.

Vía ventro tegmental.- Se origina en el tegmento ventral y sustancia nigra y envía proyecciones al subtálamo, hipotálamo y áreas basales del cerebro anterior.

Vía septo-hipocampal.- Esta es una vía bastante bien definida que también ha sido denominada sistema colinérgico basal del cerebro anterior, y se origina en los cuerpos celulares del septum medial y en los núcleos basales magnocelulares que proyectan al hipocampo, corteza cerebral y mesencéfalo (Seiden & Dycstra, 1979). Los núcleos magnocelulares corresponden al núcleo basal de Meynert en primates y al globo pálido ventral y sustancia innominada en ratas (Beart, 1984). Extensa información indica que en el hipocampo los receptores son de tipo muscarínico.

Corteza.- Se ha sugerido que la corteza cerebral de los mamíferos se encuentra inervada por fibras nerviosas colinérgicas que sugieren diferencias en la topografía subcortical de las células colinérgicas. Se ha descrito que la corteza frontal recibe aferencias colinérgicas del séptum ventro-medial; la corteza parietal recibe

aferencias de la sustancia innominada, del globo pálido ventral y del cíngulo; y la corteza occipital de neuronas de los núcleos de la banda diagonal de Broca (brazo horizontal). Las vías colinérgicas se describen en la Figura 2.



Am	amígdala
BM	núcleo basal magnocelular
Cu	núcleo cuneiforme
DBh	rama horizontal del núcleo de la banda diagonal
DBv	rama vertical del núcleo de la banda diagonal
Ha	núcleo habenular
Hi	hipocampo
IPN	núcleo interpeduncular
Lh	hipotálamo lateral
LDT	núcleo laterodorsal tegmental
MaPO	núcleo preóptico magnocelular
OB	bulbo olfatorio
PB	núcleo parabraquial
Th	tálamo
VTA	zona ventral tegmental

Fig. 2 Distribución de las principales vías colinérgicas en el Sistema Nervioso Central

Las neuronas colinérgicas tienen influencia sobre el control del hambre, la sed, la agresión y la conducta sexual. También intervienen en el mecanismo del sueño, y se ha comprobado que la atropina y otras sustancias antagonistas bloquean la fase MOR (de movimientos oculares rápidos). En experimentación animal, los agonistas colinérgicos mejoran el aprendizaje y la memoria, mientras que los antagonistas la empeoran (Bueno, Sabanes, Salvador & Gascón, 1985).

DISTRIBUCION DE LOS TIPOS DE RECEPTORES COLINERGICOS

La ACh es, en general, una sustancia transmisora excitadora, pero en algunas especies también puede tener efectos inhibitorios; la naturaleza del potencial postsináptico (PPS) producido depende del tipo de molécula receptora en la membrana postsináptica. En el sistema nervioso de los mamíferos, los receptores colinérgicos de los ganglios autónomos y los de la unión neuromuscular son nicotínicos. Los receptores colinérgicos de los órganos efectores del sistema nervioso autónomo son muscarínicos. En el SNC se encuentran ambos tipos de receptores colinérgicos. La médula espinal contiene receptores nicotínicos. Estos receptores también predominan en el cerebro, pero hay también allí algunos receptores muscarínicos.

Receptores muscarínicos.- Los receptores muscarínicos pertenecen a la familia de receptores donde la molécula del receptor está acoplada a un canal iónico efector a través de una proteína. La compuerta de estos canales iónicos es controlada por cambios de voltaje (Nicoll, Malenka & Kauer, 1990). Se han sido clonados cinco subtipos diferentes de receptor muscarínico m_1 hasta m_5 ; ellos son miembros de una gran superfamilia de receptores enlazados a la proteína G. Los subtipos muscarínicos, como otros miembros de esta superfamilia, contienen siete regiones transmembrana en su secuencia primaria las cuales forman hélices α que corren perpendicular al plano de la membrana y circunscriben una estructura de poro central. La acetilcolina y otros ligandos muscarínicos son entrelazados a un sitio dentro de este poro central. El trayecto interior del poro central parece ser altamente conservado a través de los cinco subtipos muscarínicos, lo cual probablemente explica por que ha sido difícil desarrollar ligandos muscarínicos altamente selectivos a estos subtipos (Hulme, Birdsall & Buckley, 1990).

Los receptores muscarínicos están ampliamente distribuidos a través del cuerpo y favorecen numerosas funciones vitales en el cerebro y sistema nervioso autónomo periférico. En el sistema periférico, la activación de receptores muscarínicos

produce efectos que son semejantes a aquellos observados cuando se activan los nervios parasimpáticos. Estos efectos incluyen una disminución en la frecuencia cardíaca, una constricción en las líneas aéreas del pulmón, un incremento en la motilidad del tracto gastrointestinal, un incremento en la secreción de las glándulas exócrinas y una constricción en el esfínter del iris y cuerpo ciliado del ojo. A pesar de que la mayoría de los vasos sanguíneos carecen de inervación colinérgica, ellos contienen receptores muscarínicos que usualmente, pero no siempre, causan dilatación cuando son activados por agonistas. Con excepción de la respuesta cardíaca, la cual es mediada por receptores m_2 , virtualmente todos los otros efectos son mediados primeramente por receptores m_3 localizados sobre las células efectoras. Como se describió arriba, el músculo liso contiene una abundancia de receptores m_2 que parecen modular la contracción para prevenir la relajación causada por nervios simpáticos. Así puede verse que los efectos periféricos de agonistas muscarínicos pueden ser atribuidos casi enteramente a la activación de receptores m_2 y m_3 .

En contraste, el cerebro contiene principalmente receptores muscarínicos m_1 y m_4 (Yasuda, Cielsa, Flores, Wall, Li, Satkus, Weinstein, Spagnola & Wolfe, 1992). La distribución de subtipos de receptores muscarínicos en el cerebro ha sido mapeada usando radioligandos, anticuerpos y sondas de RNAm. Los tres métodos han producido resultados consistentes. Recopilación de estos trabajos señalan que en el estriado, corteza cerebral e hipocampo se encuentran distribuidos subtipos m_1 , m_2 , m_3 y m_4 donde la mayor proporción la tienen los subtipos m_1 y m_4 . El cerebro medio y el cerebelo tienen distribuidos los cuatro subtipos pero la proporción de m_2 es mayor en estas regiones (Ehlert, Roeske, & Yamamura, 1994). El receptor m_5 parece expresarse de manera significativa en el tejido periférico, y representa menos 2% de la población total de receptores muscarínicos en varias regiones del cerebro (Yasuda, Cielsa, Flores, Wall, Li, Satkus, Weinstein, Spagnola & Wolfe, 1992). Puede verse que los receptores muscarínicos m_1 y m_4 son los más abundantes en varias regiones del cerebro anterior, lo cual sugiere que la acción

central de agonistas muscarínicos m_1 y m_4 puede ser eficaz en el tratamiento de desórdenes de memoria relacionados con la edad sin causar efectos colaterales periféricos. La existencia de un sitio alostérico secundario sobre el receptor muscarínico sugiere la posibilidad de desarrollar nuevos agonistas muscarínicos alostéricos que potencien los efectos de acetilcolina endógena en la misma forma que las benzodiazepinas potencian al ácido gamma-amino-butírico (Ehlert, Roeske & Yamamura, 1994).

Las sinapsis muscarínicas son bloqueadas por alcaloides vegetales como la *atropina*. Las sinapsis nicotínicas son bloqueadas por la *d-tubocurarina*, el integrante activo del curare.

Drogas que bloquean receptores muscarínicos.- Hay varias drogas que bloquean las acciones muscarínicas de la ACh y otros parasimpatomiméticos. Es común que estas drogas que bloquean los receptores muscarínicos se denominen anticolinérgicas.

Los preparados de las solanaceas *Atropa belladonna* (belladona), *Hyoscyamus niger* (beleño) y *Datura stramonium* (estramonio) se han utilizado en medicina desde tiempo inmemorial. Los principales alcaloides que contienen son hiosciamina e hioscina. Estos alcaloides son ópticamente activos; los isómeros levógiros son mucho más activos que los dextro, que resultan casi inertes.

La **atropina** es la hiosciamina racémica; aunque el isómero (-) es más potente, se prefiere la forma racémica porque el isómero (-) en solución fácilmente se vuelve racémico. La forma de hioscina de la farmacopea es el isómero (-), que también se conoce como **escopolamina**.

Se trata de ésteres del ácido trópico y las bases orgánicas complejas tropina (tropinol) en la atropina y escopina en la hioscina. La hioscina difiere de la atropina solamente por la presencia del puente de oxígeno en la porción escopina. En 1914 se demostró que la atropina antagonizaba todas las acciones muscarínicas de la ACh. Las acciones periféricas de la hioscina son muy similares a las de la atropina.

La atropina e hioscina también ejercen acciones sobre el sistema nervioso central que pueden contrarrestarse, en parte, con drogas anticolinesterásicas. En todos estos casos las anticolinesterasas deben su acción a un incremento de concentración del neurotransmisor ACh, que supera el bloqueo competitivo de los receptores (Bowman & Rand, 1985).

La atropina y la escopolamina tienen diferentes potencias en sus acciones antimuscarínicas. A diferencia de la atropina, la escopolamina tiene más potencia sobre el iris, el cuerpo ciliado, las glándulas salivales, bronquiales y sudoríparas, pero es menos potente en el corazón, intestino y músculo bronquial, además de que su acción es más prolongada. Estos alcaloides se absorben rápidamente por el tubo digestivo, y también pueden inyectarse. La mayor parte de ellos es metabolizado y se vuelven inactivos a nivel del hígado. Aproximadamente; sólo el 14% de la atropina, y el 1% de la hioscina, son eliminados sin cambio con la orina.

SEROTONINA (5-HT)

La serotonina o 5-hidroxitriptamina es una indolamina que se encuentra en muchas células que no son neuronas, encontrándose en concentraciones elevadas en las células cromafines del tubo digestivo y en la glándula pineal, plaquetas, y en las células cebadas de ratas y ratones. Cantidades menores se encuentran en el cerebro y en la retina. Del total de serotonina presente en el cuerpo, sólo cerca del 1-2% es encontrada en el cerebro. Puesto que la serotonina no puede atravesar la barrera hematoencefálica, es claro que las células del cerebro deben sintetizarla.

Síntesis.- El sustrato primario para la síntesis de serotonina es el aminoácido triptófano que es captado hacia el cerebro por transporte activo . El primer paso de la ruta sintética de la serotonina implica que el triptófano reciba un grupo hidroxilo por acción de la enzima triptófano-hidroxilasa, transformando el triptófano en 5-hidroxitriptófano (5-HTF). Sintetizado el 5-HTF este es completamente

descarboxilado por una enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos que utiliza piridoxal como cofactor, formándose así la 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina. Las moléculas de serotonina se almacenan junto con el ATP en la terminal presináptica, liberándose por activación iónica y exocitosis. La inactivación se produce por recaptación hacia la terminal. Gran parte de sustancias antidepresivas actúan a este nivel, inhibiendo dicha recaptación y aumentando, por tanto, la biodisponibilidad del neurotransmisor.

Un 2 % del triptófano, componente habitual de la dieta, se convierte en 5-HT. Parece probable que los cambios plasmáticos en los niveles de triptófano influyan en los mecanismos centrales de la función serotoninérgica (Carlson, 1994; Bueno, 1985; Cooper, Bloom & Roth, 1996). En la siguiente reacción se muestran las etapas de la biosíntesis de la serotonina:



Catabolismo.- La serotonina se desintegra en 5-hidroxiindolacetaldehído por la desaminación que origina la participación de la enzima monoaminooxidasa (MAO). A su vez, el 5-hidroxiindolacetaldehído puede ser oxidado en ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) o reducido a 5-hidroxitriptofol dependiendo de la relación NAD^+/NADH en el tejido. El ácido 5-hidroxiindolacético es el principal metabolito urinario y la cantidad excretada se usa como índice de la tasa metabólica de serotonina en el cuerpo. En la glándula pineal, la serotonina es convertida en melatonina. A primera vista, parece claro que la hidroxilasa del triptófano es la enzima limitante en la síntesis de serotonina, puesto que cuando esta enzima es inhibida al 80% el contenido de serotonina del cerebro rápidamente decrece. Por otro lado, cuando la 5-hidroxitriptófano-descarboxilasa es inhibida en igual o mayor cantidad, no hay efecto sobre el nivel de serotonina en el cerebro. Este hecho puede ser explicado únicamente si el paso limitante importante fuera la

hidroxilación inicial. Puesto que este paso también depende del oxígeno molecular, la tasa de formación de serotonina puede también ser influida por el nivel de oxígeno tisular. De hecho puede ser mostrado que ratas que aspiran el 100% de oxígeno incrementan grandemente su síntesis de serotonina. Es también de interés que 5-hidroxitriptófano no inhibe la actividad de la hidroxilasa de triptófano.

Vías serotoninérgicas.- Con el descubrimiento de técnicas de tinción específicas se ha estudiado la distribución regional de la 5-HT en el SNC. El tallo cerebral es el sitio de origen de las vías serotoninérgicas. La vía serotoninérgica parte de los cuerpos celulares situados en la línea media de los núcleos del rafe, que inervan casi todas las áreas del cerebro. Las proyecciones eferentes de los núcleos del rafe se dividen en tres grupos distintos: 1) los grupos nucleares rostrales proyectan por la parte superior hacia el cerebro anterior. Los axones de los núcleos rostrales del rafe ascienden en el haz medial del cerebro anterior y se distribuyen hacia el diencéfalo así como al estriado y la corteza cerebral del telencéfalo. Las fibras se proyectan hacia el sistema límbico, geniculado lateral y tubérculo cuadrigémino superior; 2) los núcleos intermediarios inervan el sistema límbico, hay gran densidad hacia el neostriado, corteza cerebral y cerebelar y tálamo, y 3) los núcleos caudales envían sus axones hacia la médula espinal y a las regiones del encéfalo anterior (Gilman & Newman, 1989; Cooper, Bloom & Roth, 1996). La Figura 3 muestra la distribución regional de la 5-HT en el cerebro.

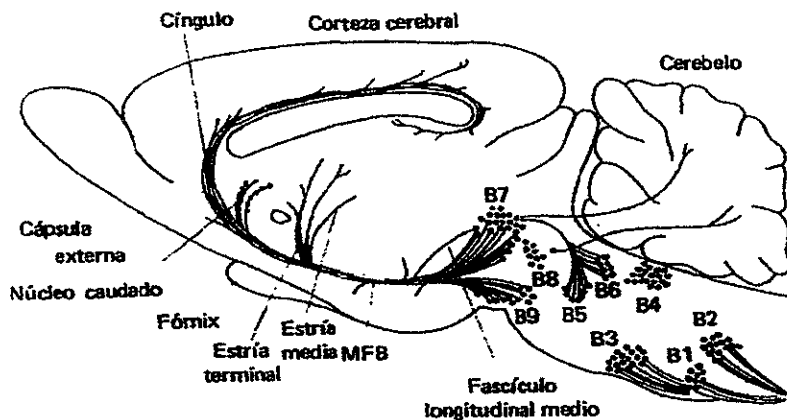


Fig. 3 Distribución de las principales vías que contienen serotonina en el Sistema Nervioso Central.

Fármacos que afectan las neuronas serotoninérgicas.- Hay varios agentes farmacológicos que afectan a las neuronas serotoninérgicas. La paraclorofenilalanina (PCFA) inhibe la enzima triptófano hidroxilasa, bloqueando así la síntesis de 5-HT, la reserpina y la norepinefrina evitan el almacenamiento vesicular de 5-HT, por lo cual desactivan estas sinapsis. La cinancerina actúa como un falso transmisor; se une a receptores serotoninérgicos sin estimularlos.

Las drogas facilitantes incluyen la amitriptilina, que bloquea la recaptación de 5-HT (lo cual normalmente termina el PPS), y la iproniazida, que inhibe la MAO, la enzima que destruye el exceso de 5-HT en los botones terminales. Otra estrategia que se ha utilizado para incrementar la cantidad de 5-HT cerebral ha sido inyectar al animal con el precursor de la 5-HT, el 5-HTF. En el cerebro hay suministros adecuados de

descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, que convierte el 5-HTF en 5-HT. El alucinógeno, dietilamida del ácido lisérgico LSD, ejerce sus efectos en las sinapsis serotoninérgicas, pero no en una forma sencilla: el LSD bloquea los efectos de la 5-HT, pero los otros agentes bloqueadores de la serotonina, como la 2-bromo LSD, no actúan como alucinógenos. Se desconoce la forma precisa en que actúa el LSD. (Carlson, 1994; Cooper, Bloom & Roth, 1996).

CARACTERIZACION DE RECEPTORES 5-HT

La investigación sobre la serotonina y su participación en la mediación de la ansiedad también coincidió con la identificación de numerosos receptores 5-HT en el cerebro (Hamon et al., 1990). Con la aplicación de herramientas de la farmacología (agonistas y antagonistas), la bioquímica (radioligandos) y la biología molecular (clonación de receptores) se han podido hacer numerosos progresos en la identificación y determinación de estos receptores. Hasta el momento la familia de receptores 5-HT incluye al menos cuatro receptores 5-HT₁ (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄) con el receptor 5-HT₁ dividido en cuatro subtipos: 5-HT_{1A-E} (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y el 5-HT_{1C} recientemente clasificado como 5-HT_{2C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}). De éstos, al menos los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1C/2} y 5-HT₃ han sido implicados en la ansiedad (Barret & Vanover, 1993). La existencia de un gran número de receptores con distintas propiedades y patrones de expresión podría permitir a una sustancia individual como la serotonina generar simultáneamente un amplio conjunto de efectos en muchas estructuras discretas del cerebro (Cooper, Bloom & Roth, 1996).

DISTRIBUCION DE LOS RECEPTORES SEROTONERGICOS QUE ESTAN IMPLICADOS CON LA ANSIEDAD

En el cerebro, los tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos presentan una distribución y densidad regional heterogénea (Jacobs & Azmitia, 1992). Por su ubicación en las sinapsis a los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT₃, se les ha denominado intrasinápticos (ubicados directamente en la sinapsis), mientras que a

los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, y 5-HT_{1D}, se les denomina como extrasinápticos por ubicarse en las terminales (Wallis, 1994).

Los receptores 5-HT_{1A} se encuentran preferencialmente en los núcleos del rafe, el hipocampo (giro dentado, regiones CA1 y CA3), el septum lateral, tálamo, la corteza entorhinal, la corteza y la amígdala (Andrade & Chaput, 1991; Julius, 1991; Schröder, 1993).

Los receptores 5-HT₃ han sido identificados en amígdala, corteza olfatoria primaria, corteza entorhinal, en la parte inferior del tallo cerebral, hipocampo, sistema nervioso simpático (Andrade & Chaput, 1991; Barnes, Barnes & Cooper, 1992).

Diferentes repuestas fisiológicas caracterizan a los tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos (Aghajanian, 1995, Andrade & Chaput, 1991; Chaouloff, 1993). La activación de los 5-HT_{1A} en el hipocampo, rafe dorsal, septum lateral, provoca la hiperpolarización de la membrana, disminuyendo los disparos de las neuronas y la liberación de la serotonina. Lo anterior ocurre a consecuencia de un aumento en la conductancia del K⁺ a través de los canales de potasio asociados a la proteína G (Andrade & Chaput, 1991). Existen diferencias en las respuestas que inducen los agonistas 5-HT_{1A}, en los receptores presinápticos se comportan como agonistas completos y en los receptores postsinápticos pueden ser agonistas completos, parciales o antagonistas (VanderMaelen, 1991 citada en Meneses, 1995). El término "receptor presináptico" designa al menos a tres clases: (1) los autoreceptores somatodendríticos (localizados en el cuerpo celular y en las dendritas de las neuronas serotoninérgicas), (2) autoreceptores terminales (en terminaciones de neuronas serotoninérgicas) y (3) heteroreceptores (localizados en neuronas no serotoninérgicas) (Hoyer, Hartig & Humphrey, 1994; Jacobs & Azmitia, 1992; VanderMaelen, 1991). Los receptores presinápticos regulan, local o globalmente la actividad del neurotransmisor endógeno antes de que el mensaje llegue al receptor postsináptico; este último se encarga de activar una serie de segundos mensajeros, que a su vez, se encargarán de que el órgano efector sea activado (Kalsner, 1990).

Se ha encontrado que la activación de los receptores 5-HT₃ provoca una rápida despolarización, al activar directamente a un canal iónico y aumentar la conductancia, semejante a lo que ocurre con la activación del receptor colinérgico nicotínico (Andrade & Chaput, 1991). Los bloqueadores de la recaptura neuronal de la 5-HT, incrementan los niveles de serotonina en el espacio intersináptico, mejorando la neurotransmisión serotoninérgica, que eventualmente suprime, los disparos de estas neuronas por medio de la activación de los receptores presinápticos (Chaput, de Montigny & Blier, 1991).

Aspectos conductuales de la función de la serotonina.- El sistema serotoninérgico está asociado a conductas como la depresión, la agresión, el sueño, disturbios en la ingesta de alimento, conducta motora, temperatura corporal, miedo y ansiedad (Frazer, Maayani & Wolfe, 1990; Julius, 1990). También se sospecha que interviene en la función sexual y se ha escrito sobre su papel fisiológico en la transmisión del dolor y respuesta a las drogas alucinógenas. Los antidepresivos tricíclicos que aumentan la actividad serotoninérgica por inhibición de la recaptación del neurotransmisor serotonina, bloquean el sueño MOR.

La implicación de 5-HT en la ansiedad ha promovido el desarrollo de varios procedimientos para el estudio de los efectos ansiolíticos de drogas serotoninérgicas. Hasta el momento esta área de investigación se caracteriza por numerosos encuentros inconsistentes (Barret & Vanover, 1993). La activación de los receptores 5-HT_{1A} provoca parte del síndrome serotoninérgico (hundimiento de miembros posteriores, pisar con las patas anteriores, hundimiento lateral de cabeza, temblor, rigidez de miembros posteriores, y cola de Straub), altera la actividad exploratoria, ocasiona hipotermia, hiperfagia, evoca sacudidas de la cabeza y el cuerpo, facilita la conducta sexual masculina e inhibe la femenina. Los compuestos con alta afinidad por los receptores 5-HT_{1A} producen efectos antipsicóticos, ansiolíticos, antidepresivos, anti-eméticos, anti-isquémicos, antiepilépticos y analgésicos (Breier, 1995; Evenden & Angeby, 1990; Lucki & Wieland, 1990).

La activación de los receptores 5-HT₃ conduce a efectos ansiolíticos, antidepresivos, analgésicos, anti-eméticos y se están explorando sus efectos para el tratamiento de personas alcohólicas y farmacodependientes (Costall & Naylor, 1992; Hoyer, 1990).

Los efectos centrales que se presentan después de la administración de bloqueadores de la recaptura de la serotonina son antidepresivos, anoréxicos, antipsicóticos y anti-eméticos (Breier, 1995; Fuller, Wong & Robertson, 1991; Wikinson & Dourish, 1991). La serotonina participa en un amplio rango de respuestas de los sistemas nervioso central y periférico; a través de múltiples tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos (Pranzatelli, 1994), así como también a la interacción con otros sistemas de neurotransmisión (Costall & Naylor, 1992).

Se ha señalado que el sistema serotoninérgico participa en los procesos cognoscitivos (Hock, 1995; Squire 1987). Aunque existe poca e inconsistente información sobre los efectos de agonistas y antagonistas de la serotonina, las áreas que se han implicado en el aprendizaje y la memoria son las cortezas frontal, parietal y temporal, la neocorteza, el septum el hipocampo (CA1, CA2 y CA3, vía perforante, complejo subicular), las cortezas entorrinal, perirhinal y parahipocvampal, los núcleos basales, el locus cerelus (Zola-Morgan & Squire, 1993).

DROGAS 5-HT EN MODELOS ANIMALES DE ANSIEDAD

Ha llegado a ser común evaluar los efectos de compuestos ansiolíticos sobre aprendizaje y memoria empleando las versiones de memoria de referencia y/o memoria de trabajo de la tarea de escape al agua de Morris (en Bass, Means & McMillen, 1992).

Se ha observado que en modelos de ansiedad en animales, los agonistas 5-HT_{1A}, los antagonistas 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT₃ producen efectos ansiolíticos. Llama la atención que los fármacos con una acción opuesta a los mencionados arriba no provocan efectos ansiogénicos pero sí el precursor de la serotonina 5-HTP y los

agonistas 5-HT_{1B/2C} (Chopin & Briley, 1987; Dourish, 1987; Meneses & Hong, 1993; Traber & Glaser, 1987; Tsuda, Ida & Tanaka, 1988). En el caso del efecto ansiolítico mediado por los receptores 5-HT_{1A}, diversas evidencias sugieren que puede ser el resultado de una interacción entre los receptores serotoninérgicos localizados pre y postsinápticamente (Glennon & Ducat, 1991; Przegalinski, Tatarczynska, Klodzinka & ChojnackaWojcik, 1994; Sommermeyer, Scheuber, Greuel, De Vry & Glaser, 1993). Aunque la participación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT₃ en el efecto anti-ansiedad se encuentran bien documentados en estudios preclínicos y clínicos (Chaouloff, 1993; Eisosn & Eison, 1994), no existe una explicación para este fenómeno. Aunque se ha llegado a mencionar que es importante la reducción en la actividad de la serotonina en áreas relacionadas con la ansiogénesis y la ansiolisis. No obstante, recientemente se ha propuesto que en el diseño de fármacos para el tratamiento de la ansiedad patológica puede ser más eficaz la combinación de la activación de los receptores pre y postsinápticos 5-HT_{1A} y el bloqueo de los receptores postsinápticos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} y 5-HT₃ (Hamon, 1994). Otros dos casos difíciles de explicar son el efecto de hipotermia y el síndrome serotoninérgico, ambos efectos son modulados por los receptores 5-HT_{1A}, pero en el primero participan receptores presinápticos y en el segundo postsinápticos (Scott, Tang & Frazer, 1994).

Un fármaco que estimula receptores 5-HT y que es ampliamente empleado como ansilítico es la **bupirona**, miembro de los N-alkil-substituyentes aril-piperazinas. Su actividad ansiolítica es comparable al diazepam, clorazepate, alprazolam, y lorazepam aunque su estructura química no esté relacionada con las benzodiazepinas. Sin embargo, en contraste con los efectos farmacológicos comunes de las benzodiazepinas, este fármaco carece de propiedades hipnóticas, anticonvulsivantes y músculo relajantes de aquí que ha sido etiquetado como ansioselectivo. La bupirona y diferentes análogos químicos estimulan específicamente los receptores del subtipo 5-HT_{1A} tanto en sitios postsinápticos y sitios autorreceptores postsinápticos, de neuronas hipocampales y del rafe dorsal.

Puesto que buspirona actúa como un agonista parcial hacia receptores postsinápticos 5-HT_{1A} y como un agonista completo hacia receptores presinápticos sobre las neuronas del rafe dorsal, se ha hipotetizado que un decremento en la actividad 5-HT puede mediar los efectos ansiolíticos de buspirona y compuestos relacionados.

Aunque hay evidencia sustancial indicando que buspirona y otras aril-piperazinas no poseen la habilidad de las benzodiazepinas para producir los efectos colaterales antes mencionados, la literatura está carente de información sobre los posibles efectos de estos compuestos sobre aprendizaje y memoria. En contraste, la habilidad de las benzodiazepinas para deteriorar aprendizaje y memoria ha sido ampliamente reportado tanto en animales como en humanos.

ACIDO GAMMA AMINO BUTÍRICO (GABA)

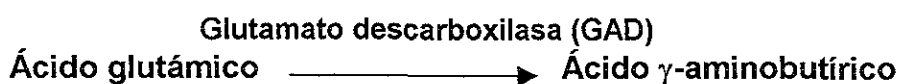
Los aminoácidos han sido separados en dos clases generales: aminoácidos excitatorios (ácido glutámico, ácido aspártico, ácido cisteico y ácido homocisteico), los cuales despolarizan neuronas del SNC de mamíferos; y aminoácidos inhibitorios (GABA, glicina, taurina y β -alanina), los cuales hiperpolarizan neuronas de mamíferos.

Sintetizado en 1883, el GABA fue conocido por muchos años como un producto del metabolismo microbiano y de plantas. No fue sino hasta 1950 que los investigadores identificaron a GABA como un constituyente normal del SNC de mamíferos. Parece que GABA es la sustancia transmisora más abundante en el cerebro de los mamíferos y se ha estimado que del 20 al 50% de las sinapsis del SNC son GABAérgicas. Muchas evidencias apoyan la idea de que el GABA se encuentra en el cerebro funcionando como un transmisor inhibitorio lo que indujo un esfuerzo de investigación exhaustiva para implicar al GABA en la etiología de desórdenes neurológicos y psiquiátricos como la enfermedad de Huntington (se ha sugerido que la enfermedad resulta por la degeneración de células GABA en los

ganglios basales, estructuras cerebrales relacionadas con el control motor), de Parkinson, epilepsia, esquizofrenia, ansiedad depresión, discinecias tardías y demencia senil así como otros diversos desórdenes conductuales (Cooper, Bloom, & Roth, 1996; Paredes & Agmo, 1991).

Síntesis.- El ácido gamma amino butírico se produce por descarboxilación del ácido glutámico. La enzima responsable de esta reacción es la glutamato-descarboxilasa o acidoglutámico-descarboxilasa (GAD), que se halla exclusivamente en las neuronas GABA, la reacción utiliza piridoxal-fosfato como cofactor. Parece que GAD es únicamente saturada en forma parcial por este cofactor, esto ha permitido la hipótesis que el fosfato de piridoxal es importante para la regulación in vivo de la actividad de GAD.

La liberación molecular se efectúa por el impulso nervioso y es dependiente de los iones de calcio. El GABA es inactivado por la glutamato-aminotransferasa (GAT), enzima ampliamente difundida en el sistema nervioso central convirtiéndose en ácido succínico. La enzima GAT parece estar localizada en sitios extraneuronales o en las neuronas postsinápticas, donde puede estar asociada con las mitocondrias.

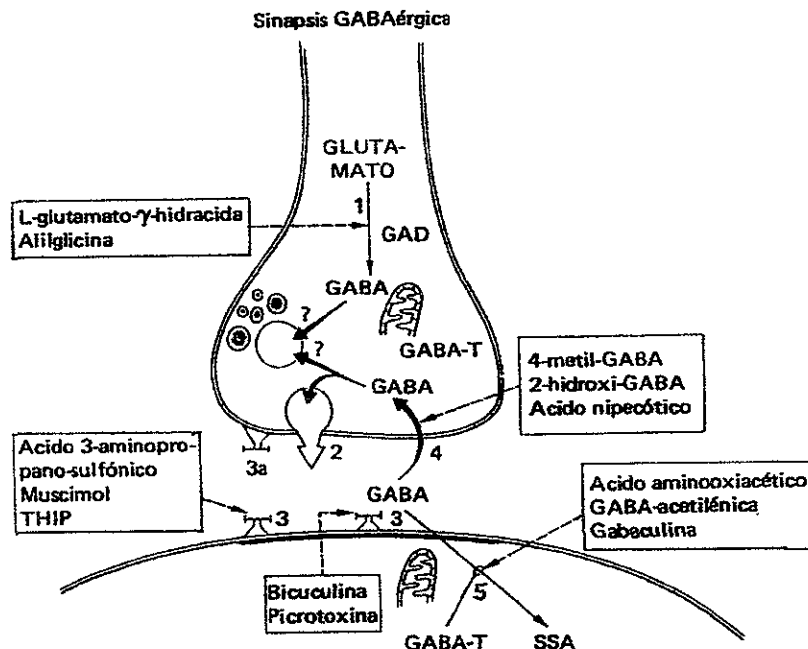


Con isótopos radiactivos se han detectado receptores GABA postsinápticos específicos. En la médula espinal parece que el GABA actúa sobre los receptores presinápticos inhibiendo la liberación de otros neurotransmisores. Las benzodiazepinas y posiblemente los barbitúricos a dosis bajas, aumentan la función GABA, no por un efecto directo, sino por la activación de la conducción GABA, una vez que las células ya han sido estimuladas.

Distribución.- En mamíferos, el GABA es encontrado en altas concentraciones en el cerebro y espina dorsal, pero está ausente o presente en cantidades sumamente

pequeñas en el tejido nervioso periférico como en el nervio ciático, nervio esplénico, y ganglios simpáticos o en algún otro tejido periférico como el hígado, bazo o corazón. La concentración de GABA en el SNC de mamíferos es del orden de $\mu\text{moles/g}$. Es de interés que el cerebro también contenga grandes cantidades de ácido glutámico (8-12 $\mu\text{moles/g}$), el cual es el principal precursor de GABA y es en sí mismo un candidato neurotransmisor. En rata el cuadrigémino y las regiones diencefálicas contienen los más altos niveles de GABA, mientras que bajas concentraciones son encontradas en todos los hemisferios cerebrales, el puente y la médula; la materia blanca contiene relativamente bajas concentraciones de GABA. Los niveles endógenos de GABA incrementan rápidamente después de la muerte: incrementos del 30 al 45% de GABA ocurren dos minutos después de la muerte de ratas si el tejido no es inmediatamente congelado *in situ*. El origen de este incremento súbito es incierto, sin embargo se cree que es el resultado en parte de una momentánea activación de la enzima GAD (Cooper, Bloom & Roth, 1996). Incrementos progresivos en los niveles de GABA y en la actividad ácido glutámico descarboxilasa parecen ocurrir en varias regiones del cerebro durante el desarrollo. Los altos niveles de GABA encontradas en varias regiones del cerebro de monos rhesus parecen correlacionarse bien con la actividad de la glutamato descarboxilasa, enzima responsable de la conversión de L-glutamato a GABA. Este no es el caso para la enzima degradativa GABA-transaminasa, puesto que el globo pálido y la sustancia nigra, los cuales tienen la más alta concentración de GABA, tienen relativamente poca actividad transaminasa. Más aún no parece haber una relación inversa consistente entre la concentración de GABA y la actividad transaminasa. De este modo, algunas áreas del cerebro tales como el núcleo dentado y los colículos inferiores, los cuales tienen relativamente altas concentraciones de GABA, también tienen grandes cantidades de actividad transaminasa (Bowman, & Rand, 1985).

Drogas que afectan al GABA.- Entre las drogas que afectan específicamente el GABA se encuentra la toxina tetánica, que inhibe la liberación de GABA hacia la hendidura sináptica. La picrotoxina, y más específicamente la bicuculina antagonizan los efectos de GABA sobre los sitios receptores, mientras que el muscimol (un agonista) estimula estos receptores. Los efectos postsinápticos del GABA terminan por la recaptación, pero no se han encontrado compuestos que afecten específicamente la rapidez de este proceso (Bowman, & Rand, 1985; Cooper, Bloom, & Roth, 1996). La figura 3 muestra el sitio de acción de algunos fármacos en la transmisión GABAérgica.



- Sitio 1 Síntesis enzimática
- Sitio 2 Liberación
- Sitio 3 Interacción con receptores postsinápticos
- Sitio 3a Autorreceptores presinápticos
- Sitio 4 Recaptación
- Sitio 5 Metabolismo

Fig. 4. Posibles sitios de acción de medicamentos en una neurona GABAérgica.

Vías del sistema GABA.- La localización de sinapsis y neuronas GABAérgicas puede ser investigada con una variedad de técnicas inmunocitoquímicas, las cuales contemplan el marcaje de los elementos que participan en la transmisión GABAérgica, tal como la enzima responsable de la síntesis del GABA (GAD), la enzima inactivadora del GABA (GAT) o el GABA mismo. La revisión de Silvilotti & Nistri (1991) reúne los resultados de estos estudios los cuales indican la presencia de marcadores GABAérgicos en las siguientes regiones del cerebro:

Hipocampo: marcadores GABAérgicos están presentes en toda la región hipocampal. Las células GABAérgicas representan el 11% del total de neuronas hipocampales. Mientras la mayoría de las terminales GABAérgicas parecen originarse desde circuitos neuronales intrínsecos, la formación hipocampal también recibe aferentes GABAérgicos desde la corteza entorhinal vía la ruta perforante y desde el septum probablemente la fimbria-fornix. Diferentes técnicas histológicas para determinar la presencia de GABA en diversas estructuras concuerdan en mostrar altas densidades en zonas de la **corteza olfatoria y neocorteza, bulbo olfatorio, núcleo septal** (incluyendo septum lateral, medio y área de Broca). Otras regiones en las que se ha encontrado el GABA son el **tálamo** (aunque los marcadores GABAérgicos están presentes en las fibras neuronales de todas las áreas talámicas, la densidad de las sinapsis GABAérgicas varía); el **estriado** (gran número de las neuronas neostriatales son GABAérgicas y la reactividad a GAD, GABA-T y GABA está presente en neuronas de talla media 10-30 μ M, con cuerpos celulares fusiformes o redondos distribuidos a través del caudado-putamen y pueden representar más del 80% de la población neuronal de esta área); el **globo pálido** (la mayoría de las terminales GABAérgicas de esta zona pertenecen a aferentes extrínsecas del estriado más que de circuitos neuronales locales); los **núcleos entopedunculares**, y **sustancia nigra** (las células de origen de las terminales GABAérgicas en la sustancia nigra están localizadas en el estriado, particularmente en la parte posterior y en el pálido); el **núcleo accumbens**, el

cerebelo (la corteza cerebelar es un área particularmente rica en estructuras GABAérgicas.), y **núcleos del tallo cerebral** (rafe dorsal) y **espina dorsal**.

Las células cerebelosas de Purkinje poseen neuronas GABA, que al mismo tiempo se hallan bajo la actividad inhibitoria de otros circuitos GABAérgicos situados en la corteza cerebelar. La vía que se inicia en el núcleo caudado y finaliza en la sustancia nigra, ejerce su inhibición sobre las neuronas dopaminérgicas de esta zona; ésta es la razón por la que se han ensayado, aunque con escasos resultados, la administración de las sustancias gabaérgicas en el tratamiento de las discinecias tardías (Bueno et al., 1985). En la corea de Huntington, la pérdida de neuronas GABAérgicas en el núcleo caudado y putamen reduce la inhibición de la sustancia nigra mediada por GABA, la cual a su vez hace que aumente la producción de dopamina por las neuronas nigroestriadas. Esto desequilibra la relación dopamina/acetilcolina en el estriado y se acompaña por movimientos involuntarios (coreicos) no controlados. En esencia esto es la inversa de la pérdida de innervación dopaminérgica nigroestriada, la cual disminuye la producción dopamina/acetilcolina en el estriado y se acompaña con dificultad en el inicio del movimiento visto en el parkinsonismo (Gilman & Newman, 1989).

El tejido cerebral contiene cantidades importantes de GABA. El estudio de los efectos de GABA sobre la función cerebral han tropezado con gran dificultad por el hecho de que cuando se inyecta no atraviesa la barrera hematoencefálica; esto hace imposible incrementar las concentraciones cerebrales de GABA por administración periférica a menos de alterar la barrera hematoencefálica. Algunos investigadores han tratado resolver este problema administrando GABA-lactam (2-pyrrolidinona) a animales en espera de que este compuesto menos polar y más liposoluble pueda penetrar más fácilmente en el cerebro y ser hidrolizado para producir GABA. Esto no fue posible porque el GABA-lactam que alcanzó el cerebro no se hidrolizó. Un intento reciente y más afortunado ha sido el desarrollo de progabide. Este agente penetra al cerebro y es subsecuentemente metabolizado a GABA (Cooper, Bloom, & Roth, 1996). Se ha sugerido que el GABA y omega-

aminoácidos similares pueden tener propiedades inhibitoras sobre la transmisión sináptica central aplicados directamente a la superficie del cerebro.

RECEPTORES GABA

En los vertebrados los receptores de GABA se han dividido en dos clases que difieren en su mecanismo de acción, su farmacología y su distribución: receptores GABA_A y receptores GABA_B. Por ejemplo, estudios radioautográficos han revelado una abundancia de sitios GABA_A en las capas de células granulares del cerebelo donde no están presentes sitios GABA_B. Inversamente, la concentración de sitios GABA_B en los núcleos interpendulares es más alta que la concentración de sitios GABA_A. Ha sido mostrado que ambos subtipos de receptores tienen localizaciones pre y postsinápticas y se piensa que participan independientemente en la transmisión sináptica (Cooper, Bloom & Roth, 1996; Paredes & Agmo, 1992; Silvilotti, & Nistri. 1991). Estudios farmacológicos y conductuales sugieren la existencia de receptores GABA diferentes de los sitios de enlace GABA_A y GABA_B. Recientemente en membranas sinápticas de cerebelo de rata se ha encontrado un tercer tipo de receptor a GABA el cual es insensible a la bicuculina y no activado por baclofen, a este receptor se le ha denominado GABA_C. Otro tipo más es el receptor GABA_X. La presencia de receptores GABA_C y GABA_X, puede ofrecer nuevas posibilidades para revelar funciones conductuales hasta ahora desconocidas de GABA (Paredes & Agmo, 1992).

Receptores GABA_A

El receptor GABA_A es parte de un complejo macromolecular acoplado a un ionóforo (canal iónico) selectivo a Cl⁻. La activación del sitio de reconocimiento a GABA trae como consecuencia un cambio conformacional de la proteína que permite la apertura del ionóforo y en consecuencia el flujo de cloro a través de la membrana, lo que a su vez ocasiona la inhibición de la actividad neural debida tanto a la hiperpolarización como a la reducción en la resistencia de membrana postsináptica,

debido a que la concentración de cloro intracelular es mayor que la extracelular (Paredes & Agmo, 1992; Satelle, 1990).

Este complejo tiene sitios de enlace para benzodiazepinas, barbitúricos y esteroides (moduladores alostéricos).

El complejo receptor GABA_A-canal iónico es una glicoproteína heteropentámera con subunidades polipeptídicas. Cinco clases distintas de subunidades han sido clonadas (α , β , γ , δ , ρ); cada una de las cuales presenta isoformas o subtipos (α_{1-6} , β_{1-4} , γ_{1-3} , δ , ρ_{1-2}) que permiten las bases de una extraordinaria diversidad estructural de los receptores GABA_A. La composición de las subunidades del receptor GABA_A parece variar de una región del cerebro a otra y aún entre neuronas de una región dada. Esta heterogeneidad de las subunidades isomorfas también le confieren al receptor GABA_A una diversidad de respuestas farmacológicas y fisiológicas (Cooper, Bloom & Roth, 1996). La coexpresión de la subunidad γ es necesaria para la potenciación de respuestas del GABA por benzodiazepinas. Además la coexpresión de variantes individuales de la subunidad γ (γ_1, γ_2 o γ_3) con subunidades α y β ocasiona variaciones en el grado de modulación por benzodiazepinas a la acción de agonistas, antagonistas o agonistas inversos. Estudios de marcaje por fotoafinidad han sugerido que el sitio de enlace de benzodiazepinas reside sobre la subunidad α mientras que el sitio de enlace GABA reside sobre la subunidad β . En sí las diferencias sutiles en la organización de subunidades puede resultar en una subpoblación de receptores GABA_A que tienen diferente localización regional y celular, cada uno con diferente sensibilidad a GABA y moduladores alostéricos.

Funcionalmente los receptores GABA_A parecen estar localizados tanto pre (axo-axónicos), como postsinápticamente (axosomáticos y axodendríticos); además existen receptores extrasinápticos que, aunque también son sensibles a la bicuculina, tienen una especificidad diferente a la de los receptores sinápticos (Curtis, 1978). Los receptores presinápticos (autorreceptores) carecen del sitio de reconocimiento a benzodiazepinas (Brennan, 1982).

Compuestos como La isoguvacina, el 4,5,6,7-tetrahidroxiazolo-5,4c-piridin-3-ol (THIP), el muscimol, el ácido 3-aminopropanoilsulfónico (APSA) y el ácido piperidina-4-sulfónico son agonistas GABA_A mientras que bicuculina es un antagonista altamente específico (Paredes & Agmo, 1992).

A mediados de la década de los 70s, la historia del receptor GABA (GABA_A) llegó a estar estrechamente relacionada con la historia del receptor benzodiazepínico. Aún cuando las propiedades ansiolíticas de las benzodiazepinas fueron descubiertas en la década de los 50s, el mecanismo de acción de estas drogas no fue entendido hasta muchos años después. En los años 70s llegó a ser claro que había sitios de enlace específicos en el cerebro para las benzodiazepinas y ellos llegaron a conocerse como los receptores a benzodiazepina. Evidencia concreta de una relación entre GABA_A y los receptores benzodiazepínicos fue encontrada por Tallman y Gallagher (Tallman y Gallagher, 1978 citado en Silvilotti & Nistri, 1991), quienes mostraron que el GABA incrementaba el enlace de las benzodiazepinas. En 1980 el grupo de Barnard reportó la secuencia y expresión funcional de los genes decodificando dos subunidades del receptor GABA_A y mostró que estas dos subunidades podrían formar un canal de cloro funcional, dos años después el grupo de Seeberg identificó un sustituyente adicional capaz para formar canales de cloro sensibles a benzodiazepina, probando así que los receptores al GABA y a benzodiazepina son parte del mismo complejo (Cooper, Bloom & Roth, 1996). La activación del receptor GABA por agonistas GABA trae como resultado la apertura del canal de cloro. El influjo de aniones cloro inhibe el disparo de las neuronas por causa de la hiperpolarización. Las benzodiazepinas incrementan la frecuencia de apertura del canal sin alterar apreciablemente la conductancia del canal o duración de apertura. Los barbitúricos en contraste, ligeramente decrecen la frecuencia de apertura y prolongan la duración de la apertura. Los receptores GABA_A pueden ser funcionalmente alterados por una variedad de compuestos que se enlazan a diferentes sitios del receptor, incluyendo el sitio GABA, el sitio picrotoxina/barbitúrico, el sitio benzodiazepina, y el sitio esteroide. La activación y

modulación del flujo de cloro por GABA y benzodiazepinas es alcanzado por alteraciones dinámicas en la configuración de la proteína. Las benzodiazepinas y ligandos relacionados se enlazan a un único sitio sobre el complejo receptor GABA_A que no sobrelapa los sitios para GABA o picrotoxina. Las drogas que se enlazan al sitio de las benzodiazepinas e incrementan los efectos electrofisiológicos de GABA son llamados agonistas benzodiazepínicos; compuestos que se enlazan al sitio de benzodiazepinas y disminuyen los efectos de GABA son llamados agonistas inversos. Modificaciones sutiles de la estructura química de los agonistas benzodiazepínicos y de agonistas inversos han producido un pequeño número de antagonistas, el más importante es RO15-1788 o flumazenil. Este compuesto tiene muy pocos, si es que algunos efectos farmacológicos cuando se administra solo; sin embargo, rápidamente revierte todos los efectos de agonistas benzodiazepínicos y agonistas inversos y ha probado ser una herramienta experimental muy útil (Cooper Bloom & Roth, 1996).

Receptores GABA_A y benzodiazepinas

El mayor conocimiento del complejo receptor de GABA-benzodiazepina–canal de cloro ha resultado ya en el desarrollo de agentes ansiolíticos selectivos y agentes anticonvulsivantes que carecen de acción sedativa significativa y acción relajante muscular, propiedades que frecuentemente limitan la utilidad de agentes tradicionales como las benzodiazepinas y barbitúricos. Un mejor entendimiento de las características moleculares y de regulación de los múltiples sitios alostéricos del complejo supramolecular y las sustancias endógenas que pueden fisiológicamente favorecer estos sitios no solamente deberían contribuir a nuestro entendimiento de la posible etiología de la ansiedad y desórdenes convulsivos sino también ayudar en el desarrollo de agentes terapéuticos más efectivos y específicos. Una vez que las propiedades funcionales de las subunidades GABA_A y la de sus subtipos esté más claramente definida, sería posible usar este conocimiento en el discernimiento racional y/o el diseño de nuevos agentes subtipo-específicos, clínicamente útiles.

Como ya se ha mencionado, los receptores GABA_A tienen sitios de reconocimiento a las benzodiazepinas y los barbitúricos que modulan la corriente de cloro asociada a la activación del receptor. En presencia de benzodiazepinas aumenta la frecuencia de apertura del canal, mientras que en presencia de barbitúricos aumenta el tiempo medio de apertura del canal. Con el empleo de estudios electrofisiológicos de fijación de voltaje, los estudios farmacológicos muestran que tanto la picrotoxina como la bicuculina reducen la corriente evocada por el GABA, aunque el mecanismo de acción de estos compuestos es diferente: en el primer caso la **picrotoxina** bloquea los canales de cloro, mientras que la **bicuculina** ocupa el sitio de reconocimiento del GABA (inhibición competitiva) (Lummis, 1990; MacDonal & Twyman, 1991; Satelle, 1990).

La picrotoxina se extrae de la semilla de *Anamirta cocculus*, es una mezcla equimolecular de picrotina inactiva y picrotoxinina activa. La picrotoxinina es 50 veces más activa como convulsivante que la picrotina. La picrotoxina antagoniza reversiblemente la acción del GABA en muchas áreas del SNC. En estudios conductuales se ha demostrado que la administración de picrotoxina tiene efectos sobre una diversidad de funciones como: conducta sexual, memoria, regulación de la temperatura, conducta de ingesta, analgesia, entre otras (Bowman & Rand, 1985; Paredes & Agmo, 1992).

La bicuculina es un alcaloide convulsivante que se extrae de la especie *Cordyalis*; bloquea las reacciones hiperpolarizantes de GABA (antagonista altamente específico del GABA).

Distribución cerebral de los receptores GABA_A.- La más alta densidad de estos receptores se encuentra en la corteza frontal, en la capa granular del cerebelo y en el cuerpo geniculado medial (Bowery, Hudson & Price, 1987).

RECEPTORES GABA_B

Receptores GABA insensibles a bicuculina y sensibles al baclofen reciben el nombre de receptores GABA_B. La densidad del receptor GABA_B en el SNC es menor que la del receptor GABA_A. Desde su descubrimiento en 1980, se han desarrollado **agonistas (baclofen)** y **antagonistas (saclofen y faclofen)** para este receptor. Se ha observado que en muchas regiones del cerebro, este receptor se encuentra mediando potenciales postsinápticos inhibitorios lentos. Mientras los receptores GABA_A están directamente asociados con un canal de Cl⁻, los receptores GABA_B parecen estar asociados a canales de Ca²⁺ o K⁺. La acción inhibitoria de la activación del receptor GABA_B parece ser mediada a través del incremento en la conductancia del potasio o decremento en la conductancia de calcio.

Este receptor puede ser distinguido farmacológicamente del receptor GABA_A por su afinidad selectiva por el agonista baclofen y su carencia de afinidad por el muscimol y la bicuculina. La activación de receptores GABA_B presinápticos por el agonista baclofen disminuye la conductancia de calcio y libera el transmisor. Los receptores GABA_B postsinápticos están indirectamente acoplados a canales de potasio vía proteínas G, y ellos median potenciales inhibitorios postsinápticos tardíos (IPSPs). Los receptores GABA_B a diferencia de los GABA_A, no responden a los efectos de los barbitúricos y de las benzodiazepinas (Cooper Bloom & Roth, 1996; Nicoll, Malenka, & Kauer 1990). Estudios *in vivo* e *in vitro* demostraron que el bloqueo de receptores GABA_B con el potente antagonista CGP54626, permitió incrementar la liberación de los neurotransmisores GABA y glutamato y reducir los potenciales inhibitorios postsinápticos tardíos de neuronas CA₁ piramidal hipocampal, y permite un incremento en la excitabilidad neuronal (Cooper, Bloom & Roth, 1996; Paredes & Agmo, 1992).

A nivel central, se han postulado múltiples efectos debidos a la activación de los receptores GABA_B tales como analgesia, relajación muscular, reducción de la actividad epileptiforme, disminución en la consolidación y retención de la memoria así como hipotensión. Estudios conductuales en diversas especies han sugerido

que el bloqueo del receptor GABA_B puede mejorar el aprendizaje social en ratas, la evitación pasiva en ratones y las pruebas de condicionamiento espacial en monos rhesus (Paredes & Agmo, 1992).

Distribución de los receptores GABA_B.- En el sistema nervioso, el mayor número de receptores se encuentra en la capa molecular del cerebelo, en el núcleo interpeduncular y en la corteza frontal (Bowery, Hudson, & Price, 1987).

CAPITULO 3

SISTEMAS NEUROQUIMICOS Y SU IMPLICACION EN LOS PROCESOS MNEMICOS Y LA ANSIEDAD

Además de las hormonas, múltiples sistemas de neurotransmisión participan en el aprendizaje y la memoria (Decker & McGaugh, 1991). En los estudios sobre la enfermedad de Alzheimer en la que se manifiestan trastornos en la memoria se han descrito alteraciones en acetilcolina (Bartus, Dean, Beer, & Lippa, 1982; Fibiger, 1991), GABA (Bowery, Maguire & Pratt, 1991; Brioni, 1993), glutamato (Danysz & Archer, 1994), catecolaminas (McGaugh, 1989a) y serotonina (Hock, 1995; Squire, 1987).

Parece ser que el papel que juegan los sistemas neuroquímicos sobre estos procesos es diferente. Se ha propuesto que el papel de la serotonina sobre el aprendizaje y la memoria sea a través de la modulación de procesos perceptuales (Beninger, 1989; Fuxe, Agnati, Ögren, Anderson, & Benfenati, 1983); mientras que las catecolaminas parecen modificar los niveles de atención que intervienen en adquisición y recuperación de la información, o bien a través de sus efectos a nivel periférico (Quatermain, 1983; Squire & Davis, 1981).

El estudio del aprendizaje y la memoria se ha abordado especialmente, observando cómo se modifica en sujetos experimentales la manifestación de una respuesta cuando se aumenta o disminuye la actividad de un neurotransmisor. La actividad de dicho transmisor puede variar con la administración de sustancias (drogas) capaces de incrementar la actividad del neurotransmisor (agonistas), o de sustancias que disminuyan su actividad (antagonistas).

Cuando el interés en la investigación es establecer si el compuesto tiene efecto sobre el aprendizaje (adquisición), entonces la sustancia se administrará antes del entrenamiento. Es necesario que en estos casos el protocolo experimental permita dissociar los efectos de la droga sobre los procesos cognoscitivos de las alteraciones motivacionales, motoras, de sensibilidad de los sujetos o de un aprendizaje dependiente de estado. Cuando el punto de interés es la memoria, los tratamientos se administrarán después del entrenamiento. En este caso el tiempo que transcurre

entre el entrenamiento y la administración de la sustancia puede variar, dependiendo si se está estudiando memoria de corto o largo plazo.

Si bien como se indicó son varios los neurotransmisores implicados en los procesos de aprendizaje y memoria, también está documentado que ellos participan además en otras funciones. Tal es el caso del GABA el cual está implicado con el control motor, la depresión y la ansiedad entre otros desórdenes conductuales. También la serotonina está asociada a conductas como la depresión, la agresión, la ingesta, la conducta motora, el miedo y la ansiedad (Frazer, Maayani & Wolfe, 1990; Julius, 1991). Así mismo, se ha observado que determinada estructura cerebral resulta ser el sustrato anatómico de más de un efecto conductual. Por ejemplo, las mismas estructuras límbicas: amígdala, hipocampo y septum están implicadas tanto en la ansiedad como en la memoria (Hamon, 1994). Esto ha llevado a los investigadores a desarrollar estudios tendientes a establecer las relaciones o el efecto modulador entre los neurotransmisores y también a precisar el o los sitios anatómicos responsables de una determinada conducta en estudio.

Puesto que en este trabajo se pretende obtener información que permita esclarecer la relación que existe entre los procesos mnemónicos aprendizaje/memoria, de dos sustancias ansiolíticas: diazepam (agonista GABA) y buspirona (antagonista 5-HT) así como de dos sustancias ansiogénicas: bicuculina y picrotoxina (antagonistas GABA) comparando sus efectos con los producidos con la administración del anticolinérgico muscarínico escopolamina, a continuación se describe por un lado, la evidencia que muestra la participación de los neurotransmisores acetilcolina, GABA y serotonina en la adquisición y mantenimiento de varias conductas, y por el otro, información que muestra la participación del GABA y de la serotonina en la ansiedad. También se presenta una breve descripción de algunos modelos empleados en el estudio de agentes ansiolíticos.

NEUROFISIOLOGIA DEL APRENDIZAJE Y LA ACETILCOLINA

Cuando las neuronas colinérgicas del cerebro anterior basal son lesionadas en ratas y primates, ocurre una pérdida en las funciones de memoria (Flicker, Dean, Watkins,

Fisher, & Bartus 1983; Irie, & Markowitsch, 1987), y ese déficit puede ser prevenido por la administración de agonistas muscarínicos. En contraste, los antagonistas muscarínicos interfieren con la formación de memoria (Bartus, Dean, Pontecorvo & Flicker, 1985), y en los animales con lesión en el cerebro anterior basal se muestra un incremento en la sensibilidad a los efectos amnésicos de antagonistas muscarínicos (Aigner, Mitchell, Aggleton, DeLong, Struble, Price, Wenk, & Mishkin 1987).

Un decremento en la inervación colinérgica ascendente al cerebro anterior ha sido demostrada en la enfermedad de Alzheimer sugiriendo que al menos parte de los déficits neurológicos de esta enfermedad pueden ser atribuidos a la pérdida de neuronas colinérgicas (Bowen, Smith, White & Davison, 1976; Davies & Maloney, 1976; Rossor, Garret, Johnson, Mountjoy, Roth, & Iversen, 1982). Además se ha observado que el grado de deterioro neurológico en esta enfermedad se encuentra bien correlacionado con el decremento de la actividad de acetiltransferasa de colina postmortem en el cerebro en comparación con el decremento de otros sistemas neurotransmisores.

Diversos experimentos con animales apoyan la evidencia de que la administración de drogas anticolinérgicas produce amnesia (Bartus, Dean, Pontecorvo & Flicker, 1985; Fibiger, 1991; Overstreet, 1984; Warburton & Wenses, 1984), mientras que la facilitación de la actividad colinérgica mejora los procesos de memoria (Bammer, 1982; Elrod & Buccafusco, 1988; Quatermain & Jung, 1989). Una de las tareas conductuales más usadas en este campo es la evitación inhibitoria de un ensayo; en la mayoría de los casos la administración de inyecciones de escopolamina (antagonista muscarínico) antes o después del entrenamiento produce un profundo estado amnésico (Bammer, 1982), también se ha demostrado que la administración de esta droga después del entrenamiento, produce amnesia dependiente de la dosis y de la intensidad del choque eléctrico (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá 1990), algunos resultados también aportan evidencias opuestas (Lewis & Bregman, 1972; Meyers, 1965). Otra situación observada es que la amnesia producida por la aplicación sistémica o en áreas específicas del cerebro (estriado) de drogas

antimuscarínicas, no se manifiesta cuando los animales son sobre-entrenados en tareas motivadas positivamente o cuando ellos son sobre-reforzados en situaciones de evitación pasiva (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá 1990; Giordano & Prado-Alcalá, 1986; Prado-Alcalá & Cobos-Zapiaín, 1977; Prado-Alcalá, Kaufman, & Moscona, 1980).

Un estado amnésico fue producido por la administración sistémica de escopolamina (8.0 mg/kg) en ratas que fueron entrenadas con bajas intensidades (2.5-2.7 mA); mientras que con intensidades altas (2.8, 2.9 o 3.0 mA) se presentó una perfecta retención. Estos datos sugieren por un lado, la participación crítica de la acetilcolina en la consolidación de la memoria, y por el otro, que es necesario alcanzar un umbral en la magnitud del reforzador negativo, donde la actividad colinérgica del sistema nervioso ya no es necesaria para el desarrollo de los procesos de consolidación (Cruz-Morales, Durán-Arévalo, Díaz del Guante, Quirarte & Prado-Alcalá, 1992).

Por otro lado, en condiciones de bajo-reforzamiento (0.3-0.6 mA) y sobre-reforzamiento (0.9 y 1.0 mA) la escopolamina (8.0 mg/kg) no produce déficit en la retención, pero cuando la intensidad del choque se encuentra entre 0.7 y 0.8 mA la consolidación se interrumpe, lo que sugiere que hay justo un umbral para el efecto protector del sobre-reforzamiento contra la amnesia inducida por escopolamina; también parece haber una mínima cantidad de estimulación aversiva que debe ser alcanzada para activar el mecanismo colinérgico implicado en la consolidación de la memoria (Quirarte, Cruz-Morales, Díaz del Guante, García & Prado-Alcalá 1993).

Aunque se ha reportado que lesiones de algunas estructuras del cerebro producen deterioro en la ejecución de tareas instrumentales y que lesiones similares no interfieren con las mismas tareas en condiciones de sobre-entrenamiento (Markowitsch, Kessler & Streicher, 1985; Thatcher & Kimble, 1966), poco se sabe acerca de los eventos neuroquímicos que median este fenómeno. Se ha mostrado que un estado amnésico es inducido por bloqueo colinérgico e interferencia generalizada con la actividad neural del estriado, y que en condiciones de sobre-entrenamiento y sobre-reforzamiento esos tratamientos son inocuos (Pérez-Ruíz, & Prado-Alcalá, 1989; Prado-Alcalá, 1985). Parece que cuando un animal es expuesto

a una experiencia de aprendizaje acrecentada (incrementa el número de ensayos o la magnitud del reforzador) no únicamente el sistema colinérgico estriatal sino el estriado como un todo es librado de las funciones de memoria.

El efecto protector del sobre-reforzamiento contra las propiedades amnésicas de la escopolamina fuertemente sugiere que la acetilcolina central no está involucrada en la consolidación de memoria de tareas que implican parámetros de entrenamiento los cuales pueden producir la activación de un número mayor de estructuras cerebrales.

Diferentes hallazgos experimentales sugieren la posibilidad de que las funciones de memoria (al menos el condicionamiento instrumental) no estén mediados por conjuntos fijos de elementos neurales/bioquímicos, más bien, parece que esas funciones de memoria que han sido dependientes de la actividad de regiones cerebrales específicas, tales como la amígdala (Thatcher & Kimble, 1966), tálamo (Markowitsch, Kessler & Streicher, 1985), neostriado (Prado-Alcalá, 1985), y sustancia nigra (Cobos-Zapíaín & Prado-Alcalá, 1986) son relevados por otras regiones cuando los animales son sobre-entrenados o sobre-reforzados. Así, cuando hay una interferencia con la actividad de un sistema neuroquímico cerebral, la consolidación de memoria para evitación pasiva es interrumpida. Cuando esta tarea es entrenada bajo condiciones de sobre-reforzamiento, la misma interferencia es totalmente inefectiva en modificar el proceso de consolidación. Así se sugiere que ciertas estructuras cerebrales o sistemas neuroquímicos son necesarios para la consolidación de tareas instrumentales; sin embargo, cuando esas tareas son sobre-entrenadas o sobre-reforzadas la traza de memoria no es representada por el mismo conjunto de estructuras particulares o sistemas neuroquímicos, proponiéndose que después de un aprendizaje acrecentado por la experiencia, la huella de memoria pueda ser ampliamente distribuida en el cerebro (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990).

Con respecto a algunas de las estructuras anatómicas, los datos permiten apoyar la idea de que la actividad colinérgica estriatal es necesaria para la consolidación de la memoria de tareas instrumentales (Solana-Figueroa & Prado-Alcalá, 1990). Por otro lado, también ha sido reportado que lesiones en la amígdala (Parent, Quirarte &

McGaugh, 1993; Parent, Tomaz & McGaugh, 1992; Thatcher & Kimble, 1966) y tálamo (Markowitsch, Kessler & Streicher, 1985) e inyecciones de picrotoxina dentro de la sustancia nigra (Coboz-Zapíaín & Prado-Alcalá, 1986) producen deficiencias en memoria, que son superadas por un incremento de experiencia de entrenamiento.

GABA Y PROCESOS DE MEMORIA Y APRENDIZAJE

Investigaciones interesadas en el posible papel de GABA sobre aprendizaje y memoria han evaluado principalmente los efectos de antagonistas GABA. Cuando la picrotoxina y la bicuculina son administradas en dosis subconvulsivas, incrementan la retención en tareas de evitación inhibitoria (Brioni & McGaugh, 1988; Castellano & Pavone, 1988), evitación activa (Bovet, McGaugh & Oliverio, 1966) y aprendizaje en laberinto (Brioni & McGaugh, 1988; McGaugh, Castellano & Brioni, 1990). En todos estos estudios las drogas fueron administradas post-entrenamiento, sugiriendo que los antagonistas GABA modulan los procesos de almacenamiento de memoria.

Se ha señalado que el efecto amnésico inducido por la administración de agentes anticolinérgicos, depende del grado de entrenamiento: bajo nivel de entrenamiento (Prado-Alcalá & Cobos-Zapíaín, 1977) o sobre-entrenamiento (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990); la magnitud del reforzador: bajo-reforzamiento (Quirarte, Cruz-Morales, Díaz del Guante & Prado-Alcalá, 1993) y sobre-reforzamiento (Cruz-Morales, Durán-Arévalo, Díaz del Guante, Quirarte, Prado-Alcalá, 1992); la tarea (Prado-Alcalá, Cruz-Morales & López-Miro, 1980) y el momento en que se administra el fármaco; (Prado-Alcalá, Cruz-Morales & López-Miro, 1980; Prado-Alcalá, Signoret & Figueroa, 1981); lo que ha llevado a proponer que otros neurotransmisores además de la acetilcolina, puedan estar implicados en la consolidación de la memoria.

La picrotoxina (antagonista GABAérgico) administrada después del entrenamiento produce efectos facilitadores en la memoria (Castellano & McGaugh, 1989). También estos efectos facilitatorios se encuentran con la administración de bicuculina (4.0 mg/kg) después del entrenamiento, cuando los sujetos son entrenados con diferentes intensidades de choque en una tarea de evitación inhibitoria (García-Saldivar & Cruz-

Morales, 1997). En otro estudio, el aumento en la retención de una tarea de evitación inhibitoria producido por bicuculina intentó bloquearse por lesiones en el núcleo caudado, amígdala e hipocampo y sólo con las lesiones en la amígdala y en el hipocampo se bloqueó ese efecto (Ammasari, Pavone, Castellano & McGaugh, 1991). Resultados opuestos fueron obtenidos por Nabeshima y colaboradores quienes encontraron efecto amnésico con la administración de bicuculina o picrotoxina (Nabeshima, Noda, Ito & Kameyama, 1988). Ha sido señalado que parte de las inconsistencias encontradas con los efectos de bicuculina y picrotoxina, pueden deberse a diferencias en los procedimientos, la tarea realizada por los sujetos, la especie utilizada, la intensidad del choque con que los animales son entrenados, etc. (Cruz-Morales, 1992)

Benzodiazepinas y tareas cognitivas.- Las benzodiazepinas, representadas por el diazepam, son las drogas más frecuentemente usadas como agentes terapéuticos relacionados con la ansiedad. Se ha postulado que la acción de las benzodiazepinas es facilitar la neurotransmisión del ácido gamma amino butírico (GABA), con un consecuente incremento de la inhibición de otros sistemas neurotransmisores mediados por GABA (Haefely, 1985 citado en Green & Hodges, 1991).

Los agonistas de los sitios de enlace benzodiazepínico pueden alterar la memoria de trabajo en varias pruebas en animales, de la misma forma que lo hace la escopolamina (Hamon, 1994). En humanos la administración de benzodiazepinas generalmente causa somnolencia y deteriora la ejecución de pruebas psicomotoras (Wada & Fukuda, 1992) y puede interferir en la ejecución de tareas que impliquen aprendizaje y memoria (Ghoneim & Mewaldt, 1975, 1977; Peterson & Ghoneim, 1980). Otros estudios señalan que deteriora la adquisición pero no el recuerdo o la recuperación de información (Ghoneim & Mewaldt, 1975; Lister, 1985) y que afecta la memoria declarativa pero no la de procedimiento (Fang, Hinrichs, & Ghoneim, 1987; Nissen, Knopman, & Schacter, 1987).

Experimentos con animales han aportado evidencia adicional de que el diazepam produce amnesia anterógrada (Decker, Tran, & McGaugh, 1990; Overstreet, 1984;

Thiebot, 1985; Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Souza-Silva, Viana, & Graeff, 1993; Waddington & Olley, 1977; Warburton & Wesnes, 1984). Sin embargo, los estudios en animales generalmente han fallado en demostrar amnesia retrógrada con la administración de diazepam post-entrenamiento (Cahill, Brioni, & Izquierdo, 1986; Jensen, Martínez, Vásquez, & McGaugh, 1979; Thiebot, 1985). También en animales las benzodiazepinas pueden interferir en el aprendizaje y la memoria en pruebas de evitación inhibitoria (Cole, 1986; Sanger, & Joly, 1985), laberinto radial (Hodges & Green, 1986), laberinto de agua de Morris (McNaughton & Morris, 1987) y producen amnesia anterógrada (Patel, Ciofalo & Iorio, 1979; Thiebot, 1985; Tomaz, Brandão, & Garcia-Carrasco, 1992). Únicamente hay dos reportes de amnesia retrógrada causada por benzodiazepinas en animales (Jensen, Martínez, Vasquez & McGaugh, 1979; Patel & Porsolt, 1982, en Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986).

La comparación de las respectivas afinidades de varios agonistas por los dos principales sitios de enlace benzodiazepínicos (BZ_1 con la subunidad α_1 , y BZ_2 con las subunidades α_2 , α_3 , o α_5) con sus efectos en modelos de memoria y aprendizaje no revelan un claro corte de diferencias entre drogas actuando sobre sitios BZ_1 y BZ_2 . Sin embargo, las imidazopyridacinas, alpidem y zolpidem, con alta afinidad por sitios BZ_1 parecen ser menos deteriorantes en la capacidad de aprendizaje y memoria, que las benzodiazepinas que actúan sobre sitios BZ_1 y BZ_2 (Zivcovic, 1990 en Hamon, 1994).

Puesto que existe numerosa evidencia experimental que muestra que las drogas con propiedades ansiolíticas también son capaces de deteriorar los procesos de aprendizaje y memoria, un amplio grupo de investigadores han propuesto la posibilidad de que estos procesos tengan substratos neurológicos comunes; pero también otros investigadores han sugerido que los procesos mnémicos y la ansiedad sean procesos independientes.

A continuación se señalan algunos trabajos que sustentan una u otra propuesta:

Benzodiazepinas y su relación con la ansiedad y el aprendizaje/memoria.- La escopolamina y el diazepam tienen varios rasgos comunes con relación a sus

efectos sobre aprendizaje y memoria. Evidencias clínicas sugieren que ambas drogas producen amnesia anterógrada. Estudios con sujetos experimentales humanos muestran que escopolamina y diazepam no interfieren con la recuperación de información la cual ha sido adecuadamente almacenada, pero el recuerdo de material aprendido después de la administración de las drogas fue marcadamente deteriorado (Ghoneim & Mewaldt, 1975 y 1977; Lister, 1985). Puesto que la recuperación de información bien aprendida no fue deteriorada y los déficits en el aprendizaje fueron evidentes en las pruebas de recuerdo inmediato seguidas a la inyección, pudiera parecer que el diazepam y la escopolamina primeramente interfieren con los procesos de almacenaje, es decir, estas drogas aparentemente impiden la transferencia de información desde el almacén de memoria de corto plazo al almacén de memoria de largo plazo. Estos compuestos también afectan la memoria declarativa, tal como es demostrado en el recuerdo de información factual específica, pero no interrumpe la memoria procedimental (Fang, Hinrichs, & Ghoneim, 1987; Nissen, Knopman, & Schacter, 1987).

Estudios con animales experimentales han provisto evidencias de que tanto la escopolamina como el diazepam producen deficiencias en la memoria anterógrada (Waddington & Olley, 1977; Overstreet, 1984; Thiebot, 1985). Sin embargo, aún cuando algunas benzodiazepinas tienen efectos retrógrados, estos no se han manifestado con la administración de diazepam después del entrenamiento (Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986; Jensen, Martínez, Vásquez, & McGaugh 1979; Thiebot, 1985).

Debido a la información anterior, Lal y colaboradores (1988) han indicado que además de su efecto ansiolítico, las benzodiazepinas, podrían tener un papel adicional relacionado con la modulación de los procesos de memoria y/o aprendizaje. Además en su estudio, estos autores encontraron que la administración i.p. del antagonista a receptores benzodiazepínicos, flumazenil (Ro 15-1788) en dosis de 2.5 a 40.0 mg/kg antes del entrenamiento, mejoró tanto el aprendizaje y la memoria de ratones en una prueba de discriminación para escapar a un choque eléctrico 2.0 mA por 5 segundos en un laberinto en T. En este estudio, también la administración de

flumazenil antes del entrenamiento previno la amnesia inducida en ratones por el antagonista al receptor colinérgico, escopolamina, empleando una prueba de evitación pasiva. La habilidad del flumazenil para prevenir la amnesia inducida por escopolamina es consistente con una posible implicación del sistema colinérgico cerebral en los efectos de modulación de memoria de benzodiazepinas (Lal, Kumar, & Foster, 1988).

Se ha propuesto que la interferencia de las benzodiazepinas con los procesos aprendizaje/memoria pueda ocurrir vía reducción de la excitación durante la sesión de entrenamiento. Se conoce que diferentes clases de drogas que incrementan la excitación producen una mejora en el aprendizaje y subsecuente retención (Duka, 1987 en Lal, Kumar, & Foster, 1988; McGaugh, 1973), incluyendo ligandos benzodiazepínicos clasificados como agonistas inversos; por tanto, las mejoras en la retención después de flumazenil pueden resultar del incremento de excitación o ansiedad (Venault, Chapouthier, Prado de Carvalho, Simiand, Morre, Dodd & Rossier, 1986 y Duka, 1987 en Lal, Kumar, & Foster, 1988).

También, la administración de bicuculina o picrotoxina (antagonistas GABAérgicos) en combinación con escopolamina, son capaces de revertir el efecto amnésico de ésta última durante tareas de evitación inhibitoria, por lo que también Cruz-Morales y colaboradores han propuesto una interrelación entre los sistemas neuroquímicos colinérgico y GABAérgico (Cruz-Morales, Quirarte, Díaz del Guante & Prado-Alcalá, 1993). Por otro lado, numerosa evidencia experimental atribuye un papel clave a la neurotransmisión GABA durante la modulación de conductas de miedo/defensivas. Se ha encontrado que inyecciones sistémicas o intra-amígdala de agonistas GABA reducen el miedo y la ansiedad experimental, mientras que antagonistas GABA los acrecientan (Graeff, 1990 en Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Souza-Silva, Viana, & Graeff, 1993).

Investigaciones realizadas por Izquierdo y colaboradores (Da Cunha, Huang, Walz, Dias, Koya, Bianchin, Pereira, Izquierdo & Medina, 1991; Izquierdo, Da Cunha, Huang, Walz, Wolfman & Medina, 1990 en Tomaz, Dickinson-Anson & McGaugh, 1991), sugieren que el deterioro de la memoria por benzodiazepinas implica

receptores GABAérgicos tipo A en la amígdala. La evidencia experimental indica que el tipo de memoria en el que está implicado el complejo amigdaloides es particularmente, memoria de base emocional (Cahill & McGaugh, 1990; LeDoux, 1993). El muscimol y el baclofen (agonistas GABAérgicos), administrados después del entrenamiento, provocaron deterioro en la retención de la memoria mientras que la picrotoxina y la bicuculina (antagonistas GABAérgicos), mejoraron la retención (Breen & McGaugh, 1961; Brioni, Nagahara, & McGaugh, 1989; Castellano, & Pavone, 1988). La evidencia resumida arriba sugiere que tanto los efectos ansiolíticos como los amnésicos de GABA/BDZ son mediados por la amígdala. Los trabajos de Tomaz y colaboradores sugieren que los sistemas cerebrales implicados en la ansiedad y en la modulación de la memoria están extensivamente traslapados (Tomaz, Brandão & Garcia-Carrasco, 1992). En otros estudios, empleando procedimientos de lesión en zonas específicas de la amígdala los resultados indican que la amnesia inducida por el diazepam (y benzodiazepinas en general), en entrenamiento de evitación inhibitoria es mediada, al menos en parte, a través de influencias que implican en particular el núcleo basolateral amigdalino. También en este trabajo se propone que los efectos ansiolíticos y amnésicos del diazepam y benzodiazepinas pueden implicar el mismo neuromecanismo o estar traslapados (Tomaz, Dickinson-Anson, & McGaugh, 1991; Tomaz, Dickinson-Anson, & McGaugh, 1992; Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Souza-Silva, Viana, & Graeff, 1993). Pero por otro lado, McNamara y Skeleton (1993) buscando también determinar el sitio neuroanatómico a través del cual los efectos amnésico y ansiolítico del agonista benzodiazepínico, clordiazepóxido es mediado, evaluaron ansiedad, como thigmotaxia, en un campo abierto y en el laberinto de agua de Morris evaluaron aprendizaje espacial. Administraron 60 nmol/μl de clordiazepóxido en la corteza frontal, núcleo magnocelular basal/sustancia innominata, amígdala, hipocampo o cerebelo. Las infusiones intracraneales revelaron una especificidad neuroanatómica para las acciones amnésica y ansiolítica del clordiazepóxido ya que los resultados indican que el septum medial y la amígdala median los efectos amnésicos y

ansiolíticos respectivamente, por lo que sugieren que las acciones amnésicas y ansiolíticas del clordiazepóxido son independientes.

NEUROFARMACOLOGIA DEL APRENDIZAJE Y 5-HT

La información que apoya la participación de la serotonina en el aprendizaje y la memoria es resumida por Meneses (1995) de la manera siguiente: (1) Existe una amplia distribución neuroanatómica de las proyecciones serotoninérgicas en estructuras relacionadas con el aprendizaje y la memoria (Schröder, 1993; Schulties & Martínez, 1992; Squire, 1987). (2) En personas con alteraciones en el aprendizaje y la memoria se han registrado alteraciones en los niveles de serotonina, sus metabolitos y en el número de sus receptores (Dewar, Graham & McCulloch, 1990; Hock, 1995; McEntee & Cook, 1991; Wallin & Goottfries, 1990); (3) Se observa un bloqueo del aprendizaje cuando se aumentan los niveles de la serotonina en el hipocampo y con la administración de algunos antagonistas serotoninérgicos (Altman & Normile, 1988; Costall & Naylor, 1992; Decker & McGaugh, 1991).

Se han reportado diversas alteraciones en la actividad serotoninérgica en personas amnésicas, pacientes con la enfermedad de Alzheimer y en ancianos (Altman & Normile, 1988; Dewar, Graham, & McCulloch, 1990; McEntee & Cook, 1991; Wallin & Goottfries, 1990). Existe la propuesta que el sistema serotoninérgico puede modular el aprendizaje y la memoria (Schulties & Martínez, 1992; Squire, 1987), pues proyecta a casi todo el cerebro. Durante el proceso de envejecimiento disminuyen las concentraciones de serotonina, de su principal metabolito 5-HIAA (ácido 5-hidroxi-indolacético) y el número de receptores para esta amina (McEntee & Cook, 1991; Wallin & Goottfries, 1990). En algunos pacientes con la enfermedad de Korsakoff, la administración de un inhibidor de la recaptura de la 5-HT, disminuyó las alteraciones en la memoria (McEntee & Cook, 1991). Algunos autores han administrado agonistas y antagonistas serotoninérgicos (Altman & Normile, 1988; Briley, 1990; Gower, 1992; McEntee & Cook, 1991).

Hay pocos trabajos que describen los efectos de la serotonina y agentes serotoninérgicos en aprendizaje y memoria, sin embargo algunos muestran que un aumento o decremento en la actividad serotoninérgica, deteriora o mejora respectivamente, dichos procesos cognoscitivos (Altman & Normile, 1988; Briley, 1990; Costall & Naylor, 1992; Decker & McGaugh, 1991; McEntee & Cook, 1991). La administración del precursor de la serotonina, 5-hidroxitriptofano (5-HTP), o la estimulación eléctrica de los núcleos de rafe da como resultado una mayor liberación de la 5-HT y un decremento en el aprendizaje (Altman & Normile, 1988; Gower, 1992; McEntee & Cook, 1991). Diversos autores han notificado que las sustancias p-cloroanfetamina (PCA), p-clorofenilalanina (PCFA) o 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT), neurotoxinas que reducen la síntesis de serotonina, mejoran, bloquean o no modifican los procesos de aprendizaje y memoria (Altman & Normile, 1988; Barzilai, Kennedy, Sweatt & Kandel, 1989; Costall & Naylor, 1992; Gower, 1992; McEntee & Cook, 1991). Existe evidencia de que la administración de serotonina facilita el aprendizaje de invertebrados como la aplisia (Barzilai, Kennedy, Sweatt, & Kandel, 1989).

Hay discrepancias con respecto al papel de agonistas 5-HT_{1A} como el [(8-hidroxi-(di-n-propilamino)tetralin)] 8-OH-DPAT sobre los procesos cognoscitivos. Algunos autores indican que mejoran el aprendizaje (Winter & Petti, 1987), mientras que para otros autores lo bloquean (Carli & Samanin, 1992; Carli, Luschi, Garofalo & Samanin, 1995). En estos trabajos se encontró que con dosis del 8-OH-DPAT mayores de 0.25 mg/kg administradas antes del entrenamiento o de la sesión de prueba se lograba disminuir el aprendizaje espacial pero no el visual. Para Meneses (1995), estos resultados pueden atribuirse a efectos inespecíficos, ya que tanto la prueba conductual (prueba de evitación o laberinto con agua) empleada y la forma de administración del fármaco pudieron determinar si el cambio observado fue sobre el aprendizaje o en factores motivacionales, motores, perceptuales, etc. La administración de un fármaco antes del entrenamiento, no permitirá dissociar si los efectos del compuesto ocurren sobre los procesos cognoscitivos o son producto de

las alteraciones motivacionales, motoras, entre otras originadas por el propio compuesto.

El agonista 8-OH-DPAT fue el primer ligando selectivo usado para discriminar el receptor 5-HT_{1A} de otros subtipos de receptores pues se ha mostrado que este compuesto produce muchas respuestas funcionales que se considera son el resultado de la activación del receptor 5-HT_{1A}. La rápida disponibilidad de 8-OH-DPAT como ligando altamente selectivo del receptor 5-HT_{1A}, inevitablemente enfocó más atención sobre el receptor 5-HT_{1A} comparada con otro subtipo de receptor 5-HT₁. Otra circunstancia que reforzó el estudio de este receptor fue el descubrimiento de un ansiolítico no benzodiazepínico, buspirona, con enlaces de alta afinidad al receptor 5-HT_{1A} (Fletcher, Cliffe & Dourish 1993).

Serotonina y su relación con la ansiedad y el aprendizaje/memoria.- Ha sido ampliamente aceptado que las neuronas 5-HT promueven la ansiedad, esto ha permitido la investigación de drogas las cuales reducen la función 5-HT. Sin embargo estos agentes novedosos tienden a presentar efectos variables en modelos animales. De los diversos subtipos de receptores serotoninérgicos identificados en el cerebro, al menos el 5-HT_{1A}, 5-HT_{1C/2} y 5-HT₃ han sido implicados en la ansiedad (Barret & Vanover, 1993).

Numerosos estudios han permitido establecer que el sistema serotoninérgico está también implicado con los procesos que subyacen al aprendizaje y a la memoria (Altman & Normille, 1988; Ögren, Johanson & Magnusson, 1985). Los datos sugieren que el incremento en la neurotransmisión serotoninérgica deteriora la adquisición y la retención de respuestas de evitación de una vía, mientras que su decremento aumenta la adquisición (Ögren, 1982).

Concretamente Beninger (1989) ha argumentado que el neurotransmisor serotonina puede jugar un papel en la modulación de entradas perceptuales y posiblemente en la modulación de la fortaleza de las sinapsis mediando el aprendizaje de asociación entre estímulos.

Desafortunadamente, relativamente pocos estudios han sido destinados al estudio del posible efecto sobre memoria de ansiolíticos de tipo no benzodiazepínico (Hamon, 1994). Sin embargo, datos en animales claramente muestran que la buspirona, el agonista parcial de receptores 5-HT_{1A} también interrumpe la adquisición y la retención en aprendizaje de evitación (Venault, et al., 1986), dirigiendo el asunto hacia un inevitable enlace entre ansiedad, memoria y aprendizaje. Además, en contraste con los ansiolíticos, drogas ansiogénicas como los β -carbonilos, promueven la capacidad de aprendizaje en ratas (Bass, Means, & McMillen 1992). Se conoce que la buspirona, junto con un número de compuestos relacionados como la gepirona e isapirona, tienen propiedades agonistas o agonistas parciales para receptores 5-HT_{1A} en el hipocampo (Rowan & Anwyl, 1986; Andrade & Nicoll, 1987), una región del cerebro la cual es considerada de principal importancia en la ejecución de ciertas pruebas de aprendizaje y memoria las cuales son sensibles a otras drogas ansiolíticas (McNaughton & Morris, 1987). Es además de interés práctico y teórico estudiar los efectos de buspirona sobre una variedad de pruebas y aprendizaje y memoria, especialmente aquellas las cuales se conoce son afectadas por otros ansiolíticos.

Rowman, Cullen & Moulton (1990) realizaron un experimento donde la administración de dosis de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg (ip) de buspirona no afectó la actividad exploratoria de ratas, en un medio ambiente novedoso, mientras que la buspirona a 1.0 y 2.0 mg/kg deterioró la recuperación de la ejecución (24 horas después) de una tarea de evitación pasiva (I=0.5 mA/5 s) cuando las dosis se administraron 30 min antes de entrenamiento y antes de la sesión de prueba o 30 min antes de la sesión de prueba únicamente, pero no cuando estas dosis se administraron antes del entrenamiento únicamente. También en este estudio encontraron evidencia sobre un posible efecto amnésico de buspirona (2.0 mg/kg) sobre la adquisición y los ensayos de prueba en la tarea de navegación espacial; donde la latencia durante el entrenamiento para encontrar una plataforma de escape sumergida en un laberinto de agua fue incrementada.

En otro estudio Bass, Means & McMillen (1992) evaluaron los efectos de la buspirona, aquí los resultados sugieren que dosis de 1.0, 3.0 y 10 mg/kg deterioran la conducta de escape en una tarea de memoria de trabajo en un laberinto de agua.

Dada la implicación del sistema serotoninérgico sobre los procesos mnemónicos, otra aplicación clínica potencial para los antagonista selectivos 5-HT_{1A} es en el tratamiento de la demencia (Fletcher, Cliffe, & Dourish, 1993). Biopsias de muestras obtenidas de pacientes con enfermedad de Alzheimer indican que las neuronas neocorticales críticamente dañadas son células piramidales cortico-corticales que usan glutamato como un neurotransmisor. La degeneración de estas neuronas en la enfermedad de Alzheimer conduce a un déficit en la neurotransmisión excitatoria glutamatergica. Esta deficiencia puede ser parcialmente corregida por el uso de antagonistas 5-HT_{1A} que podrían incrementar la transmisión de glutamato por inhibición de la acción tónica hiperpolarizante de 5-HT endógena a receptores 5-HT_{1A} localizados sobre las neuronas piramidales que contienen glutamato (Francis & Sims, 1993 en Fletcher, Cliffe, & Dourish, 1993).

Esta posibilidad terapéutica es particularmente atractiva en vista del encuentro que hay una alta densidad de receptores 5-HT_{1A} sobre neuronas piramidales neocorticales en humanos, las cuales se cree son glutamatergicas (Bowen, 1990 en Fletcher, Cliffe, & Dourish, 1993), y las evidencias de los estudios post-mortem han demostrado una pérdida significativa de sitios de enlace corticales a receptores 5-HT_{1A} en la enfermedad de Alzheimer (Bowen, 1989 en Fletcher, Cliffe, & Dourish, 1993).

Por otro lado, Hamon (1994) ha señalado que puesto que las mismas estructuras límbicas (amígdala, hipocampo y septum) están implicadas tanto en la ansiedad como en la memoria, es probablemente ilusorio esperar ansiolíticos sin efectos sobre la cognición en humanos.

AGENTES ANSIOLITICOS Y UTILIZACION DE PRUEBAS ANIMALES

Los agentes ansiolíticos, también llamados tranquilizantes menores, han sido definidos en un sentido general como una serie de compuestos utilizados para el

tratamiento de la ansiedad humana. El estado de ansiedad se caracteriza por hiperactividad, con elevación de la presión sanguínea y de la tasa cardiaca, incremento de la sudoración, y resequedad de boca y garganta, puede presentarse dolor gastrointestinal, tensión muscular, vértigo; y a veces va acompañada de estados afectivos y cognoscitivos de incremento de vigilancia, inquietud, distracción y aprehensión, la fatiga motora e insomnio son comunes.

Aunque los barbitúricos fueron frecuentemente usados para el tratamiento de tales síntomas, el primero de los agentes químicos específicos que han sido utilizados para el tratamiento de los pacientes ansiolíticos fue el meprobramato. El problema de las terapias con barbitúricos y meprobramato fue el desarrollo de tolerancia después de su uso continuo, el síndrome de retiro después de suspender su uso, y la depresión respiratoria que se presenta a dosis que no fueron demasiado lejos de las dosis efectivas terapéuticamente. Durante los 60' las benzodiazepinas (clordiazepóxido, diazepam) llegaron a reemplazar a los barbitúricos y al meprobramato como las drogas de elección en el tratamiento de la ansiedad, principalmente porque fueron relativamente seguras comparadas con los compuestos anteriores (Green, & Hodges, 1991; Treit, 1985). La cuantificación del efecto sobre el comportamiento ansioso puede llevarse a cabo a través de ciertos patrones de medida en los animales de experimentación, tales como la actividad miorrelajante, la actividad anticonvulsivante o el efecto anticonflicto entre otros. La prueba de Geller es una prueba de conflicto muy empleada, en la cual el comportamiento de las ratas (obtener alimento) resulta inhibido por el castigo (choque eléctrico cuando se aproximan a la comida), hasta que finalmente las ratas dejan de alimentarse. Las benzodiazepinas producen un efecto desinhibitorio sobre dicha conducta de evitación, aumentando las respuestas, que son a la vez castigadas y recompensadas (Bueno, Sabanes, Salvador & Gascón, 1985).

Dos ansiolíticos serán usados en este estudio, el diazepam y la buspirona. El **diazepam**, una benzodiazepina, es un medicamento dos o tres veces más potente que el clordiazepóxido y actúa principalmente sobre el sistema límbico (núcleo amigdalino, hipocampo y septum). Tiene gran valor para aliviar la ansiedad, la

tensión, la inquietud y la excitación psicomotriz. Como relajante muscular, se ha utilizado en casos de espasmo post-traumático, esclerosis múltiple, disquinesia tardía y parkinsonismo. En crisis fóbicas o de pánico, es el medicamento de elección (Uriarte, 1988). La **buspirona**, un miembro del N-alquil-sustituido aril-piperacina, tiene actividad ansiolítica comparable al diazepam, clorazepate, alprazolam y lorazepam aunque estructuralmente no está relacionado a las benzodiazepinas. En contraste con los efectos farmacológicos comunes de las benzodiazepinas, la buspirona carece de propiedades hipnóticas, anticonvulsivas y músculo relajantes de aquí que ha sido etiquetada como ansioselectivo (Bass, Means & McMillen, 1992). No produce ataxia ni hipoactividad y como no muestra actividad en el receptor GABAérgico ni en el benzodiazepínico, no presenta tolerancia cruzada. Tiene afinidad con los receptores dopaminérgicos presinápticos, y en dosis elevadas, muestra una leve actividad neuroléptica. También incrementa la actividad noradrenérgica (Uriarte, 1988). Aunque hay evidencia sustancial indicando que la buspirona y otras aril-piperazinas no poseen la habilidad de las benzodiazepinas para producir los efectos colaterales antes mencionados, la literatura está carente de información sobre los posibles efectos de estos compuestos sobre aprendizaje y memoria (Bass, Means & McMillen, 1992).

MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE AGENTES ANSIOLITICOS

Los compuestos ansiolíticos tienen una variedad de efectos conductuales razonablemente distintivos. Sin embargo, únicamente pocos de estos efectos, han servido de base para intentar desarrollar modelos animales para evaluar la acción de drogas ansiolíticas. Los fenómenos básicos que los investigadores han intentado usar como fundamento para los modelos de la acción de drogas ansiolíticas pueden ser agrupados en tres categorías (Treit, 1985):

A) Modelos basados sobre los efectos de ansiolíticos probados sobre reacciones animales simples o “incondicionadas”: efecto sobre el estereotipo inducido por anfetaminas, efecto sobre reacciones de estrés somático, efecto sobre

tono muscular, efecto de ataques inducidos por pentileno-tetrazol (PTZ), efectos sobre conducta agresiva, efectos sobre conducta consumatoria, efectos sobre conducta exploratoria y efectos sobre conducta social de roedores.

B) Modelos basados sobre los efectos de ansiolíticos en paradigmas de aprendizaje animal tradicional: efectos sobre respuesta emocional condicionada (CER), efectos sobre respuestas de evitación condicionada (pasiva y/o activa), efectos sobre conducta castigada: prueba del conflicto de Geller, efecto de PTZ sobre la discriminación.

C) Modelos basados sobre los efectos de ansiolíticos sobre formas de aprendizaje aversivo “preparadas” filogenéticamente: efecto sobre aversión condicionada al sabor, efecto sobre condicionamiento de enterramiento defensivo.

Puesto que en la metodología de este estudio se emplea el paradigma de evitación inhibitoria se hará una descripción más detallada de este procedimiento cuando se emplea para evaluar los efectos de drogas ansiolíticas.

A pesar de la rapidez y simplicidad del uso de sujetos no entrenados para el estudio de agentes ansiolíticos (modelos basados sobre reacciones animales simples o incondicionadas), muchos investigadores han elegido el uso de animales entrenados en paradigmas de aprendizaje tradicional (condicionamiento clásico, condicionamiento instrumental). En estos paradigmas la aversión al choque eléctrico o el reforzamiento por alimento son usados típicamente para condicionar la respuesta de prueba. La elección de paradigmas de condicionamiento tradicional parece estar guiada por dos intereses. El primero es que debido al uso de animales bien entrenados, la variabilidad dentro del sistema de prueba puede ser reducido, de este modo proveen una prueba más confiable de efectos ansiolíticos. El segundo interés es por alguna concordancia, en términos de estímulo antecedente o respuestas subsecuentes, entre la prueba animal y la ansiedad clínica.

LA RESPUESTA DE EVITACION COMO MODELO PARA EVALUAR ANSIEDAD.

Evitación Pasiva (o Inhibitoria) y Activa

La evitación inhibitoria, un paradigma ampliamente utilizado en estudios de memoria (Gold, 1986), es también un modelo de ansiedad. En evitación inhibitoria el animal es castigado con choque para hacer una respuesta, usualmente locomoción o pasar hacia abajo desde una plataforma elevada. Cuando el animal es nuevamente colocado en el aparato, la respuesta es inhibida. La evitación pasiva depende en condicionamiento clásico de un estímulo aversivo secundario, por ejemplo aprende la asociación entre un **EC** continuo (contexto) o discreto (luz, sonido) y el choque, y la adquisición de una contingencia instrumental entre la respuesta y el choque. Los ansiolíticos desinhiben respondientes castigadas en tareas de evitación pasiva, y en un completo análisis Gray (1982) concluye que su acción es sobre el control de inhibición conductual por señales aversivas secundarias, más que sobre respuestas contingentes al choque (Gray, 1982 en Green & Hodges, 1991).

Este análisis es particularmente fuerte (o lógico) cuando se extiende a efectos de drogas ansiolíticas sobre tareas en las cuales un animal tiene que responder activamente para evitar un choque. En tareas de evitación activa de una vía, un área presenta siempre el choque y otra área es siempre el espacio seguro. El animal adquiere la asociación entre el **EC** y el **EI** (choque), aprende además a anticipar el choque, y responde consiguientemente. En la tarea de dos vías (evitación shuttle), el animal ha de ir y venir repetidamente de un lado al otro de la caja pues el área de choque y la segura son constantemente revertidas. Los sujetos experimentados pueden además evitar el choque únicamente por la aproximación de la señal que previamente ha sido asociada con el choque (Gray, 1982 en Green & Hodges, 1991). Aunque las tareas de evitación pasiva y activa son complejas y están influidas por manipulaciones farmacológicas y de procedimiento, el nivel de control experimental posible, el extenso contexto teórico, y su papel como principales ejemplos de los efectos inhibitorios de estimulación aversiva (mediados a través del "miedo" condicionado o la "ansiedad") las hacen valiosas en el análisis de psicofarmacología de ansiolíticos (Green & Hodges, 1991).

El procedimiento de evitación inhibitoria puede considerarse un solo ensayo o bien ensayos múltiples. El procedimiento de evitación inhibitoria con ensayos múltiples puede presentarse con las siguientes variantes: **evitación inhibitoria en ensayo continuo** y **evitación inhibitoria en ensayo discreto**. Las diferencias metodológicas de estas variantes les confieren rasgos importantes. En el entrenamiento en ensayo continuo la puerta de la cámara de evitación nunca es cerrada, es decir se encuentran en comunicación permanente los compartimentos A y B (área segura o de luz y de castigo u obscura respectivamente) de la cámara durante la administración del choque, permitiéndole a los sujetos experimentales la oportunidad de escapar a este estímulo aversivo regresando al compartimento de luz. Es así como este procedimiento de ensayo continuo presenta tanto el componente de escape como el de la evitación. En el procedimiento de ensayo discreto la puerta permanece cerrada durante la administración del choque de tal manera que a diferencia del procedimiento anterior la longitud del choque es controlada por el experimentador, ocasionando de esta manera que en el procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo discreto no se encuentre presente el componente de escape. Decker y colaboradores señalan que el procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple permite un análisis más detallado del desarrollo de los procesos de adquisición y de los procesos de almacén de memoria (Decker, Tran & McGaugh, 1990, Waddington & Olley, 1977). La administración de sustancias ansiolíticas antes del entrenamiento desinhibirá la respuesta de evitación, lo que provocará que los sujetos experimentales registren latencias cortas durante los ensayos de la etapa de entrenamiento del procedimiento de evitación inhibitoria. El análisis de las latencias de retención registradas durante la prueba, después de un intervalo de tiempo ahora sin la administración de las drogas, permitirá evaluar su efecto sobre la memoria. Por otro lado, el número de ensayos requeridos para alcanzar el criterio durante la etapa de entrenamiento, será una manifestación del efecto de los fármacos sobre el grado de adquisición de la tarea de evitación.

JUSTIFICACION

Los resultados descritos a lo largo de este capítulo muestran que hay un amplio cuerpo de información que apoya el punto de vista de que los procesos de aprendizaje/memoria y ansiedad pudieran estar íntimamente relacionados, sin embargo, otros hallazgos parecen indicar que se trata de procesos independientes. Esta situación deja claro que son necesarias diversas investigaciones que viertan más información para poder establecer cuál es la participación de los diferentes sistemas neuroquímicos y la interacción de éstos en los procesos de aprendizaje/memoria y la ansiedad, contribuyendo a esclarecer las inconsistencias que hay al respecto.

Por un lado se apuntó que en algunos estudios con animales experimentales la escopolamina, antagonista muscarínico colinérgico y el diazepam, una benzodiazepina, producen deficiencias en la memoria anterógrada (Waddington & Olley, 1977; Overstreet, 1984; Thiebot, 1985) pero que por lo general se ha fallado en demostrar amnesia retrógrada con administración de diazepam después del entrenamiento (Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986; Jensen, Martínez, Vásquez, & McGaugh 1979; Thiebot, 1985). Duka y colaboradores (1987) llegan a proponer que la interferencia de las benzodiazepinas con los procesos aprendizaje/memoria pueda ocurrir vía reducción de la excitación durante la sesión de entrenamiento; pues se conoce que diferentes drogas que incrementan la excitación o ansiedad producen una mejora en el aprendizaje y subsecuente retención (Duka, 1987 en Lal, Kumar, & Foster, 1988; McGaugh, 1973; Venault, et al., 1986). Concretamente, se llega a proponer que además de su efecto ansiolítico, las benzodiazepinas, podrían tener un papel adicional relacionado con la modulación de los procesos de memoria y/o aprendizaje (Lal, Kumar & Foster, 1988).

Hay investigaciones que sugieren que el deterioro de la memoria por benzodiazepinas se debe a la activación de receptores GABAérgicos tipo A en la amígdala (Da Cunha, Huang, Walz, Dias, Koya, Bianchin, Pereira, Izquierdo & Medina, 1991; Izquierdo, Da Cunha, Huang, Walz, Wolfman & Medina, 1990 en

Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Souza-Silva, Viana & Graeff, 1993). Otras investigaciones destacan que el tipo de memoria en el que está implicada esta estructura (complejo amigdalóide) es la memoria de base emocional (Cahill & McGaugh, 1990; LeDoux, 1993) por lo que se ha llegado a plantear que los sistemas cerebrales implicados en la ansiedad y en la modulación de la memoria están extensivamente traslapados (Tomaz, Brandão & Garcia-Carrasco, 1992; Tomaz, Dickinson-Anson, & McGaugh, 1991; Tomaz, Dickinson-Anson, & McGaugh, 1992; Tomaz, et al., 1993). Sin embargo algunos estudios (McNamara & Skeleton, 1993) apuntan en otro sentido, pues la administración intracraneal del agonista benzodiazepínico, clordiazepóxido, reveló una especificidad neuroanatómica para las acciones amnésica y ansiolítica de este agente; por lo que estos investigadores proponen que las acciones amnésicas y ansiolíticas del clordiazepóxido son independientes.

Igualmente, en este capítulo se expuso información que permitió establecer que el sistema serotoninérgico está también implicado con los procesos que subyacen al aprendizaje y a la memoria (Altman & Normille, 1988; Ögren, Johanson & Magnusson, 1985), sugiriendo que el incremento en la neurotransmisión serotoninérgica deteriora la adquisición y la retención de respuestas de evitación de una vía, mientras que su decremento aumenta la adquisición (Altman & Normille, 1988; Briley, 1990; Costall & Naylor, 1992; Decker & McGaugh, 1991; McEntee & Cook, 1991; Ögren, 1982). Concretamente, Beninger (1989) ha argumentado que el neurotransmisor serotonina puede jugar un papel en la modulación de entradas perceptuales y posiblemente en la modulación de la fortaleza de las sinapsis mediando el aprendizaje de asociación entre estímulos. Se hizo referencia a que la administración de buspirona deteriora la memoria de trabajo (Bass, Means & McMillen, 1992), la recuperación de una tarea de evitación inhibitoria así como la adquisición y los ensayos de prueba de una tarea de navegación espacial (Rowman, Cullen & Anwyl, 1990). Ya se indicó que para Hamon (1994) será ilusorio esperar

ansiolíticos sin efectos sobre la cognición humana, dado que las mismas estructuras límbicas están implicadas tanto en la ansiedad como en la memoria.

La información vertida, también destacó que el procedimiento de evitación inhibitoria es uno de los modelos que principalmente se ha empleado para evaluar el efecto de los fármacos sobre los procesos mnemónicos, y como éste lleva implícito un componente aversivo (choque eléctrico) capaz de generar ansiedad en los sujetos experimentales, también resulta útil en la evaluación de drogas ansiolíticas. La posibilidad de este procedimiento para lograr un análisis más detallado de sus efectos cuando se implementa en ensayo múltiple, así como las ventajas de un mayor control de variables conductuales en su modalidad de evitación en ensayo discreto también fueron destacadas; por lo que se decidió emplearle en esta investigación con la finalidad de que permita esclarecer la participación de diferentes sistemas neuroquímicos (acetilcolina, ácido gamma amino butírico y serotonina) en los procesos de aprendizaje/memoria y su relación con la ansiedad; por lo que en este estudio se ha planteado los siguientes objetivos.

OBJETIVO GENERAL:

- Proporcionar información sobre el papel de los antagonistas GABAérgicos picrotoxina y bicuculina, y de los ansiolíticos diazepam y buspirona sobre los procesos de aprendizaje/memoria y ansiedad empleando el procedimiento de evitación inhibitoria.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Determinar el efecto de la administración post-entrenamiento de diazepam y buspirona (2.0 y 4.0 mg/kg) en una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo.

2. Evaluar el efecto de la preadministración de 2.0 mg/kg de bicuculina y picrotoxina (ansiogénicos), de 2.0 mg/kg de diazepam y buspirona (ansiolíticos) y de 8.0 mg/kg de escopolamina sobre una tarea de evitación inhibitoria de ensayo múltiple.
3. Evaluar la presencia de aprendizaje ligado a estado con la administración de estos fármacos.
4. Determinar el efecto que los ansiolíticos diazepam (2.0 mg/kg) y buspirona (2.0 mg/kg) ejercen sobre la actividad motora de los sujetos.

CAPITULO 4 MATERIALES Y METODOS

Para cumplir con los objetivos anteriores la metodología de trabajo se desarrolló considerando los siguientes experimentos:

- 1) Evaluación del efecto de los ansiolíticos diazepam y buspirona administrados cada uno en dosis de 2.0 o 4.0 mg/kg después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo.
- 2) Evaluación del efecto de antagonistas GABAérgicos (bicuculina 2.0 mg/kg y picrotoxina 2.0 mg/kg) y drogas ansiolíticas (diazepam 2.0 mg/kg y buspirona 2.0 mg/kg) así como de escopolamina (8.0 mg/kg) cuando se administran antes del entrenamiento en una prueba de evitación inhibitoria de ensayo múltiple.
- 3) Evaluación de la presencia de aprendizaje ligado a estado con la administración de antagonistas GABAérgicos (bicuculina 2.0 mg/kg y picrotoxina 2.0 mg/kg), de drogas ansiolíticas (diazepam 2.0 mg/kg y buspirona 2.0 mg/kg) y de escopolamina (8.0 mg/kg).
- 4) Determinación del efecto que las drogas ansiolíticas diazepam (2.0 mg/kg) y buspirona (2.0 mg/kg) ejercen sobre la actividad motora de los sujetos.

METODO GENERAL

Sujetos

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, con peso entre 250 y 300 g al inicio del experimento. Estos sujetos (Ss) provenían del bioterio de la ENEP-Iztacala y fueron transportados al laboratorio y mantenidos en cajas individuales en condiciones controladas de temperatura y con un periodo de luz-oscuridad de 12 h y con libre acceso a comida y agua.

Drogas

Se emplearon las siguientes sustancias hidrobromuro de escopolamina (**Es**, 8.0 mg/kg), bicuculina (**Bi**, 2.0 mg/kg), picrotoxina (**Px**, 2.0 mg/kg), diazepam (**Dz**, 2.0 o 4.0 mg/kg) y buspirona (**Bu**, 2.0 o 4.0 mg/kg); todas ellas de los laboratorios Sigma. Fueron disueltas en un vehículo de solución salina al 0.9% (**Sa**) y se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 1.4 ml/kg 30 minutos antes de la sesión de entrenamiento o 30 minutos antes de la sesión de prueba dependiendo de los tratamientos.

Aparatos

Prueba de Evitación Inhibitoria

Las sesiones de entrenamiento y retención para la prueba de evitación de un ensayo y/o ensayo múltiple (en la variante de ensayo discreto que permite omitir el componente de escape y por lo tanto controlar la duración del choque) se realizaron en una cámara de evitación inhibitoria modelo Gémini constituida por dos compartimentos. El compartimento A o de seguridad (iluminado), y el compartimento B (oscuro) o de castigo que permitió que los sujetos recibieran un choque eléctrico. Estos compartimentos estaban separados por una puerta de guillotina que se cerraba en el momento en que el animal entraba al compartimento oscuro. El aparato contó con un software para el registro automático de las latencias de evitación. La cámara de evitación estaba provista de ruido blanco y localizada dentro de un cuarto oscuro.

Prueba de Actividad Motora

Para el registro de la actividad motora de los animales se utilizó una caja de acrílico negro de 50x50x25 cm a cuyas paredes se localizaban un par de líneas de fotoceldas que permitieron el registro de la interrupción de los haces de luz por unidad de tiempo dependiendo de los movimientos que realizaba el animal. La línea de fotoceldas ubicada en la parte inferior de la cámara, registró la actividad motora

horizontal y la línea de fotoceldas localizada en la parte superior de la cámara permitió el registro de la actividad motora vertical de los sujetos.

Procedimiento

A) Prueba de Evitación Inhibitoria de un ensayo

En el primer día de entrenamiento o sesión de adquisición, cada sujeto se introdujo al compartimento A. Diez segundos después se abrió la puerta de guillotina y se midió el tiempo (latencia de adquisición) en que cruzaban y tocaban con las cuatro patas el piso del compartimento B. En ese momento se cerraba la puerta y se administraba un choque eléctrico ($I=1.5 \text{ mA}/5\text{s}$). Transcurridos 10 segundos, el animal fue retirado del compartimento de castigo y cinco minutos después recibió por vía intraperitoneal (i.p.) el tratamiento correspondiente (los fármacos y sus dosis se especifican en el experimento 1). Veinticuatro horas después, en la prueba de retención, cada uno de los animales fue introducido nuevamente en el compartimento A de la cámara y se registró el tiempo que tardaron para pasar al compartimento B (latencia de retención). Si el sujeto no cruzaba en 600 s se daba por terminada la sesión. En esta ocasión no se suministró choque cuando los animales pasaron al compartimento B.

B) Prueba de Evitación Inhibitoria de ensayo múltiple (en su variante de ensayo discreto)

La prueba de evitación inhibitoria de ensayo múltiple se realizó en la misma cámara Gémini donde se llevó a cabo la prueba de evitación inhibitoria de un ensayo. Los animales fueron sometidos a una sesión de entrenamiento (Día 1) de diez ensayos discretos consecutivos, es decir, se garantizó que el animal recibiera el choque por espacio de un segundo cerrando la puerta entre ambos compartimentos una vez que el animal cruzó al de castigo. La duración de cada uno de los diez ensayos fue de 180 segundos y la intensidad del choque eléctrico suministrado a los animales cuando pasaron al compartimento oscuro fue de 0.25 mA por espacio de un segundo. Durante las sesiones de prueba a las 24 y 48 horas (Día 2 y Día 3), la retención también se evaluó sometiendo a los sujetos en cada ocasión, nuevamente

a 10 ensayos consecutivos de la misma duración que el día anterior. Los detalles de este procedimiento se describen en los experimentos II y III. Las latencias de adquisición y las latencias de retención, así como el número de ensayos que cada animal requirió para alcanzar el criterio (permanecer en el compartimento seguro 5 ensayos consecutivos) así como el número de errores que cometieron los sujetos en cada uno de los tres días fueron registrados para realizar el análisis estadístico posterior.

C) Prueba de Actividad Motora

La prueba de actividad motora en cada uno de los sujetos se llevó a cabo colocándolos en la cámara de actividad 25 minutos después de que se les administró por vía intraperitoneal cada uno de los tratamientos (los fármacos y sus dosis se especifican en el experimento 4). El registro automático de la actividad motora horizontal y vertical se realizó a intervalos de 5 minutos y la prueba tuvo una duración total de 40 minutos.

Análisis estadístico

Prueba de Evitación Inhibitoria de un ensayo

Las latencias de retención se analizaron con la prueba estadística paramétrica de ANOVA de una vía y con la prueba post-hoc Duncan para detectar las diferencias entre los grupos.

Pruebas de Evitación Inhibitoria de ensayo múltiple

Las latencias de retención obtenidas durante la evitación en ensayos múltiples, se analizaron con un ANOVA de medidas repetidas en un diseño mixto 7X3X10 (drogaXdíaXensayo), lo que permitió detectar a lo largo de los ensayos y los días la presencia de diferencias significativas para los efectos de las drogas. La prueba post-hoc de Tuckey permitió detectar dónde se presentaron las diferencias. El análisis del número de ensayos para alcanzar el criterio y del número de errores fue analizado en

cada caso con un ANOVA mixto de medidas repetidas usando como prueba post-hoc la de Duncan.

Prueba de Actividad Motora

Los valores de actividad motora horizontal y vertical se analizaron empleando una ANOVA de medidas repetidas en un diseño mixto de 3X8 (drogaXintervalo de tiempo), aplicándose la prueba post-hoc de Tukey. Los datos también se analizaron con una prueba de ANOVA factorial por bloques (3drogaX8tiempoX10repetición), post-hoc de Duncan.

CAPITULO 5 RESULTADOS Y DISCUSION

EXPERIMENTO 1

Como se indicó en el capítulo 3 numerosos estudios con humanos y animales han evidenciado que el diazepam y otras benzodiazepinas producen principalmente amnesia anterógrada (Ghoneim & Mewaldt, 1975; Lister, 1985; Decker, Tran, & McGaugh, 1990; Overstreet, 1984; Thiebot, 1985; Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Souza-Silva, Viana, & Graeff, 1993; Waddington & Olley, 1977; Warburton & Wesnes, 1984). Sin embargo, a pesar de que con algunas benzodiazepinas se ha demostrado que producen amnesia retrógrada (Jensen, Martínez, Vásquez & McGaugh, 1979; Platel & Porsolt, 1982 en Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986), con diazepam ha sido difícil mostrar este efecto.

Wada & Fukuda (1992) reportaron que la buspirona produce amnesia retrógrada, pero no produce los efectos que sobre memoria anterógrada ejerce el diazepam. Sin embargo, ya fue señalado por Bass, Means & McMillen (1992) que son necesarios más estudios encaminados a evaluar el efecto de buspirona sobre el aprendizaje y la memoria en animales de experimentación además de que resulta de interés teórico y práctico estudiar los efectos de buspirona sobre una variedad de pruebas de aprendizaje y memoria, especialmente aquellas las cuales se conoce son afectadas por otras drogas ansiolíticas (Rowman, Cullen & Moulton, 1990).

Puesto que en el laboratorio ya fue observado el deterioro severo que sobre la retención ejerció la administración de 8.0 mg/kg de escopolamina cuando este agente anticolinérgico se administró después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990; Cruz-Morales, 1992), y también ya fueron evaluados los efectos de la administración de 2.0 mg/kg de picrotoxina (no mejoró la ejecución) o 2.0 mg/kg de bicuculina (produjo amnesia) después del entrenamiento de evitación pasiva, (Cruz-Morales, 1992), en este experimento se plantea el siguiente

Objetivo:

Evaluar el efecto de la post-administración de diazepam y buspirona (2.0 y 4.0 mg/kg) en una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo.

Procedimiento:*Prueba de Evitación Inhibitoria de un ensayo*• *Entrenamiento:*

Los sujetos de cada grupo (n=10) se introdujeron al compartimento seguro e iluminado de la cámara y después de 10 segundos se abrió la puerta de guillotina. Cuando el animal cruzó al compartimento oscuro, la puerta se cerró y se administró el choque (1.5 mA con duración de 5 segundos). Después de 10 s el animal fue retirado del compartimento de castigo y cinco minutos después recibió por vía intraperitoneal (i.p.) el tratamiento correspondiente: **Dz** (2.0 o 4.0 mg/kg), **Bu** (2.0 o 4.0 mg/kg) o solución salina al 0.9% (**Sa**). En el grupo integro (**Co**) los animales se sometieron al entrenamiento y no recibieron inyección. Una vez aplicado el fármaco los animales fueron llevados a sus cajas. El registro de la latencia de adquisición (tiempo transcurrido desde que se abrió la puerta hasta que el animal tocaba con las cuatro patas el piso del compartimento B) para cada animal fue automático.

• *Prueba de retención:*

Veinticuatro horas después en la prueba de retención cada uno de los animales fue introducido nuevamente en el compartimento A de la cámara y se registró el tiempo que gastó para pasar al compartimento B (latencia de retención), si el sujeto no cruzaba en 600 s se daba por terminada la sesión. En esta ocasión no se suministró choque cuando los animales pasaron al compartimento B.

Resultados:

Los resultados se muestran en el Cuadro 1 donde aparece la media de las latencias de retención (\pm ESM) obtenidas durante el procedimiento de evitación inhibitoria de

un ensayo habiendo administrado 2.0 y 4.0 mg/kg de diazepam o buspirona cinco minutos después del entrenamiento.

GRUPO	Latencia de Retención (X) ±ESM
CONTROL (s/inyección)	576.0 ± 16.58
SALINA (NaCl 0.9%)	572.7 ± 18.58
BUSPIRONA (2.0mg/kg)	336.8 ± 81.48 *
BUSPIRONA (4.0mg/kg)	372.1 ± 93.20 *
DIAZEPAM (2.0mg/kg)	536.6 ± 57.88
DIAZEPAM (4.0mg/kg)	479.9 ± 75.21

Cuadro 1. Valor medio de la latencia de retención en la tarea de evitación inhibitoria de un ensayo en ratas (n=10) que recibieron administración (i.p.) de diazepam y buspirona en dosis de 2.0 y 4.0 mg/kg cinco minutos después de la sesión de entrenamiento (I=1.5 mA/5 s). El * indica diferencias significativas con respecto a salina Duncan (p<0.05).

Al aplicar la prueba estadística ANOVA de una vía se encontró que existen diferencias entre las latencias de retención $F(5, 59)=2.556$, $p=0.038$. La prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) señaló que las diferencias no fueron significativas entre los animales que recibieron salina y los que no recibieron inyección (grupo control), esto muestra que la inyección como tal no tuvo efecto. Es importante hacer notar que estos grupos fueron los que presentaron el valor más alto en las latencias de retención es decir se mantuvieron por más tiempo en el compartimento seguro de la cámara. Puesto que no hubo diferencias entre el grupo **Co** y el grupo que recibió **Sa** las comparaciones de los otros grupos se realizaron únicamente con respecto al grupo de salina. En este cuadro también se observa que los grupos que recibieron 2.0 y 4.0 mg/kg de **Bu** registraron las latencias de retención más bajas siendo estos valores significativamente diferentes con respecto al grupo de **Sa** ($p=0.012$ y $p=0.032$ respectivamente). Sin embargo, los dos grupos de diazepam (2.0 o 4.0 mg/kg) no presentaron diferencias.

Discusión:

Puesto que los animales que recibieron buspirona después del entrenamiento registraron las latencias de retención más cortas y se evidenció la presencia de diferencias significativas, se puede sugerir que las dosis de buspirona aquí estudiadas dificultaron el proceso de consolidación de la memoria y por lo tanto podemos señalar que bajo un procedimiento de evitación inhibitoria de un ensayo, 2.0 y 4.0 mg/kg de buspirona provocaron amnesia retrógrada, fenómeno que no se manifestó con la inyección de las mismas dosis de diazepam (Fig. 5).

Hallazgos de algunos autores indican que dosis de 5.0 y 10.0 mg/kg de buspirona administrada (i.p.) después del entrenamiento disminuye el aprendizaje, específicamente el de una tarea de automoldeamiento donde las ratas aprendieron dos relaciones: palanca-comida (EC-EI) y respuesta-comida (RC-EI) (Meneses, 1995). También Wada & Fukuda (1992) encontraron que la buspirona deterioró la ejecución en la prueba de una tarea de evitación pasiva sólo con dosis altas (10 y 20 mg/kg). Bass, Means & McMillen, (1992) observaron que la aplicación crónica de 3.0 mg/kg de buspirona (ED_{50} necesaria para producir inhibición de agresión de ratones macho aislados) por vía subcutánea deterioró la habilidad de las ratas para realizar una tarea de memoria de trabajo. Estos investigadores también encontraron que la administración de 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg de buspirona antes de la prueba (escape al agua), deterioró la habilidad de las ratas para ejecutar también una tarea de memoria de trabajo (Bass, Means & McMillen, 1992) y este deterioro ocurre en un amplio rango de dosis de buspirona 1.0, 3.0 y 10 mg/kg. El hecho de que en nuestro trabajo, dosis de buspirona (2.0 y 4.0 mg/kg) menores a las empleadas por Wada & Fukuda (10 y 20 mg/kg), fueran suficientes para deteriorar la ejecución en la prueba de una tarea de evitación pasiva, puede explicarse en términos de la vía de administración. Mientras ellos emplearon la vía oral, en el presente estudio la administración fue por vía intraperitoneal (i.p.); donde la absorción de la droga es más rápida. Ya ha sido reportado, cómo drogas que se administran por una vía que favorece que el fármaco se absorba más rápidamente, ejercen un pronunciado efecto superior al producido por la ruta oral (Baird & Hailey, 1973 en Ghoneim & Mewaldt, 1975).

También los estudios realizados por Bass, Means & McMillen (1992) y por Wada & Fukuda (1992) muestran que la amnesia retrógrada observada con buspirona es dependiente de la dosis. Sin embargo, las dosis que nosotros administramos en este experimento no permiten detectar de manera clara si los efectos de amnesia retrógrada observados con la aplicación de buspirona guardan esa relación, pues aún cuando no hubo diferencias significativas entre los efectos de las dosis de buspirona empleadas, al inyectar la dosis de 4.0 mg/kg hubo un ligero incremento en las latencias de retención es decir, el deterioro de la ejecución fue menor en lugar de incrementarse con la aplicación de una dosis mayor. Por lo que, una evaluación con un intervalo más amplio de dosis permitirá establecer de manera más segura la forma de la curva.

Contrariamente a lo ocurrido con buspirona, cuando el diazepam se administró después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo no se produjeron déficits cuando la retención se probó 24 horas después. Estos resultados son consistentes con lo señalado por otros autores quienes han encontrado que este ansiolítico y en general algunas benzodiazepinas fallan en producir amnesia retrógrada en humanos (Ghoneim & Mewaldt, 1975 y 1977; Lister, 1985) y en animales (Patel, Ciofalo & Iorio, 1980). Informes clínicos no solo ha reportado la ausencia de efectos retrógrados con la administración de diazepam, en algunos casos se ha señalado que mejora la retención (Ghoneim, Hinrichs & Mewaldt, 1984; Mewaldt, Hindrichs & Ghoneim, 1983) de información aprendida antes de la administración de esta droga (facilitación retrógrada). De hecho en nuestros resultados podemos observar que la administración de 2.0 mg/kg de diazepam después de la sesión de entrenamiento permitió que los animales ejecutaran la respuesta de evitación tan bien como los del grupo de salina. Una posible explicación ante la ausencia de deterioro y/o mejora en la ejecución con la administración post-entrenamiento de diazepam ha sido sustentada por Hinrichs, Ghoneim & Mewaldt (1984), quienes señalan que este efecto puede ser consecuencia de la disminución del aprendizaje de nueva información presentada después de que la droga tuvo efecto, es decir, que la disminución de aprendizaje causa menos interferencia y por

lo tanto menos olvido del material aprendido antes de que la droga llegara a hacer su efecto.

Estas evidencias experimentales con diazepam y buspirona señaladas anteriormente junto con los resultados de este estudio, sugieren que los procesos que ocurren subsecuentemente al entrenamiento y que están implicados en el almacenamiento de información son sensibles a la buspirona (produce amnesia retrógrada) pero no lo son al diazepam (no produce amnesia retrógrada). Así, pues el deterioro en la retención, producido por la administración de buspirona puede ser el resultado de una interrupción de la consolidación de la memoria porque estas dosis interfieren con la "actividad reverberante" de un circuito neuronal, ocasionando que los animales sean incapaces de recordar los hechos que se produjeron antes de la administración del fármaco.

Los resultados opuestos obtenidos entre la administración de **Dz** y **Bu** (**Bu** tiene efectos retrógrados mientras que con **Dz** éstos efectos no se presentan) bien pueden explicarse en términos de las diferencias en el tipo de sistema neurotransmisor implicado para cada fármaco; mientras que las benzodiazepinas facilitan la transmisión GABAérgica en el sistema nervioso central vía modulación alostérica positiva del complejo receptor GABA_A (Rao, Santos, Paula & Silva, 1999), la **Bu** es un agonista parcial de receptores 5-HT_{1A} postsinápticos y agonista total a receptores presinápticos de neuronas del rafe dorsal. Sin embargo, estas diferencias también pueden explicarse en los mismos términos señalados por Hinrichs, Ghoneim & Mewaldt (1984). Puesto que la **Bu** no impide que nuevo material sea aprendido mientras se está bajo la influencia de la droga, el aprendizaje de nuevo material se convierte en una fuente potente de interferencia retroactiva (Postman & Underwood, 1973).

EVITACION INHIBITORIA DE UN ENSAYO (I = 1.5 mA/5 s)

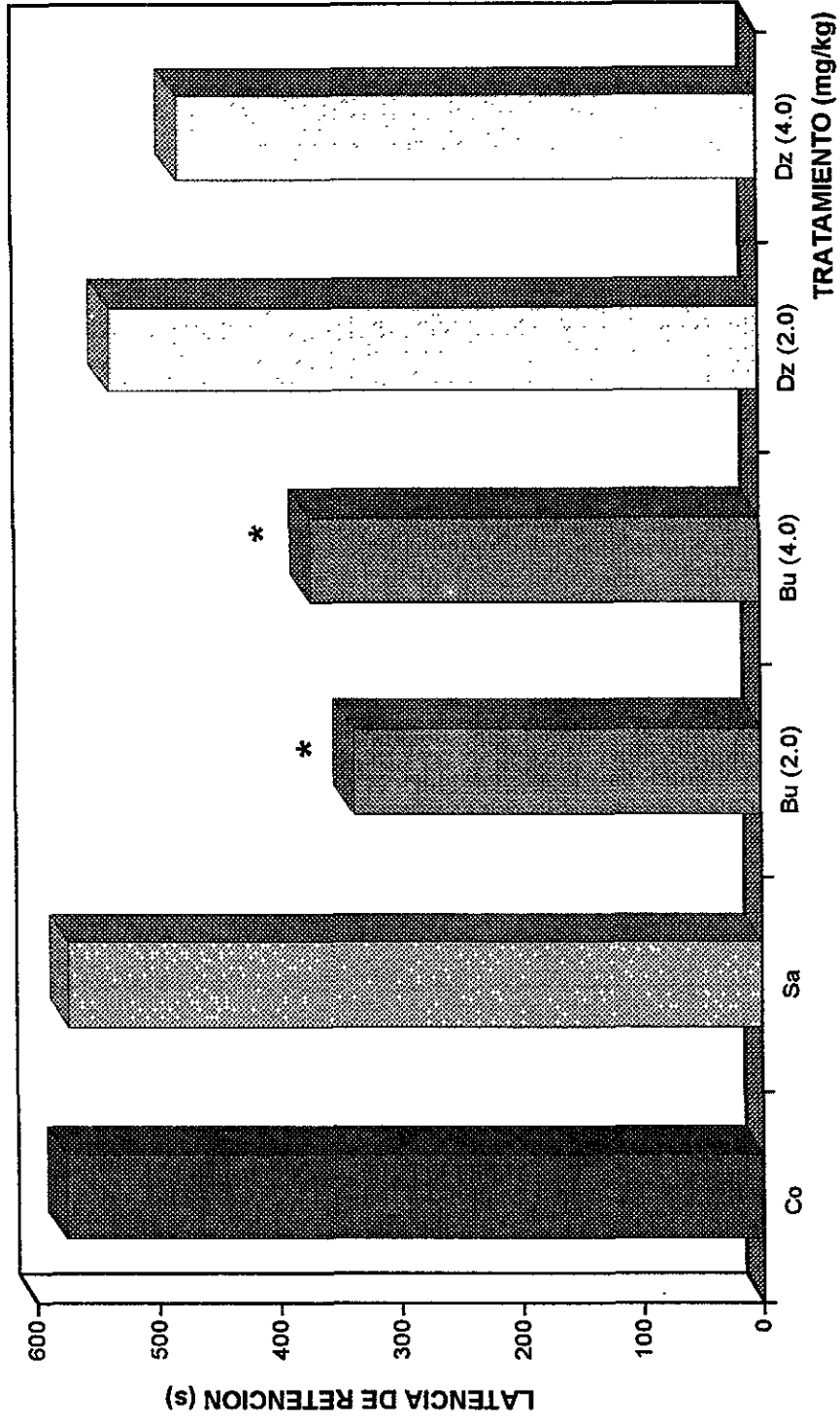


Fig. 5. Efecto de diazepam (Dz) y buspirona (Bu) sobre la retención de una tarea de El grupo control (Co) no recibió inyección; al grupo de salina (Sa) se le inyectó NaCl 0.9%.

El (*) indica diferencias significativas con respecto a Sa ($p < 0.05$)

EXPERIMENTO 2

El diazepam y la escopolamina tienen una característica común sobre la memoria humana, y es que parecen ser similares en deteriorar la adquisición pero no el recuerdo de información ya aprendida (Ghoneim & Mewaldt, 1975, 1977) y ellos afectan la memoria declarativa, tal como es demostrado en el recuerdo de información factual específica, pero no interrumpen la memoria de procedimiento tal como se requiere para la retención de aprendizaje de habilidad o destreza (Fang, Hinrichs & Ghoneim, 1987; Nissen, Knopman & Schacter, 1987). También estudios con animales experimentales apuntan en esa dirección y han proporcionado evidencia que estas drogas producen deficiencias en la memoria anterógrada (Spencer & Lal, 1983; Overstreet, 1984; Warburton & Wenses, 1984; Thiebot, 1985). Puesto que en los experimentos donde la escopolamina y el diazepam producen amnesia anterógrada necesariamente las drogas fueron administradas antes del entrenamiento, el deterioro que estas producen sobre la memoria, pudo deberse a su efecto sobre la adquisición propiamente o también a su efecto sobre la consolidación. Con la intención de obtener un perfil más amplio del efecto de estas drogas así como de los antagonistas GABAérgicos, picrotoxina y bicuculina y del ansiolítico serotoninérgico, buspirona; en este experimento se tiene como objetivo el siguiente

Objetivo:

Emplear un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple (10 ensayos discretos en la sesión de entrenamiento y 10 ensayos discretos en las sesiones de prueba a las 24 y 48 horas) para así poder apreciar y distinguir si la preadministración de picrotoxina y bicuculina (ansiogénicos) y de diazepam y buspirona (ansiolíticos) ejerce sus efectos sobre la adquisición o sobre el almacén de memoria. Además, es probable que el procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple también vierta información que permita esclarecer el efecto que estos fármacos ejercen sobre la ansiedad que se genera en los animales cuando se someten al choque eléctrico y de esta manera vislumbrar la relación entre los

sistemas neuroquímicos colinérgico, GABAérgico y serotoninérgico con los procesos mnemónicos y la ansiedad.

Ya fue precisado en el capítulo 3 que bajo este modelo los efectos que las drogas ejercen sobre el *aprendizaje* se harán evidentes en los valores de *latencia* que presenten los sujetos a lo largo de cada uno de los ensayos múltiples que se reciben durante la sesión de entrenamiento (Día 1): latencias cortas indican deterioro mientras que latencias largas indican facilitación. También el número de errores y de ensayos para alcanzar el criterio serán un índice del aprendizaje alcanzado por los sujetos en cada una de las sesiones. El efecto de estos fármacos sobre la memoria será evidente cuando la retención de la tarea se evalúe a las 24 horas (Día 2) o a las 48 horas (Día 3) después de la sesión del entrenamiento.

Como en este estudio algunas de las drogas también tienen efecto ansiolítico, éstas podrán desinhibir la conducta de evitación y los animales tenderán a pasar al compartimento de choque. Pero como este comportamiento también es interpretado como déficits en la adquisición, será necesario complementar esta información por un lado, con los valores del número de errores que los animales cometen en cada sesión, y por el otro, con el número de ensayos que cada grupo requiere para alcanzar el criterio. Puesto que el número de ensayos para alcanzar el criterio, también nos indica cómo se distribuyen los errores durante los ensayos de cada sesión, éste será un parámetro que refleje más el efecto ansiolítico de la droga. Esto es, drogas ansiolíticas que carecen de efecto sobre el aprendizaje ocasionarán el registro de latencias largas y pocos errores, porque los animales no tienen dificultad para adquirir la tarea (evitan pasar al compartimento de choque) pero, el número de ensayos para alcanzar el criterio será elevado. Esto significa que aunque los sujetos presentan durante un intervalo de ensayos, latencias de adquisición cercanas o iguales a 180 segundos, después de éste vuelven a pasar al compartimento B a recibir el choque. Si este es el caso, se hace evidente el efecto ansiolítico del fármaco a pesar no deteriorar la adquisición.

Sin embargo, cuando la droga ansiolítica también ejerce efecto sobre el aprendizaje las latencias de adquisición serán menores a 180 s y el número de errores tenderá a ser alto y en consecuencia también el número de ensayos para alcanzar el criterio tenderá a incrementarse, por lo que en este caso la separación de ambos efectos se dificultará en este procedimiento.

Abundante bibliografía indica que 2.0 mg/kg de diazepam, 2.0 mg/kg de buspirona y 1.0 de escopolamina son suficientes para producir efectos anterógrados (Spencer & Lal, 1983; Overstreet, 1984; Warburton & Wenses, 1984; Thiebot, 1985). Por otro lado, pocos han sido los trabajos que han evaluado el efecto de la administración de picrotoxina y bicuculina antes del entrenamiento, pero en un estudio realizado en el laboratorio, 2.0 mg/kg de picrotoxina o bicuculina inyectados antes del entrenamiento se mostró que a bajas intensidades de choque (0.5 mA) estos fármacos provocan deterioro en la adquisición de una tarea de evitación de un ensayo tan severo como el que se obtuvo con la administración de 8.0 mg/kg de escopolamina (Secundino, López & Cruz-Morales, 1996). Considerando estos antecedentes, las dosis empleadas durante el desarrollo de este experimento fueron las siguientes: Es (8.0 mg/kg), Px (2.0 mg/kg) Bi (2.0 mg/kg) Dz (2.0 mg/kg) y Bu (2.0 mg/kg).

Si los ansiolíticos desinhiben conductas castigadas (Green. & Hodges, 1991) o motivadas aversivamente (Conde, Costa & Tomaz, 1999), el efecto ansiolítico de Dz y Bu se hará manifiesto a lo largo de cada uno de los ensayos múltiples del procedimiento, es decir, los animales seguirán pasando al compartimento de choque requiriendo de mayor número de ensayos para alcanzar el criterio. Los efectos de estos fármacos sobre el aprendizaje y la memoria se harán evidentes por un lado, en el número de errores que cometen (menor número de errores mejor aprendizaje y viceversa) y por el otro, en los valores de latencia para cada ensayo (latencias largas mejor aprendizaje y viceversa) así como en los valores de la primera latencia que se registra cuando se repite la situación experimental (evaluación de la memoria) a las 24 horas (Día 2) y 48 horas (Día 3) después del entrenamiento.

Es probable que los efectos que se produzcan sobre la ansiedad de los sujetos después de la administración de bicuculina y picrotoxina, sean opuestos a los que produzcan el diazepam y la buspirona ya que en el caso de las primeras se trata de drogas ansiogénicas. Además, se espera los datos sobre latencia de retención, número de errores y ensayos para criterio que se obtengan durante este procedimiento de evitación en ensayo múltiple permitan obtener un perfil más detallado del efecto de estos fármacos a lo largo del tiempo y por tanto, detectar diferencias más precisas de su efecto sobre la ansiedad y los procesos mnemónicos; con lo que se espera poder establecer alguna relación entre los sistemas neuroquímicos GABA, 5-HT y Acetilcolina y los procesos de aprendizaje/memoria y ansiedad.

- a) Latencias de retención altas y pocos errores en la primera sesión, serán el reflejo de facilitación del aprendizaje y viceversa.
- b) Latencias de retención altas y pocos errores en la primera sesión, pero con amplia distribución de dichos errores (que se reflejará en un mayor número de ensayos para alcanzar el criterio), reflejarán el efecto facilitatorio sobre aprendizaje pero también su efecto ansiolítico (los animales siguieron pasando al compartimento de choque).
- c) Latencias de retención cortas y alto número de errores con bajo número de ensayos para alcanzar el criterio reflejará deterioro en la adquisición del aprendizaje producido por las drogas pero sin efecto ansiolítico.
- d) Latencias de retención cortas y alto número de errores con elevado número de ensayos para alcanzar el criterio reflejará deterioro en la adquisición del aprendizaje pero se verá enmascarado el efecto ansiolítico del fármaco.

Procedimiento:

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en grupos independientes de 10 Ss cada uno. La evitación inhibitoria se realizó por tres días haciendo que los animales recibieran cada día, diez ensayos consecutivos (cada ensayo tuvo una longitud de 180 segundos). La fase de entrenamiento de los Ss se llevó a cabo durante el Día 1 y las fases de prueba fueron los Días 1 y 2.

Entrenamiento de la tarea de evitación en ensayo múltiple bajo el efecto de los tratamientos (Día 1):

En este Día 1 los animales de cada grupo (n=10) recibieron por vía intraperitoneal dosis de 2.0 mg/kg de picrotoxina, bicuculina, diazepam o buspirona y 8.0 mg/kg de escopolamina respectivamente. Otro grupo de animales recibió una inyección de solución salina al 0.9% y se incluyó un grupo control que no recibió inyección. Treinta minutos después de la administración intraperitoneal de los tratamientos los animales de cada grupo recibieron el entrenamiento de 10 ensayos discretos de la tarea de evitación inhibitoria. Cada que los animales pasaron al compartimento de castigo, un choque de 0.25 mA con duración de 1 segundo fue suministrado. Se hizo un registro automático de las latencias de adquisición en cada uno de los 10 ensayos y se calculó el número de ensayos que en promedio cada grupo requirió para alcanzar el criterio (permanecieran por 5 ensayos consecutivos en el compartimento seguro), así como su número de errores.

Retención de la tarea de evitación en ensayo múltiple sin administración previa de tratamientos (Días 2 y 3):

La retención se evaluó al 2º y 3º día, siguiendo el mismo procedimiento de ensayo múltiple, solo que ningún fármaco se administró. antes de realizar el registro de estas latencias de retención. También aquí se calculó el número de ensayos que los animales de cada grupo requirió para alcanzar el criterio (permanecieran por 5 ensayos consecutivos en el compartimento seguro) y su número de errores.

Resultados:

Latencias de adquisición y retención

La media de las latencias de adquisición en cada ensayo del Día 1 se registran para cada grupo en el Cuadro 2. Los Cuadros 3 y 4 muestran la media de las latencias de retención para cada uno de los ensayos de los Días 2 y 3 respectivamente.

Una prueba estadística de ANOVA mixto de medidas repetidas en un diseño 7(droga)X3(día)X10(ensayo) mostró diferencias significativas para el factor droga $F(6, 63)=5.90$ $p<0.0001$; para el factor día $F(2, 126)=90.24$, $p<0.0001$ y para la interacción díaXdroga $F(12, 126)=6.52$, $p<0.0001$. También hubo diferencias significativas para el factor ensayo $F(9, 567)=239.11$, $p<0.0001$ y para la interacción ensayoXdroga $F(54, 567)=2,24$, $p<0.0001$.

La prueba post-hoc de Tukey ($p<0.05$) indicó que durante el **Día 1** (sesión de entrenamiento) la primer latencia de entrada (ensayo uno= E_1) al compartimento de castigo, no presentó diferencias significativas entre los grupos. Esto parece indicar que aunque las drogas se administraron 30 minutos antes del entrenamiento no ejercieron efecto sobre algún factor motivacional, perceptual o motor de los animales. Durante este y los ensayos restantes los grupos Co y Sa no presentaron diferencias significativas por lo que las comparaciones de los otros grupos se hacen sólo con respecto al grupo de Sa en cada ensayo.

Del ensayo 2 (E_2) al ensayo 10 (E_{10}) los grupos que recibieron Bi, Dz y Bu no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo de Sa, lo que indica que estas drogas no tuvieron efecto sobre la adquisición de la tarea. Pero en el E_2 el grupo de Px permaneció significativamente más tiempo en el compartimento seguro de la cámara antes de entrar al compartimento de choque que el grupo de Sa. Puesto que las latencias del E_2 pueden considerarse una medida de la inmediata retención, ya que justo antes de este ensayo los animales acababan de recibir el primer choque, se observa que además de una mejora en la retención inmediata, el grupo de animales que recibió el tratamiento de Px fue el primero en permanecer la longitud máxima del ensayo (180 s) en el compartimento seguro de la cámara (E_4). También se observa que el grupo de Es recibió el choque eléctrico durante los 10

ensayos de la sesión es a partir de este E_4 al E_{10} de este día que las latencias de adquisición para el grupo de Es fueron significativamente menores a las del grupo de Sa, esto significa que la administración pre-entrenamiento de este agente antimuscarínico dificultó una buena ejecución de la tarea.

En la Fig. 6 se muestra la media de la latencia de adquisición obtenida con cada uno de los tratamientos durante el día 1; la ordenada representa la media de las latencias de adquisición en segundos y el eje de las abscisas el número de ensayos.

En el Cuadro 3 se registraron los datos de la media de las latencias obtenidos en la prueba de retención realizada a las 24 horas (Día 2) y en la Fig. 7 se muestra la gráfica correspondiente. Al analizar esos datos la prueba post-hoc de Tukey permitió detectar que en el E_1 las diferencias significativas solo se presentaron entre los grupos de Es y Dz (quienes registran las latencias de retención más bajas) con respecto al grupo de Sa. Pero mientras el grupo de Es se recupera notablemente a partir del E_2 (donde dejan de presentarse diferencias significativas entre este grupo y el de Sa), el grupo de Dz mantiene un deterioro significativo de la ejecución hasta el E_4 (Cuadro 3 y Fig. 7). Hay que hacer notar que en este día los animales no recibieron tratamiento antes de someterse al procedimiento de evitación inhibitoria.

En el Cuadro 4 se registró la media de las latencias que alcanzó cada grupo durante la prueba de retención efectuada a las 48 horas (Día 3) y la Fig. 8 la gráfica correspondiente. La prueba post-hoc indicó que durante este día no se presentaron diferencias estadísticas significativas, entre las latencias de retención de los diferentes grupos. A pesar de que los grupos de Es y Dz manifestaron una tendencia a registrar valores bajos de latencia el primer ensayo, la ausencia de diferencias significativas entre los grupos durante el E_1 Día 3 sugiere que todos los animales recordaron la tarea a las 48 horas de forma parecida a los grupos control. Se observa que desde el E_3 los grupos Co, Sa, Px y Bi alcanzan latencias de 180 segundos. Además de no mostrar deterioro en el recuerdo de la ejecución, en este día todos los grupos registraron latencias de 180 s a partir del E_5 .

Número de ensayos para alcanzar el criterio

En el Cuadro 5 se encuentra registrado, para cada uno de los días que duró el experimento el valor medio del número de ensayos que requirieron las ratas de cada grupo para alcanzar el criterio (mantenerse en el lugar seguro por 5 ensayos consecutivos) cuando las drogas se administraron treinta minutos antes del entrenamiento y en la Fig. 9 se presenta una gráfica de barras donde la ordenada representa el número de ensayos que en promedio cada grupo requirió para alcanzar el criterio y en el eje de las abscisas se registró cada uno de los tratamientos.

Para el análisis del número de ensayos para alcanzar el criterio se aplicó una ANOVA de medidas repetidas con un diseño mixto 7(droga)X3(día). Las diferencias se presentaron para el factor droga $F(6, 63)=6.87$, $p<0.0001$; el factor día $F(2,126)=50.17$, $p<0.0001$ y en la interacción díaXdroga $F(12, 126)=1.88$, $p<0.042$.

Los datos que arrojó la prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) indican que entre los grupos Co y Sa no se presentaron diferencias significativas en el número de ensayos para alcanzar el criterio por lo que las comparaciones de los otros grupos sólo se hicieron con respecto al grupo de Sa en cada uno de los días.

En el **Día 1** (entrenamiento) los animales que recibieron Px antes del entrenamiento, requirieron significativamente de un menor número de ensayos para alcanzar el criterio con respecto a los ensayos requeridos por los animales del grupo de salina. *Estos resultados parecen sugerir que esta droga GABAérgica facilitó la adquisición de la tarea de evitación.* Situación que no se presentó con Es donde el número de ensayos necesarios para alcanzar el criterio fue de 10, es decir los animales que recibieron la administración previa del anticolinérgico se mantuvieron pasando al compartimento de choque durante todos los ensayos de la sesión de entrenamiento. Las drogas Bi, Dz y Bu no presentaron diferencias significativas en el número de ensayos para alcanzar el criterio con respecto al requerido por el grupo de Sa.

Al analizar el número de ensayos para alcanzar el criterio en el **Día 2** la prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) mostró que a pesar de que en este día ningún grupo estuvo bajo el efecto de los fármacos el grupo que el día anterior había recibido Dz treinta

minutos antes del entrenamiento, sorprendentemente requirió de un mayor número de ensayos para alcanzar el criterio que el grupo de salina.

También en el Cuadro 5 se registró el número de ensayos que para alcanzar el criterio requirió cada grupo cuando la retención fue evaluada a las 48 horas (Día 3). En esta ocasión el análisis de varianza mostró que no se presentaron diferencias significativas entre los grupos.

Número de errores

La media del número de errores que cada grupo cometió en cada uno de los días, aparecen en el Cuadro 6. La Fig. 10 muestra en la ordenada el número de errores que en promedio cada grupo cometió en cada uno de los días y en el eje de las abscisas se registraron los tratamientos.

Para el análisis del número de errores se aplicó un ANOVA de medidas repetidas con un diseño mixto 7(droga)X3(día). Las diferencias se presentaron para el factor droga $F(6, 63)=8.43$, $p<0.0001$; el factor día $F(2,126)=141.9$, $p<0.0001$ y en la interacción díaXdroga $F(12, 126)=9.81$ $p<0.0001$.

La prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) indica que entre los grupos Co y Sa no se presentaron diferencias significativas en el número de errores por lo que las comparaciones de los otros grupos se hicieron sólo con respecto al grupo de Sa en cada uno de los días. En el cuadro 6 se observa que durante el **Día 1** los grupos de Px, Bi y Dz presentaron significativamente menor número de errores con respecto al grupo de Sa, mientras que el mayor número de errores lo cometió el grupo de Es. Durante el **Día 2** el mayor número de errores lo cometió el grupo de Dz y para el **Día 3** todos los grupos cometieron un número reducido de errores pero los errores del grupo de Bi fueron significativamente menores, mientras que relativamente el valor más alto lo presentaron los grupos de Es y Dz.

Discusión:

Los resultados de este experimento muestran que la tarea que el grupo de Dz había adquirido durante el entrenamiento (en el Cuadro 2 y Fig. 6 se observa que en el Día

1 este grupo había registrado latencias de 180 a partir del E_6) no fue recordada en el E_7 del Día 2 (ver Cuadro 3 y Fig. 7) sugiriendo que el Dz produjo amnesia anterógrada, es decir, este fármaco impidió que la información adquirida en el día 1 fuese recordada a las 24 horas. También se observa que al igual que el grupo de Dz, el grupo de animales que fue tratado con Es antes del entrenamiento (Día 1), mostró deficiencias para ejecutar la tarea 24 horas después (E_7 del día 2), sus latencias de retención también fueron significativamente menores a las de los grupos control. Este deterioro en la ejecución era de esperarse puesto que el anticolinérgico había impedido la adquisición de la tarea, es decir la Es también produjo amnesia anterógrada. Sin embargo, este grupo deja de pasar al compartimento B en el siguiente ensayo del día 2 mientras que el grupo de Dz siguió pasando manteniendo por 4 ensayos consecutivos un deterioro fuerte en la retención de la tarea, es decir, el Dz impide que se consolide la información adquirida durante los ensayos del Día 1 e impide que se almacene nueva información.

Hasta aquí, los resultados del experimento 2 hacen evidente que el procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple permite distinguir la naturaleza diferente de la amnesia anterógrada que producen el Dz y la Es. Mientras durante el Día 1 la Es deteriora la adquisición de la tarea de evitación en ensayo múltiple, el Dz la facilita, pero a las 24 horas ninguna de estas drogas permite que la tarea sea recordada.

La amnesia anterógrada producida con 2.0 mg de Dz observada en este experimento es consistente con los datos de otros estudios donde se reporta amnesia anterógrada en animales experimentales con aplicación de este agente usando procedimientos de evitación pasiva de un ensayo (Decker, Tran & McGaugh, 1990; Venault, Chapouthier, Prado de Carvalho, Simiand, Morre, Dodd & Rossier, 1986), de ensayos continuos (Decker, Tran & McGaugh, 1990; Wadnington & Olley, 1977) y de ensayos discretos (Decker, Tran & McGaugh, 1990; Elrod & Buccafusco, 1988).

La adquisición normal y el deterioro en la retención encontrada con Dz cuando este es administrado antes del entrenamiento en ensayo múltiple es sorprendente, porque

esta droga no afectó la retención cuando se administró inmediatamente después del entrenamiento de evitación inhibitoria de un ensayo (Experimento 1). Esto sugiere que los procesos de consolidación de la memoria no son susceptibles al efecto del Dz cuando los animales han sido previamente entrenados, es decir este fármaco no produce amnesia retrógrada. La presencia de amnesia anterógrada y la ausencia de amnesia retrógrada con el Dz concuerda con lo reportado por Viana, Tomaz & Graeff (1994) quienes trabajando con el paradigma de laberinto en T elevado, mostraron que en el componente de evitación inhibitoria de este modelo, los animales a los que se les dio una dosis ansiolítica de Dz antes del entrenamiento, tuvieron completa amnesia durante la prueba y que inversamente, si las ratas han adquirido la evitación inhibitoria, esta es resistente al diazepam.

La mejora en la ejecución que a partir del E_5 del día 2 empieza a presentarse con el Dz (presenta latencias de retención altas), puede explicarse en términos del efecto protector del sobre-entrenamiento que está implícito en el paradigma de evitación inhibitoria de ensayo múltiple (Prado-Alcalá, 1985).

Por otro lado, los resultados obtenidos con Es también son consistentes con los reportados por varios investigadores quienes han observado efectos de deterioro en la adquisición con la administración de este antimuscarínico en pacientes humanos (Ghoneim & Mewaldt, 1975 y 1977; Lister, 1985; Peterson & Ghoneim, 1980) y en diversas tareas con animales (Bartus, Dean, & Flicker, 1985; Fibiger, 1991; Overstreet, 1984; Warburton & Wenses, 1984). Este deterioro para Es se sigue presentando incluso en el primer ensayo del día 2, pero a partir del E_2 de este mismo día, se observa una mejora en la ejecución de la prueba de evitación inhibitoria de ensayo múltiple, la cual se debe a que los animales ya no están bajo el efecto de la droga.

Por lo que respecta a los animales que recibieron 2.0 mg/kg de Px o de Bi (antagonistas del receptor $GABA_A$), se observa que en el E_2 del día 1 (que corresponde a la primer latencia después de la experiencia de choque), la mejora de la ejecución sólo fue evidente con Px presentando diferencias significativas con

respecto al grupo de Sa. Estos resultados presentan discrepancia con un estudio realizado en este laboratorio donde se encontró que bajo un procedimiento de evitación inhibitoria de un ensayo, la administración intraperitoneal de Px (2.0 mg/kg) y Bi (2.0 mg/kg) deterioró la adquisición a intensidades bajas (0.5 mA/5 segundos), pero estas drogas no presentaron efecto cuando la intensidad de choque se incrementó a 2.5 mA/5 segundos. (Secundino, López. & Cruz-Morales, 1996). Sin embargo, las inconsistencias anteriores pueden explicarse en términos de las diferencias en la intensidad del choque, la duración del mismo y las características del procedimiento de evitación empleados en cada protocolo.

Es importante notar que a partir del E_3 para este día, Px mantiene valores altos de latencias de adquisición, a pesar de que estos valores no presentan diferencias significativas con respecto al grupo salina. Se puede observar que Bi no presentó efecto.

Los datos que se obtuvieron con el ansiolítico Bu indican que su administración antes del entrenamiento no deterioró la ejecución de la tarea. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en los experimentos que realizaron Rowan, Cullen & Moulton (1990) donde se observa que la administración i.p. de 1.0 o 2.0 mg/kg de Bu 30 minutos antes del entrenamiento no provocaron deterioro en la adquisición de la tarea en un procedimiento de evitación inhibitoria de un ensayo pero si encontraron que 2.0 mg/kg de Bu administrados 30 minutos antes del entrenamiento marcadamente deterioraron la adquisición de una tarea de navegación espacial. Otros investigadores (Kant, Wylie, Chu & Ghosh, 1998) encontraron que ratas que recibieron 1.0 mg/kg de Bu (i.p.) 30 minutos antes de exponerse a un laberinto de agua mostraron baja adquisición (medida como tiempo de nado para alcanzar la plataforma de salida y errores cometidos), pero alta dosis de Bu (10.0 mg/kg) bloqueó completamente la adquisición de esta tarea. Con base en los resultados de este experimento y los de la literatura se pudiera pensar que el efecto de Bu sobre la adquisición dependerá además de la dosis, del tipo de tarea que se pretende aprender, sin embargo investigación adicional será necesaria para probar tal propuesta.

Número de ensayos y número de errores:

La disminución en el número de ensayos para alcanzar el criterio así como en el número de errores permite apreciar que la Px facilitó la adquisición de la tarea (**Día 1**), fenómeno que cuando se analizaron las latencias sólo fue evidente en el primer ensayo. Esto puede explicarse por que en el parámetro latencia de adquisición se tienen valores tope de 180 segundos, lo que en su conjunto provoca que se enmascare el resultado estadístico al utilizar media o mediana como medidas de tendencia central de los datos, por lo que el análisis adicional de los ensayos y de los errores nos da mayor claridad del efecto de las drogas sobre el tarea conductual utilizada.

Aunque en el día 1 el número de ensayos para alcanzar el criterio con Bi es menor que el requerido por el grupo de Sa las diferencias no son significativas y por lo tanto no es claro su efecto facilitatorio. Sin embargo, al analizar el número de errores cometidos por los sujetos bajo la administración de este fármaco, su efecto facilitatorio se hace manifiesta y lo mismo ocurre con la Px y el Dz. Cabe aclarar que esto no se observa cuando se analizan las latencias de adquisición del grupo de Bi. Los efectos facilitatorios de Px y Bi, antagonistas GABAérgicos, ya han sido reportados por el grupo de McGaugh (Breen & McGaugh, 1961; Brioni & McGaugh, 1988), aunque el grupo de Nabeshima ha señalado efectos opuestos (Nabeshima, Noda & Kameyama, 1988) y estas inconsistencias se han explicado en términos de las diferencias en el procedimiento, la dosis, la intensidad del choque, la tarea (Cruz-Morales, 1992). Por otro lado, también en este día, el número elevado de ensayos para alcanzar el criterio y el número de errores cometidos con la administración de Es muestra consistencia con el efecto de deterioro observado cuando se analizó su latencia de adquisición. En el **Día 2** solo el grupo de Dz presentó significativamente mayor número de ensayos para alcanzar el criterio y número de errores con respecto al grupo de Sa; esto era de esperarse puesto que en ese día el grupo presentó un deterioro severo en su ejecución (amnesia anterógrada). Aunque en el **Día 3** no hubo diferencias entre los grupos en relación a su número de ensayos para alcanzar el

criterio, el número de errores que cometió el grupo de Dz fue significativamente más alto que el de salina.

Las observaciones anteriores nos permiten indicar que parámetros como el número de errores así como el número de ensayos para alcanzar el criterio, que solo se pueden registrar cuando se somete a los sujetos a procedimientos de ensayos múltiples, nos permitirán un análisis más de tallado del fenómeno y evidenciar diferencias donde las latencias a veces no lo permiten.

En la primera parte de este capítulo se estableció que si los ansiolíticos desinhiben conductas castigadas o motivadas aversivamente, podría esperarse que ante la administración de estas sustancias los animales pueden no presentar deterioro en la adquisición de una tarea, y su posible efecto sobre la ansiedad se verá reflejado en un incremento en el número de ensayos para alcanzar el criterio. Ante esta consideración pareciera que en el Día 1 los efectos ansiolíticos de la Bu se presentaron levemente pues este grupo fue el que alcanzó los valores más altos en el número de ensayos para alcanzar el criterio. Es decir, a pesar de que bajo el efecto de esta droga los animales no deterioraron los procesos implicados en la adquisición (pues sus latencias y su número de errores no difirieron de los del grupo de Sa), tendieron a pasar más al compartimento de choque, lo que indica un efecto desinhibitorio del ansiolítico. Sin embargo, este efecto ansiolítico de Bu no es contundente pues aunque su número de ensayos para alcanzar el criterio fue alto, no resultó significativo con respecto al grupo de Sa. Estos resultados sugieren la posibilidad de que incrementando la dosis de Bu antes del entrenamiento, su efecto ansiolítico en esta prueba conductual sería más claro. Sin embargo, se ha probado que la administración de Bu en un intervalo de dosis de 1.0-20.0 mg/kg incrementa la conducta de beber agua cuando las ratas se someten a un procedimiento de conflicto de Vogel, una prueba clásica para actividad ansiolítica (Yamashita, Oishi & Gomita, 1995 en Kant, Wylie, Chu & Ghosh, 1998).

El hecho que dosis bajas (1.0 mg/ kg) de Bu en la prueba de conflicto manifiesten efecto ansiolítico en comparación con el efecto débil logrado en el día 1 con la dosis

de 2.0 mg/kg de nuestro experimento, puede explicarse en términos de las diferencias en el modelo animal empleado, estos modelos están requiriendo la emisión de diferente respuesta lo que los hace que sean diferencialmente sensibles (Handley & M^oBlane, 1993a). Otra posibilidad, ante la ausencia de un declarado efecto desinhibitorio de la conducta de evitación con 2.0 mg/kg de Bu es la necesidad de la administración continua del fármaco pues ya ha sido referido que los efectos clínicos ansiolíticos de azapironas únicamente aparecen después de varios días o aún semanas de administración continua (Schweitzer & Rickels, 1991 en Viana, Tomaz & Graeff, 1994); aunque en modelos experimentales de ansiedad en humanos (voluntarios sanos) se han demostrado los efectos ansiolíticos agudos de azapironas, por ejemplo, buspirona aceleró las respuestas de conductancia en piel ante un estímulo aversivo condicionado (sonido), e ipsapirona atenuó el incremento en ansiedad subjetiva así como en la presión sanguínea arterial inducidas por hablar frente a una cámara de video (Zuardi, Cosme, Graeff & Guimarães, 1993 en Viana, Tomaz & Graeff, 1994). Nuevamente aquí estas discrepancias pueden deberse a la presencia de múltiples mecanismos de ansiedad 5-HT a los que se han referido Gardner (1985), Handley (1991) y Handley & M^oBlane (1991). Estos últimos autores propusieron que mecanismos múltiples en un balance inestable, podrían dar cuenta de la variabilidad de respuestas de drogas 5-HT en el laberinto X-elevado. Graeff (1988) presentó evidencias para la existencia de un sistema aversivo cerebral (BAS) en adición al sistema inhibitorio conductual (BIS) propuesto por Gray (1982). Los modelos de conflicto pueden presentar rasgos de ansiedad anticipatoria, porque la evitación es producida por señales que intentan llevar a cabo el acercamiento hacia consecuencias potencialmente adversas (Gray, 1982). Graeff (1988) sugirió que la evitación pasiva es una función del sistema inhibitorio conductual de Gray que se piensa centrado sobre el hipocampo y es fundamental para el conflicto aproximación/evitación, mientras que la evitación activa de un daño próximo, componente de una respuesta defensiva fue una función del sistema aversivo cerebral, una ruta enlazante de la amígdala, hipotálamo y periacueducto dorsal gris (Deakin & Graeff, 1991 en Handley & M^oBlane, 1993b). Otra situación a considerar

para explicar la variabilidad de respuestas de drogas 5-HT es que no se puede pretender que modelos animales midan o correspondan a los distintos subtipos de ansiedad en los humanos, de hecho en 1987 DSMIII-R reconoció diferentes desórdenes de ansiedad: *desórdenes de ansiedad generalizada*, caracterizados principalmente por ansiedad anticipatoria; *desórdenes de pánico*, en los cuales el deseo de huir llega a ser extremo; *desórdenes fóbicos*, los cuales están caracterizados por aprendizaje de evitación esencialmente de circunstancias y objetos inocuos; y desórdenes de estrés postraumático. El desorden obsesivo-compulsivo también fue clasificado como desorden de ansiedad (Handley & M^oBlane 1993b).

Por otro lado, el número significativamente reducido de ensayos para alcanzar el criterio que el grupo de Dz requirió durante el día 1, sugiere que el efecto ansiolítico de esta droga estuvo completamente ausente o enmascarado por la evidente facilitación que el fármaco presenta durante la adquisición de la tarea de evitación.

EXPERIMENTO-2

DROGA	DIA 1 (Entrenamiento)									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	22.4	58.2	90.6	113.9	145.9	145.4	158.7	175.7	179.9	180
Sa	20.3	63.2	110.7	125.8	142.8	157.3	171.0	179.5	176.2	180
Es	32.8	39.4	55.6	75.7*	86.4*	77.8*	115.5*	119.9*	134.3*	90*
Px	27.4	122.7*	136.6	180	173.3	180	180	180	180	180
Bi	32.7	63.7	105.8	132.8	170.1	180	180	180	180	180
Dz	22.1	52.9	114.9	157.6	159.5	180	180	180	180	180
Bu	13.7	29.4	53.7	113.9	111.6	160.7	180	161.9	180	160.5

Cuadro 2. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=buspirona) para el **DIA 1** cuando las drogas se administraron **únicamente 30 min antes del entrenamiento** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple

EI (*) indica diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa. Post-hoc Tukey, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 2
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO UNICAMENTE
DIA 1

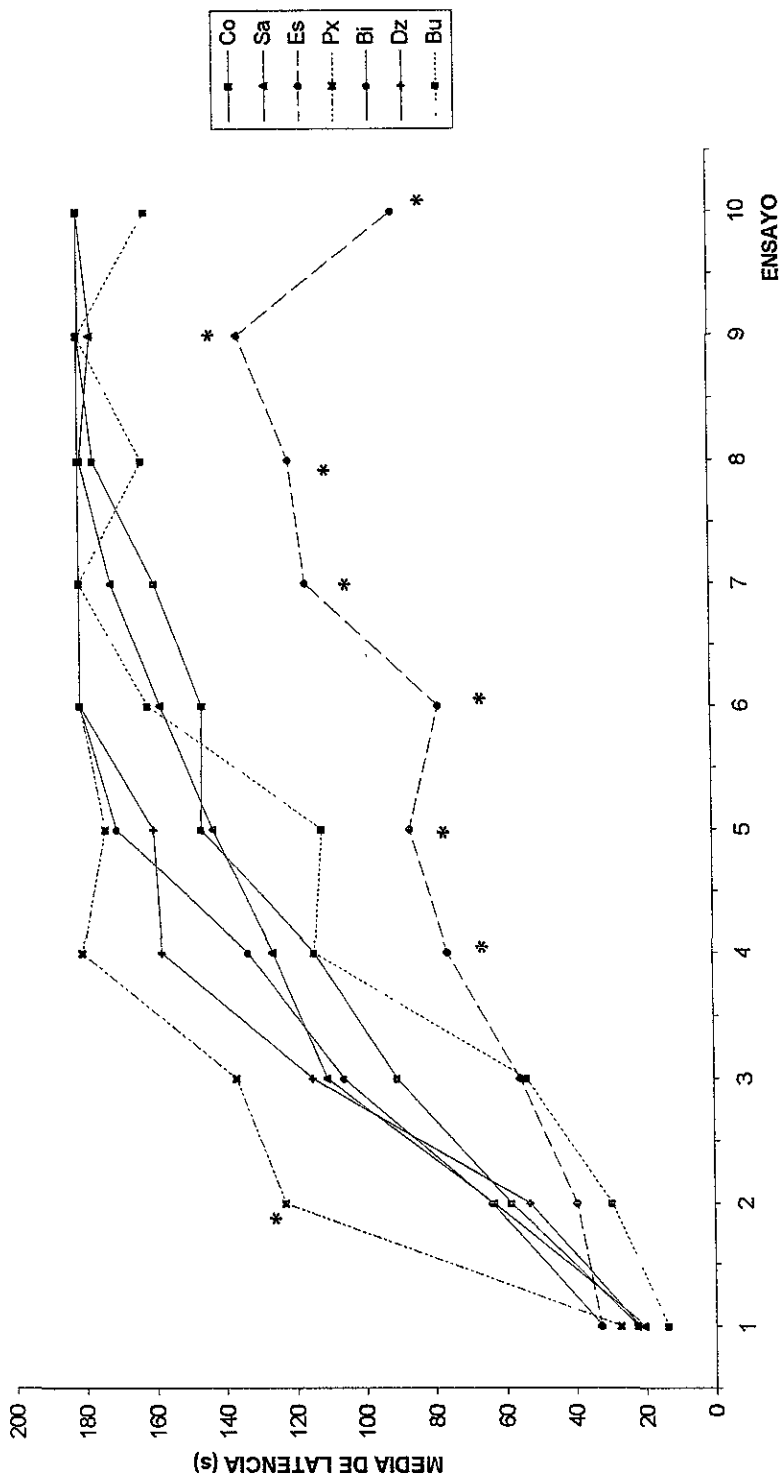


Fig. 6. Media de latencia de adquisición (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona.
 El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Tukey $p < 0.05$.

EXPERIMENTO-2

DROGA	DIA 2 (Prueba de retención a las 24 horas)									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	81.9	144.6	165.9	149.8	164.5	166.2	174.7	179.8	180	180
Sa	110.4	120.3	148.3	163.3	171.8	174.6	180	180	180	180
Es	20.8*	108.4	166.4	175.6	157.8	180	180	180	180	180
Px	78.6	101.5	162.9	180	180	180	180	180	180	180
Bí	87.8	147.6	180	180	168.3	165.3	180	180	180	180
Dz	23.3*	47.1*	97*	82.4*	104.2	180	180	180	180	180
Bu	42.1	88.6	166.3	180	160.5	179.6	180	180	180	180

Cuadro 3. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina,

Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=buspirona) para el DIA 2.

Las drogas se administraron *únicamente 30 min antes del entrenamiento* de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple

El (*) indica diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa. Post-hoc de Tukey, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 2
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO UNICAMENTE
DIA 2

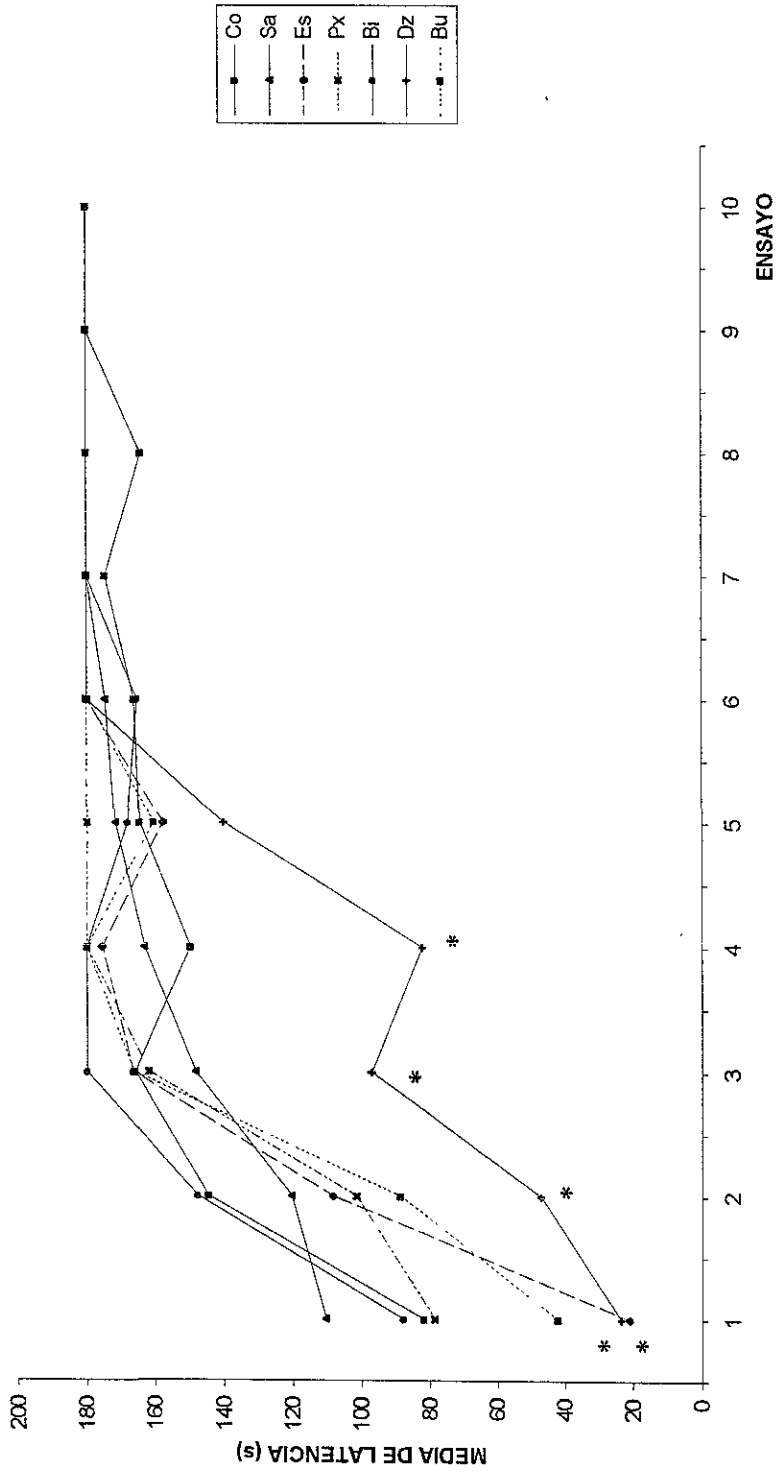


Fig. 7. Media de latencia de retención (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona.
 El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Tukey $p < 0.05$.

EXPERIMENTO-2

DROGA	DIA 3 (Prueba de retención a las 48 horas)									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	128.1	144.8	180	180	180	180	180	180	180	180
Sa	117.2	178.7	180	180	180	180	180	180	180	180
Es	91.9	171.2	165.6	158.3	180	180	180	180	180	180
Px	72.2	157.6	180	180	180	180	180	180	180	180
Bi	160.2	152.8	180	180	180	180	180	180	180	180
Dz	87.7	122.5	146.8	165.2	180	180	180	180	180	180
Bu	130.8	167.1	159.6	164.5	180	180	180	180	180	180

Cuadro 4. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picotóxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=bupiróna) para el **DIA 3**
 Las drogas se administraron **únicamente 30 min antes del entrenamiento** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple

NOTA: Al aplicar la prueba de Tukey no se presentaron diferencias significativas.

EXPERIMENTO 2
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO UNICAMENTE
DIA 3

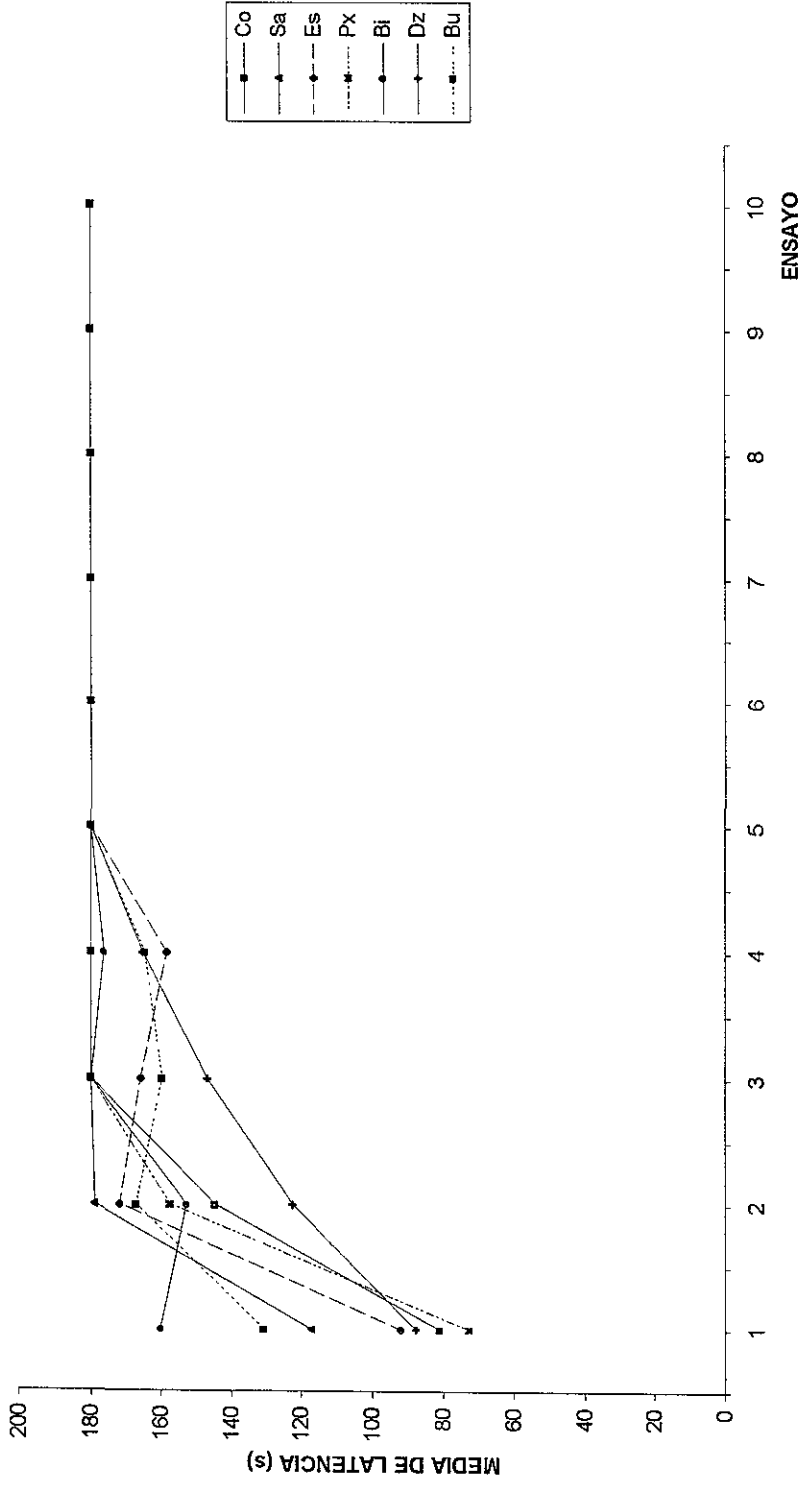


Fig. 8. Media de latencia de retención (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona.

DROGA	Número de ensayos para alcanzar el criterio Experimento-2		
	DIA 1	DIA 2	DIA 3
CONTROL	9.1	6.6	5.8
SALINA	9.0	6.8	5.6
ESCOPOLAMINA (8.0 mg/kg)	10.0 *	7.4	6.9
PICROTOXINA (2.0 mg/kg)	7.1 *	6.3	6.0
BICUCULINA (2.0 mg/kg)	8.0	6.1	5.0
DIAZEPAM (2.0 mg/kg)	8.4	8.6 *	7.0
BUSPIRONA (2.0 mg/kg)	9.4	7.7	6.7

Cuadro 5. Valor medio del número de ensayos para alcanzar el criterio (permanecer 5 ensayos consecutivos en el compartimento seguro de la cámara) cuando las drogas se administraron únicamente **30 min antes del entrenamiento** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

Los símbolos (*, *) indican diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa.
 Post-hoc de Duncan $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 2
ENSAYOS PARA CRITERIO (5 CONSECUTIVOS) INYECCION 30' ANTES DEL
*** ENTRENAMIENTO**

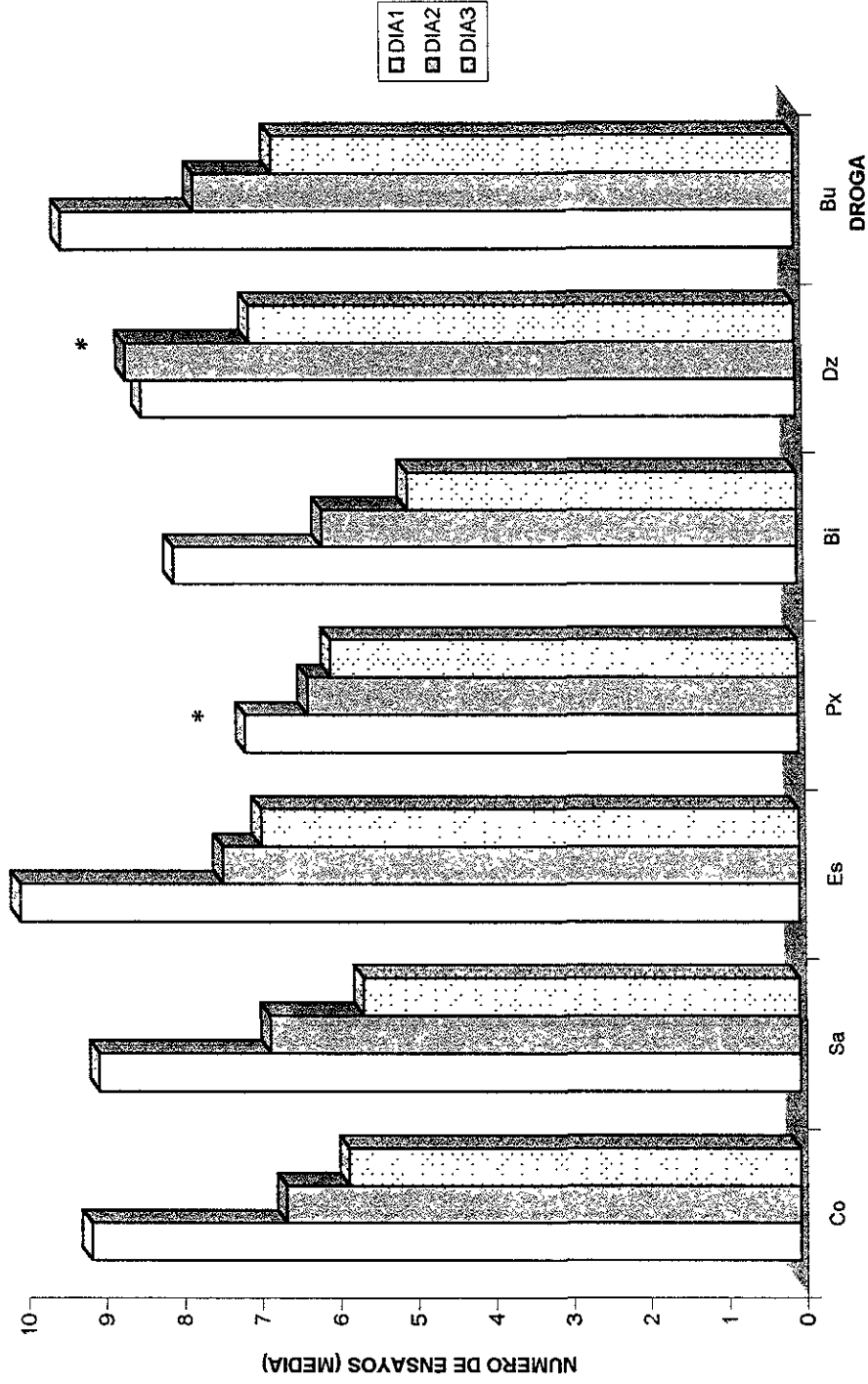


Fig. 9. Media de ensayos para alcanzar el criterio Vs. droga. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=bupirona. El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Duncan $p < 0.05$.

DROGA	Número de errores Experimento-2		
	DIA 1	DIA 2	DIA 3
CONTROL	4.5	1.7	0.8
SALINA	4.3	1.8	0.6
ESCOPOLAMINA (8.0 mg/kg)	7.8 *	2.1	1.1
PICROTOXINA (2.0 mg/kg)	1.8 *	1.3	0.9
BICUCULINA (2.0 mg/kg)	3.0 *	1.0	0.4
DIAZEPAM (2.0 mg/kg)	2.9 *	3.4 *	1.6 *
BUSPIRONA (2.0 mg/kg)	4.9	2.1	0.9

Cuadro 6. Valor medio del número de errores cometidos en cada día, cuando las drogas se administraron únicamente **30 min antes del entrenamiento** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

Los símbolos (*, *) indica diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa.
Post-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 2
 NUMERO DE ERRORES INYECCION 30' ANTES
 DEL ENTRENAMIENTO

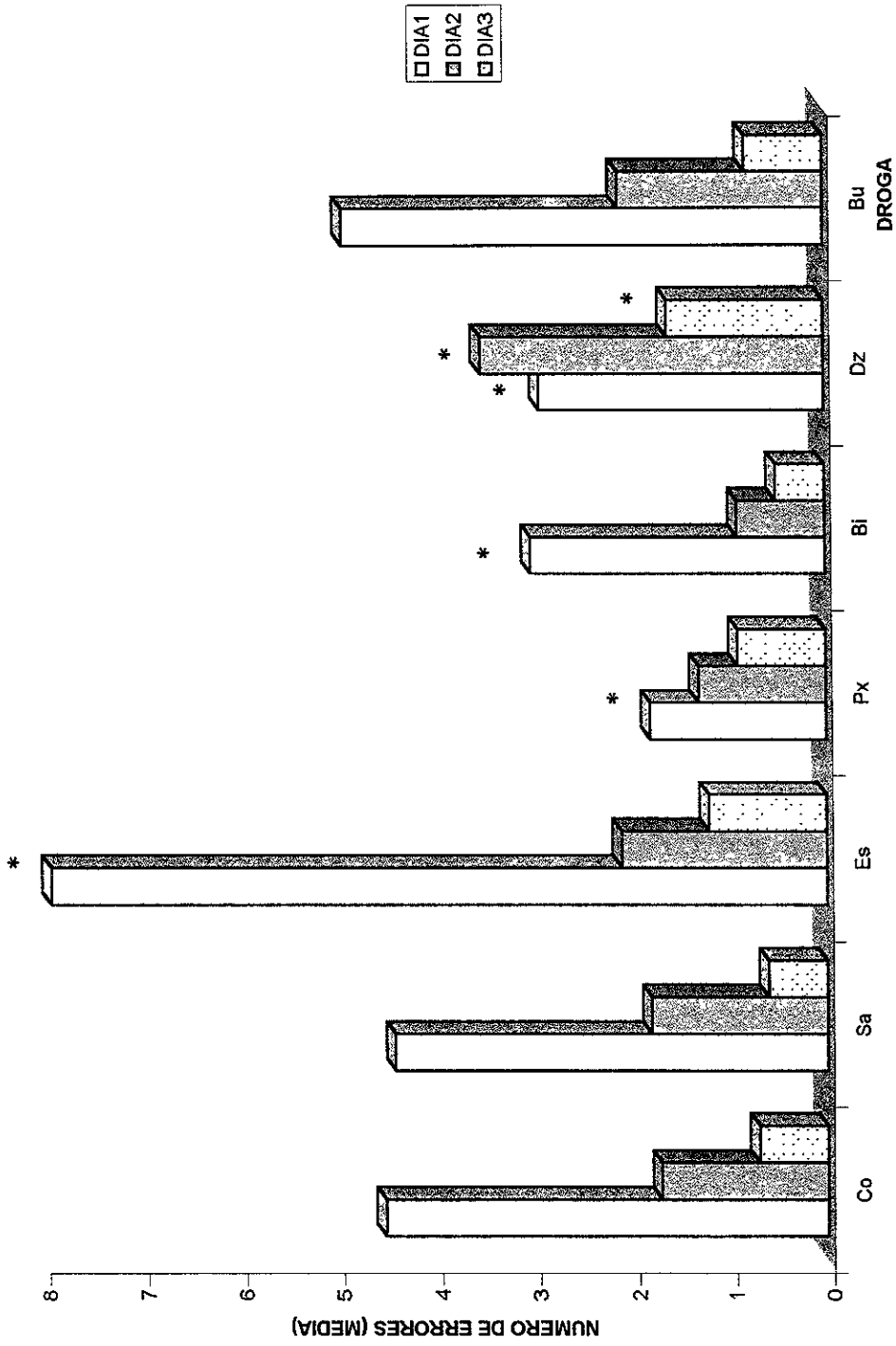


Fig. 10. Media de errores Vs. droga. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona. El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Duncan $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 3

Hay evidencia experimental (Overton, 1964) que indica que los efectos farmacológicos producidos por una variedad de drogas pueden actuar como un estímulo condicionado intrínseco a la ejecución de una respuesta. Así, la memoria adquirida en un estado drogado puede ser recordada en el mismo estado drogado pero no en un estado diferente. En el experimento 2 las drogas fueron administradas antes del entrenamiento, y la prueba de retención fue conducida sin la administración de ellas por lo que el deterioro en la ejecución, observado en el grupo de diazepam, durante la sesión de prueba (día 2) puede ser interpretado como un fenómeno ligado a estado. Hasta el momento se ha presentado una controversia sobre si los efectos producidos por el diazepam son o no dependientes del estado drogado del animal, algunos autores han reportado dependencia de estado para benzodiazepinas (Nakagawa, Iwasaki, Ishima & Kimura, 1993) incluyendo el diazepam (Patel, Ciofalo & Iorio, 1979), mientras que ha sido documentado por otros autores que los efectos de diazepam sobre los procesos mnemónicos no está ligado a dependencia de estado (Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986; Viana, Tomaz & Graeff, 1994; Wada & Fukuda, 1992).

Esta situación nos llevó a plantear este tercer experimento, en el cual los fármacos se administraron a cada uno de los grupos antes del entrenamiento (día 1) y antes de cada una de las sesiones de prueba (días 2 y 3), proponiéndose el siguiente

Objetivo:

Evaluar la presencia de aprendizaje ligado a estado para los fármacos diazepam (2.0 mg/kg), buspirona (2.0 mg/kg), picrotoxina (2.0 mg/kg), bicuculina (2.0 mg/kg) y escopolamina (80 mg/kg) en una tarea de evitación inhibitoria de ensayo múltiple.

Procedimiento:

Entrenamiento y prueba de la tarea de evitación en ensayo múltiple bajo el efecto de los fármacos (Día 1, Día 2 y Día 3):

Dosis de 2.0 mg/kg de picrotoxina, bicuculina, diazepam o buspirona y de 8.0 mg/kg de escopolamina fueron administradas (i.p.) a los animales 30 minutos antes del entrenamiento (*Día 1*) de una tarea de evitación inhibitoria en ensayo múltiple a grupos independientes (n=10). La intensidad del choque suministrado en el compartimento oscuro de la cámara también como en el Experimento 2 fue de 0.25 mA y tuvo una duración de 1 s. La retención se evaluó al 2º y 3º días sometiendo a los animales nuevamente a 10 ensayos consecutivos de 180 s de longitud y con aplicación del choque eléctrico. La diferencia con el Experimento 2 radicó en que 30 minutos antes de evaluar la retención del 2º y 3º día, los sujetos recibieron nuevamente la administración intraperitoneal de los fármacos. Como en el experimento 2, las latencias de retención fueron registradas para cada ensayo, también se calculó el número de ensayos requeridos para que los animales permanecieran 5 ensayos consecutivos en el compartimento seguro, así como el número de errores cometidos por cada grupo a lo largo de cada uno de los días.

Resultados:

Latencias de adquisición y retención

La media de las latencias de adquisición en cada ensayo del Día 1 se registran para cada grupo en el Cuadro 7, Los Cuadros 8 y 9 muestran el valor medio de las latencias de retención en cada uno de los ensayos de los días 2 y 3 respectivamente. Después de aplicar a estos datos la prueba estadística de ANOVA mixto 7(droga)X3(día)X10(ensayo), se detectó la presencia de diferencias significativas entre el factor droga $F(6, 63)=16.00$, $p<0.0001$, para el factor día $F(2, 126)=1354.67$, $p<0.0001$ y para la interacción díaXdroga $F(12, 126)=16.69$, $p<0.0001$. También se presentaron diferencias significativas con el factor ensayo $F(9, 567)=141.85$, $p<0.0001$ y para la interacción ensayoXdroga $F(54, 567)=1.94$, $p<0.0001$.

La prueba post-hoc de Tukey ($p<0.05$) indicó en el día 1 (ver Fig. 11) la formación de sub-grupos semejantes a los obtenidos en el experimento 2, por lo que se puede intuir en términos generales que cada uno de los tratamientos tuvo efectos similares

a los descritos en el experimento anterior. Nuevamente un deterioro en la adquisición ocasionado por **Es**, fue evidente pero en esta ocasión dicho deterioro ocurrió durante toda la sesión y a partir del E_2 . También se presentó el efecto facilitatorio de la **Px** durante el primer ensayo. Cabe señalar que en esta ocasión se formó un sub-grupo adicional diferente estadísticamente al grupo de **Sa** en el ensayo 5, conformado por **Px** y **Bi** quienes presentaron latencias de adquisición de 180 segundos, lo que pone de manifiesto el efecto facilitatorio de estas drogas para la tarea.

En la Fig. 12 se muestran los comportamientos de cada uno de los tratamientos durante el **Día 2**. La ordenada representa la media de las latencias de retención en segundos y el eje de las abscisas el número de ensayos. La prueba de Tukey indicó que las diferencias sólo fueron significativas durante los ensayos 5, 8 y 9 para el grupo de buspirona en comparación con el grupo de salina, lo que se puede interpretar como deterioro en la ejecución de la conducta. Se observa que al administrar diazepam antes de la prueba de retención (Día 2), dejan de presentarse los efectos de deterioro que fueron evidentes cuando el fármaco no se administró previamente (experimento 2).

En la Fig. 13 aparecen las gráficas que representan la media de las latencias para cada uno de los tratamientos contra el número de ensayo para el **Día 3**. Aquí la prueba post-hoc indicó que no se encuentran diferencias significativas entre los grupos, es importante señalar que los animales que recibieron buspirona 30 minutos antes de esta prueba siguieron pasando al compartimento de choque a lo largo de los primeros 6 ensayos.

Número de ensayos para alcanzar el criterio

En el Cuadro 10 se encuentra registrado el valor medio de ensayos que requirieron los animales de cada grupo para alcanzar el criterio (mantenerse en el lugar seguro por 5 ensayos consecutivos) cuando las drogas se administraron 30 minutos antes del entrenamiento y 30 minutos antes de cada una de las sesiones de prueba. En la Fig. 14 se muestra una gráfica de barras en donde la ordenada representa el valor medio del número de ensayos y la abscisa el tratamiento administrado.

Cuando se aplicó la prueba estadística de ANOVA mixto 7(droga)X3(día), las diferencias se presentaron para el factor droga $F(6, 63)=7.85$, $p<0.0001$; el factor día $F(2,126)=96.98$, $p<0.0001$ y en la interacción díaXdroga $F(12, 126)=4.15$, $p<0.0001$. Después de aplicar la prueba de Duncan ($p<0.05$) las diferencias significativas durante el **Día 1** se presentaron en los grupos de **Es**, **Px** y **Bi** con respecto a **Sa**. El grupo de **Es** requirió de un número mayor de ensayos para alcanzar el criterio, mientras que los grupos de **Px** y **Bi** necesitaron de menos ensayos para alcanzar el criterio. El comportamiento observado para **Es** y **Px** es similar al observado en el día 1 del experimento 2, sin embargo los animales tratados con **Bi** también requirieron de un número menor de ensayos.

Durante los **Días 2 y 3** la prueba de Duncan señaló que las diferencias fueron significativas únicamente para el grupo que había recibido **Bu**, el cual registró el mayor número de ensayos; estas diferencias no fueron evidentes en el experimento 2. El grupo de **Dz** necesitó para el día 2 del experimento 3 menor número de ensayos para alcanzar el criterio en comparación con los requeridos en el experimento 2.

Número de errores

En el Cuadro 11 se presenta la media de los errores que los grupos cometieron en cada uno de los días de este experimento.

El ANOVA de medidas repetidas con un diseño mixto 7(droga)x3(día) mostró que las diferencias se presentaron para el factor droga $F(6,63)=15.38$, $p<0.0001$; el factor día $F(2,126)=178.09$, $p<0.0001$ y en la interacción díaXdroga $F(12,126)=13.92$, $p<0.0001$. La prueba post-hoc de Duncan ($p<0.05$) mostró que entre los grupos **Co** y **Sa** no se presentaron diferencias significativas, de ahí que las comparaciones de los otros grupos se hicieron solo con respecto **Sa** para cada uno de los días.

La Fig. 15 contiene la gráfica de barras que relaciona el valor medio del número de errores contra los tratamientos. En el **Día 1** las diferencias estadísticas significativas se presentaron en los mismos grupos (escopolamina, picrotoxina, bicuculina y diazepam) que en los del experimento 2, siendo también el grupo de escopolamina el que cometió el mayor número de errores, mientras que los grupos a los que se les

administró picrotoxina, bicuculina y diazepam registraron el menor número de errores. En el día **Día 2** el número de errores cometidos por los grupos fue reducido y no se presentaron diferencias significativas entre esos valores. Es necesario enfatizar que la administración previa de diazepam en la prueba de retención a las 24 horas no incrementó el número de errores, situación contraria a la que se presentó en el día 2 del experimento 2; donde sin administración previa de diazepam el grupo mostró un evidente deterioro en la ejecución. Durante el **Día 3** el grupo de bicuculina mejoró significativamente su ejecución registrando el menor número de errores.

Discusión:

Es importante señalar que no hubo diferencias en el procedimiento seguido durante el día 1 en los experimentos 2 y 3; la administración de los tratamientos en ambos casos, ocurrió 30 minutos antes del entrenamiento por lo que en términos generales, el efecto que presentaron los fármacos es similar en ambos experimentos. Sin embargo, en el experimento 3 fue más notorio el deterioro en la adquisición provocado con el grupo de **Es** mismo que se presentó desde el E_2 hasta el E_{10} . Los valores de latencia de adquisición permiten detectar en el E_1 el efecto facilitatorio de la **Px** y el de ambas drogas **Px** y **Bi**, en el E_5 . Ya se indicó que el efecto facilitatorio para estos fármacos fue reportado por el grupo de McGaugh (Brioni & McGaugh, 1988) y que en este laboratorio, la administración pre-entrenamiento de estas drogas tuvo un efecto opuesto ($I=0.5$ mA) o no se presentó efecto ($I=1.0$ y 2.5 mA) bajo una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo (Secundino, López & Cruz-Morales, 1996).

La ausencia de diferencias significativas entre las latencia de retención de los grupos de **Dz** y **Bu** con respecto a la del grupo de salina muestra que estos fármacos no produjeron efecto sobre la adquisición.

Sorprendentemente, durante el **Día 2** la administración previa de **Es** no produjo deterioro de la ejecución en el E_1 , como había ocurrido en el día 2 del experimento 2. Y los sujetos mantienen una ejecución adecuada para esta tarea conductual, y este nivel de ejecución se mantiene a lo largo de los 9 ensayos restantes. Es evidente que

el efecto amnésico del anticolinérgico no se manifiesta a pesar de que los animales se encuentran bajo el efecto del fármaco. Resultados semejantes fueron obtenidos por Meyers (1985) quien mostró que la administración subcutánea de 0.2 mg/kg de escopolamina, 25 minutos antes del entrenamiento, ocasiona un deterioro en la adquisición; pero este deterioro no se presenta en la retención cuando a este mismo grupo se le administró escopolamina antes de la sesión de prueba (24 horas después). Este investigador descarta la posibilidad de un aprendizaje ligado a estado porque ratas entrenadas con escopolamina no muestran deterioro cuando se prueban con salina. En nuestro estudio tampoco fue evidente la dependencia de estado, puesto que en el experimento 1 al evaluar la retención el día 2, el deterioro en la ejecución no se presentó (número de errores que los sujetos cometieron cuando los animales no estaban bajo el efecto de la droga). Puesto que esta dosis de **Es** afectó la adquisición (Día 1 Experimento 2), el deterioro de la evitación inhibitoria en la sesión de prueba (E_1 del día 2 del experimento 2) pudo haberse debido a la ausencia de aprendizaje durante el entrenamiento. Ahora bien, si el deterioro en la adquisición por **Es** no es debido a una dependencia de estado, ¿cómo se explica el efecto facilitatorio que se presenta en el día 2 de este experimento, a pesar de que los animales se encuentran bajo el efecto de la **Es**?. Los resultados permiten sugerir que ante el bloqueo colinérgico, la huella de la memoria puede ser almacenada gracias a la participación de otros sistemas neuroquímicos en el proceso de consolidación. La participación de otros sistemas neuroquímicos durante la consolidación de tareas instrumentales ya ha sido planteada por algunos investigadores (Cruz-Morales, Durán-Arévalo, Díaz del Guante, Quirarte & Prado-Alcalá, 1992; Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990; Meyers, 1985).

Ya se indicó que debido a que en la sesión de prueba (día 2) del experimento 2, el grupo de **Dz** mostró efecto amnésico (los animales presentaron latencias de retención significativamente menores a las del grupo de salina) sin haber recibido la droga, este deterioro en la ejecución pudo ser atribuido a un deterioro en la memoria anterógrada o bien a un aprendizaje ligado a estado. Los datos del experimento 3

nos muestran que en el Día 2 la administración previa de diazepam no deterioró la retención, las latencias de este grupo son altas y estadísticamente no difieren de las del grupo de salina, esto indica que la administración de este agonista benzodiazepínico no impidió que la tarea aprendida fuese recordada.

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos 2 y 3 podemos sugerir la presencia de aprendizaje dependiente de estado con la administración de diazepam; pues el deterioro en la retención ocurre cuando la prueba se ejecuta bajo un estado de no droga (día 2 del experimento 2) diferente al estado en que se lleva a cabo el entrenamiento con droga (día 2 del experimento 3). Nuestros datos corresponden a los obtenidos en el trabajo de Patel, Ciofalo & Iorio (1979) quienes mostraron la evidencia de un aprendizaje ligado a estado con la administración oral de 2.5 mg/kg de **Dz** a ratones empleando un procedimiento de evitación inhibitoria (permanecer sobre una plataforma para evitar un choque de 0.2 mA y concluyeron que la dependencia de estado sugiere que la amnesia aparente vista en humanos refleja una falla a recordar debido al no reconocimiento del estado drogado. Sin embargo, como se indicó al principio de este experimento, ha sido documentado por otros autores que los efectos de diazepam sobre los procesos mnemónicos no está ligado a dependencia de estado (Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986; Viana, Tomaz & Graeff, 1994; Wada & Fukuda, 1992).

Mientras que en este día el agonista benzodiazepínico **Dz** no tiene efecto sobre la retención de la tarea el ansiolítico 5-HT **Bu** deteriora significativamente la ejecución de los sujetos en los ensayos 5, 8 y 9.

Número de ensayos y número de errores:

El elevado número de ensayos para alcanzar el criterio así como el alto número de errores cometidos por el grupo de **Es** durante el **Día 1** de este experimento, vienen a confirmar el deterioro en la adquisición evidenciado con los valores de latencia con la preadministración administración de este anticolinérgico. También estos parámetros permiten detectar el efecto facilitatorio de la **Bi** y la **Px**, fenómeno que cuando se analizaron las latencias se observó para ambas drogas sólo en el E_5 del día 1. Por lo

que respecta al grupo de **Dz** también su reducido número de errores hace evidente su efecto facilitatorio durante el primer día. Cuando se analizan el número de errores y de ensayos para alcanzar el criterio para el grupo de **Bu** no se observa efecto sobre la adquisición.

En el **Día 2** el número bajo de ensayos para alcanzar el criterio y el número de errores del grupo de **Es** evidencian la ausencia efecto amnésico a pesar de que el anticolinérgico fue administrado 30 min antes de la evaluación de la retención de la tarea. Ya se indicó al analizar las latencias la posible participación de otros sistemas neurotransmisores para facilitar el aprendizaje de la tarea ante el bloqueo del sistema colinérgico.

En este día la administración previa de **Dz** no ocasionó deterioro en la retención, resultado contrario al deterioro observado en el día 2 del experimento 1 cuando no hubo administración previa de droga. El deterioro que mostraron los animales durante la prueba de la respuesta de evitación estando libres de droga, cuando previamente habían sido entrenados bajo la influencia del diazepam (días 1 y 2 del experimento 2) y la reversión de este bloqueo observado cuando los animales fueron entrenados y probados bajo la influencia de la droga (días 1 y 2 del experimento 3) sugiere la presencia de aprendizaje ligado a estado.

Como se indicó al principio de este experimento, Overton (1964) observó que la adquisición de una tarea en un estado drogado requiere del mismo estado drogado para su recuerdo. Nuestra evidencia sobre dependencia de estado con la administración de diazepam difiere de la de otros autores quienes concluyen que los efectos de este ansiolítico sobre los procesos mnemónicos no están ligados a dependencia de estado (Cahill, Brioni & Izquierdo, 1986; Viana, Tomaz & Graeff, 1994; Wada & Fukuda, 1992). Sin embargo, podemos considerar que en el estudio donde se sugiere la presencia de aprendizaje ligado a estado (Patel, Ciofalo & Iorio, 1979) el diazepam fue administrado por vía oral empleando una dosis de 2.5 mg/kg y los sujetos experimentales se entrenaron a permanecer sobre una plataforma para evitar un choque de 0.2 mA. En el trabajo de Viana, Tomaz & Graeff (1994) donde se

descarta la posibilidad de dependencia de estado, se emplearon ratas a las que se les administró 2.0 mg/kg de diazepam por vía intraperitoneal y fueron evaluadas en el componente de evitación inhibitoria del laberinto en T. Estos trabajos difieren entre sí en términos de la dosis, la vía de administración y la especie. Otra diferencia fundamental en estas dos pruebas de evitación inhibitoria radica en que el componente de evitación inhibitoria del laberinto en T está relacionado con una ansiedad anticipatoria (miedo condicionado) porque los sujetos aprenden a evitar el brazo abierto del laberinto; mientras que en la prueba de evitación inhibitoria empleada en nuestro experimento los animales aprenden a evitar un choque eléctrico (estímulo nociceptivo). Esto implica que la naturaleza del estímulo aversivo en las pruebas también es distinta y en consecuencia implicaría diferencias en el efecto (Handley & M^cBlane, 1993).

La administración previa de **Bu** en el día 2 no tuvo efecto sobre la ejecución de la tarea durante los primeros 4 ensayos, aunque en los ensayos 5, 8 y 9 un efecto amnésico se hizo evidente. Es importante hacer notar que ese efecto no se vio reflejado en el número de errores cometidos por los sujetos pero si sobre el número de ensayos para alcanzar el criterio (**Bu** fue el grupo que requirió significativamente de un mayor número de ensayos para alcanzar el criterio). Para esta droga se descarta presencia de aprendizaje ligado a estado, ya que al probar los animales bajo un estado de no droga (día 2 del segundo experimento) no se presentó deficiencia en la retención en esta tarea, lo cual es consistente con los resultados obtenidos por Rowan, Cullen & Multon (1990), Wada & Fukuda (1992).

Es importante analizar la falta de correspondencia entre latencias y número de errores con respecto al número de ensayos que **Bu** requiere para alcanzar el criterio. Podemos considerar que el modelo de evitación en ensayo múltiple nos permite apreciar que la memoria de la tarea no es deteriorada (número de errores pequeño) pero que los pocos errores se distribuyen de manera amplia a lo largo de la sesión ocasionando que el número de ensayos para alcanzar el criterio se incremente; de tal

suerte que se puede proponer que es este el parámetro que refleja la actividad ansiolítica del fármaco en este paradigma de ensayo múltiple.

Los datos anteriores nos permiten apreciar que la prueba de evitación inhibitoria en ensayo múltiple nos muestra un perfil más amplio de los efectos de las drogas, ya que permite el análisis del comportamiento de los sujetos bajo la acción de los fármacos a lo largo de un número definido de ensayos. Pareciera que la supresión de la respuesta de evitación que presentan los animales bajo la administración de buspirona a partir del E_5 es una manifestación del efecto ansiolítico de esta droga; ya fue planteado que las drogas ansiolíticas desinhiben conductas castigadas o motivadas por estimulación aversiva (Green & Hodges, 1991; Handley & M^oBlane, 1993; Houser, 1978; Treit, 1985).

De acuerdo con esta propuesta podría pensarse que el aumento significativo en el número de ensayos que el grupo de **Bu** requiere para alcanzar el criterio en el **Día 3** sigue reflejando la permanencia del efecto ansiolítico de la droga. En general el número de errores que los sujetos cometen durante el día 3 disminuye y se dejan de presentar efectos con la administración de **Es**, **Px** y **Dz**, aunque con **Bi** se pone de manifiesto su efecto facilitatorio.

El valor disminuido de errores cometidos por el grupo de **Bi** durante el **Día 3** confirma el efecto facilitatorio de este fármaco. La mejora en la ejecución posiblemente sea el resultado de su carácter ansiogénico. Dada la misma naturaleza ansiogénica de la **Px** pudiera esperarse también un efecto facilitatorio similar al de la **Bi** sin embargo, eso no ocurre. Es posible que esta diferencia se deba a que estas drogas GABAérgicas tienen diferentes mecanismos de acción para antagonizar al GABA. La **Bi** actúa por competencia sobre receptores GABA_A y la **Px** actúa bloqueando los canales de cloro de los receptores GABA_A. Otra explicación posible tiene que ver con los efectos de la **Bi** sobre sistema colinérgico. Se sabe que la administración de **Bi** produce un aumento de la liberación de ACh en la corteza cerebral (Hemsworth & Neal, 1968).

No se encontró evidencia de aprendizaje ligado a estado con la administración de picrotoxina, bicuculina, buspirona y escopolamina.

EXPERIMENTO-3

DROGA	DIA 1									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	32.6	61.1	115.9	148.6	163.8	173.5	180	180	180	180
Sa	35.6	65.4	120.1	148.2	131.1	165.7	164.1	178.0	180	180
Es	22.5	16.4*	29.4*	36.0*	67.9*	58.0*	111.5*	133.0	138.7*	96.6*
Px	38.2	177.6*	169.1	180	180*	180	180	180	180	180
Bi	19.1	109.9	151.6	175.3	180*	180	180	180	180	180
Dz	13.0	11.7	156.4	170.6	162.5	180	180	180	180	180
Bu	36.2	89.1	141.2	173.50	170.0	180	158.3	155.6	180	176.3

Cuadro 7. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina,

Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=buspirona) para el **DIA 1**

Las drogas se administraron **30 min antes del entrenamiento y de la prueba** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

Los símbolos (*, *) indican diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa.

Prueba post-hoc de Tukey, p<0.05.

EXPERIMENTO 3
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO Y DE LA PRUEBA
DIA 1

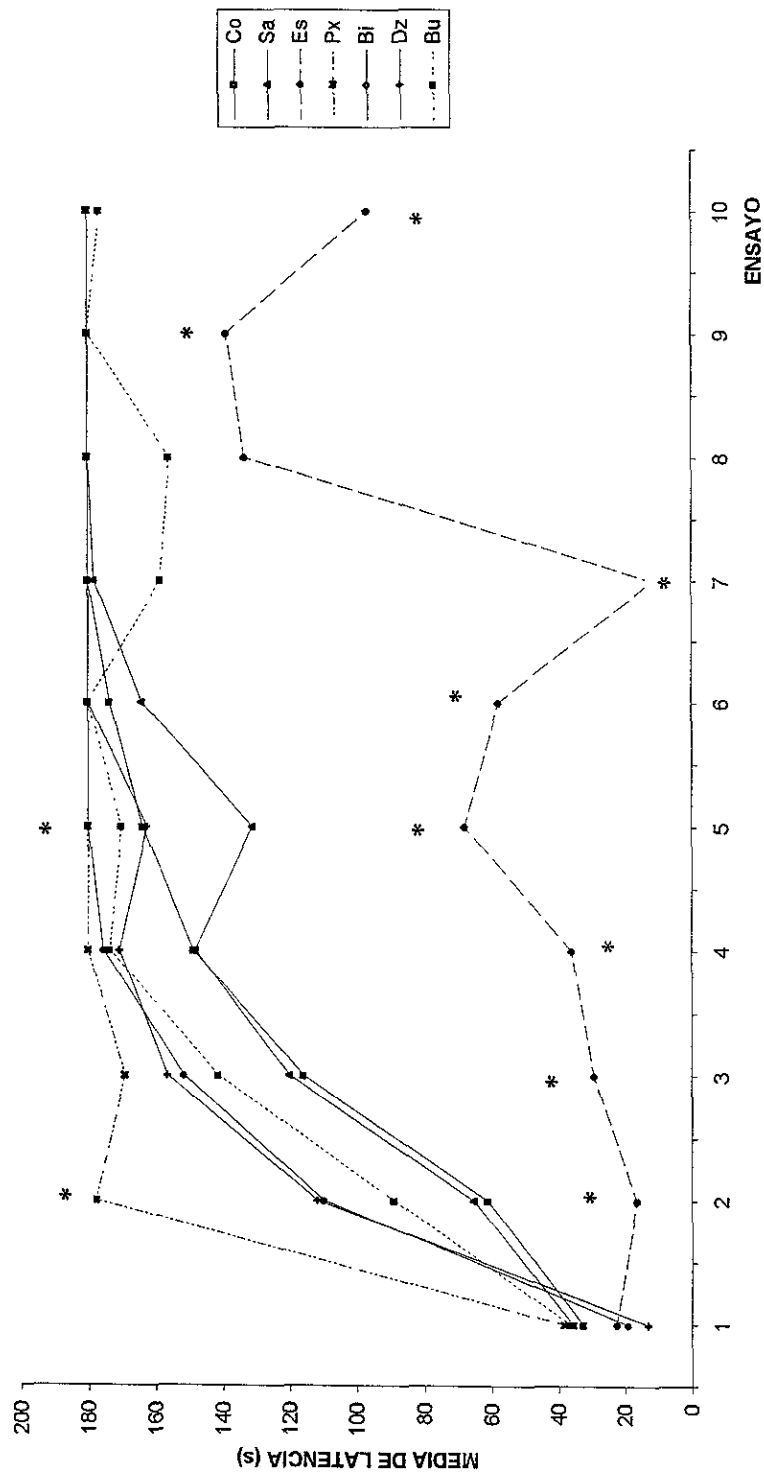


Fig. 11. Media de latencia de adquisición (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona. El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Tukey $p < 0.05$.

EXPERIMENTO-3

DROGA	DIA 2 (Prueba de retención a las 24 horas)									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	96.7	148.2	180	180	180	180	180	180	180	180
Sa	64.1	180	180	180	180	180	180	180	180	180
Es	119.6	152.1	162.4	163.9	180	180	180	180	180	180
Px	119.9	169	159	180	180	180	180	180	180	180
Bi	97.4	162.8	151.1	180	180	180	180	180	180	180
Dz	134.4	171.3	169.7	180	180	180	165.8	180	180	180
Bu	67.3	178.3	167.1	180	150.2*	180	180	172.9*	172.7*	180

Cuadro 8. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=buspirona) para el DIA 2
 Las drogas se administraron **30 min antes del entrenamiento y de la prueba**
 de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

El símbolo (*) indica diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa.
 Prueba post-hoc de Tukey, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 3
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO Y DE LA PRUEBA
DIA 2

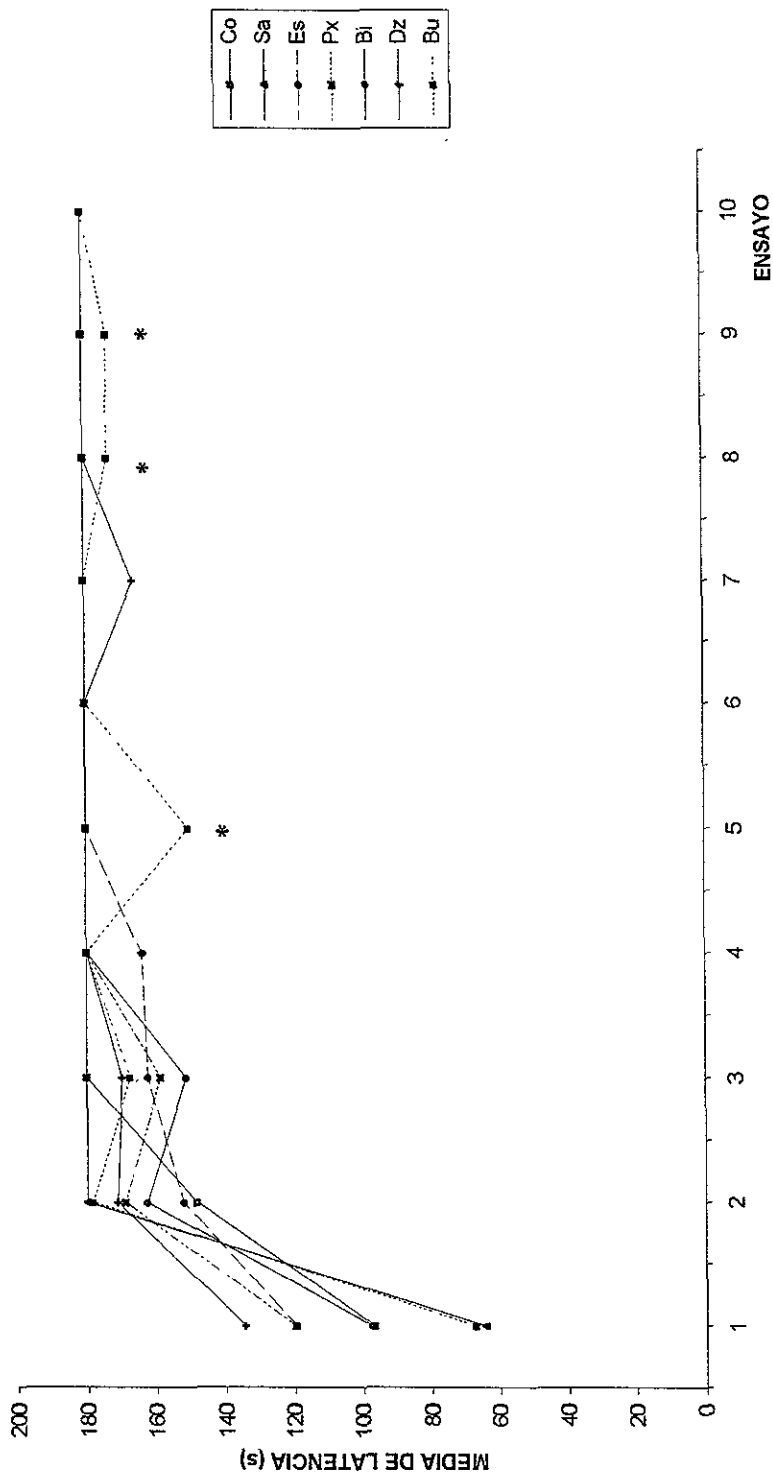


Fig. 12. Media de latencia de retención (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona.
 El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Tukey $p < 0.05$.

EXPERIMENTO-3

DROGA	DIA 3 (Prueba de retención a las 48 horas)									
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Co	145.2	150.5	180	180	180	180	180	180	180	180
Sa	110.2	154.9	180	180	180	180	180	1890	180	180
Es	135.7	161.6	180	180	180	180	180	180	180	180
Px	149.8	180	169.3	180	180	180	180	180	180	180
Bi	164.5	180	180	180	180	180	180	180	180	180
Dz	128.4	180	162.5	174.5	180	180	180	180	180	180
Bu	116.8	138.4	163.5	180	175.6	169.8	180	180	180	180

Cuadro 9. Media de las latencias de retención de cada grupo (Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina, Dz=diazepam y Bu=buspirona) para el **DIA 3**
 Las drogas se administraron **30 min antes del entrenamiento y de la prueba**
 de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

NOTA: Al aplicar la prueba de Tukey no se presentaron diferencias significativas.

EXPERIMENTO 3
EVITACION INHIBITORIA DE ENSAYO MULTIPLE INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO Y DE LA PRUEBA
DIA 3

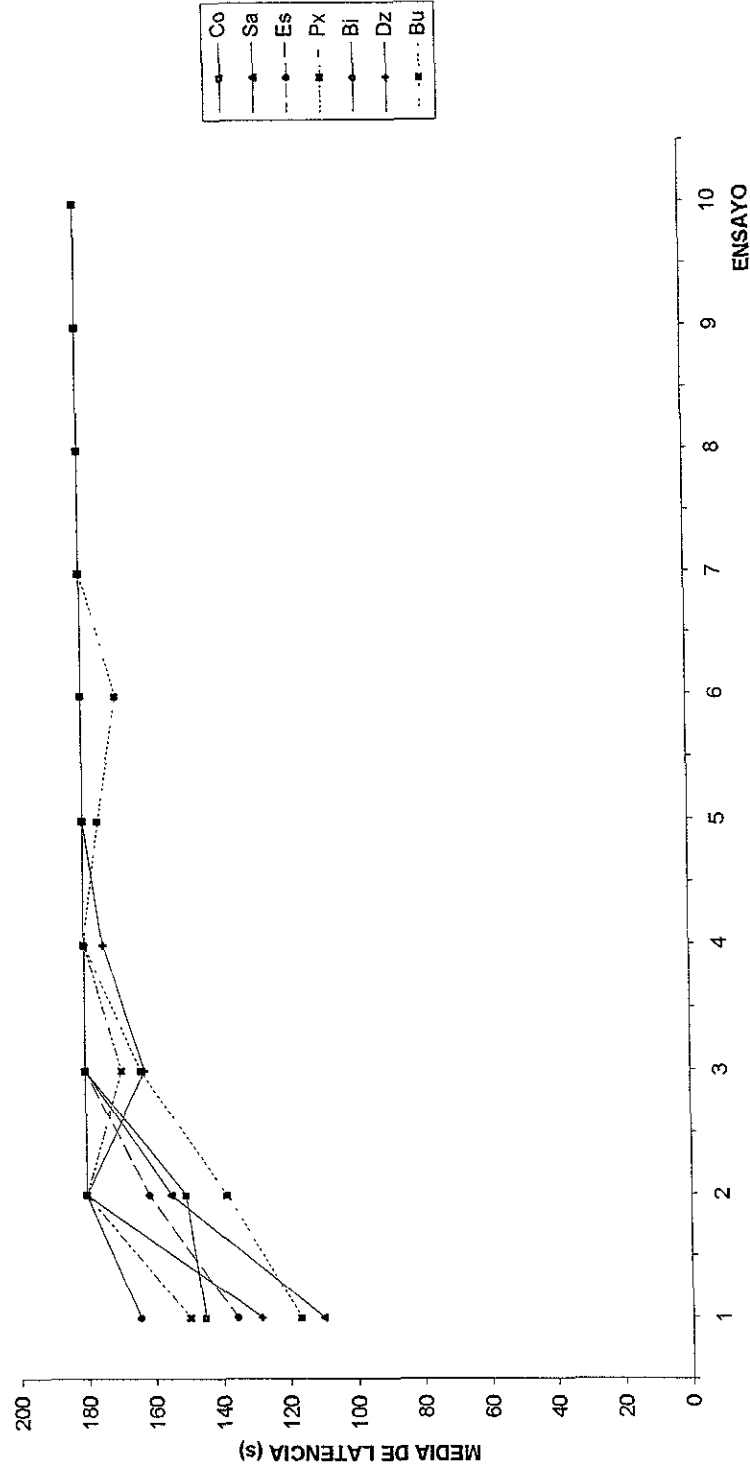


Fig. 13. Media de latencia de retención (s) Vs. Ensayo. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=bupirona.

DROGA	Número de ensayos para alcanzar el criterio Experimento 3		
	DIA 1	DIA 2	DIA 3
CONTROL	8.8	5.7	5.5
SALINA	9.0	5.7	5.6
ESCOPOLAMINA (8.0 mg/kg)	9.9 *	5.9	5.7
PICROTOXINA (2.0 mg/kg)	6.5 *	5.9	5.5
BICUCULINA (2.0 mg/kg)	7.4 *	6.0	5.1
DIAZEPAM (2.0 mg/kg)	7.9	6.3	6.0
BUSPIRONA (2.0 mg/kg)	8.8	8.3 *	6.9 *

Cuadro 10. Valor medio del número de ensayos para alcanzar el criterio (permanecer 5 ensayos consecutivos en el compartimento seguro de la cámara) cuando las drogas se administraron **30 min antes del entrenamiento y de la prueba** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

Los símbolos (*, *) indican diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa. Prueba post-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 3
ENSAYOS PARA CRITERIO (5 CONSECUTIVOS) INYECCION 30' ANTES DEL
ENTRENAMIENTO y 30' ANTES DE LA PRUEBA

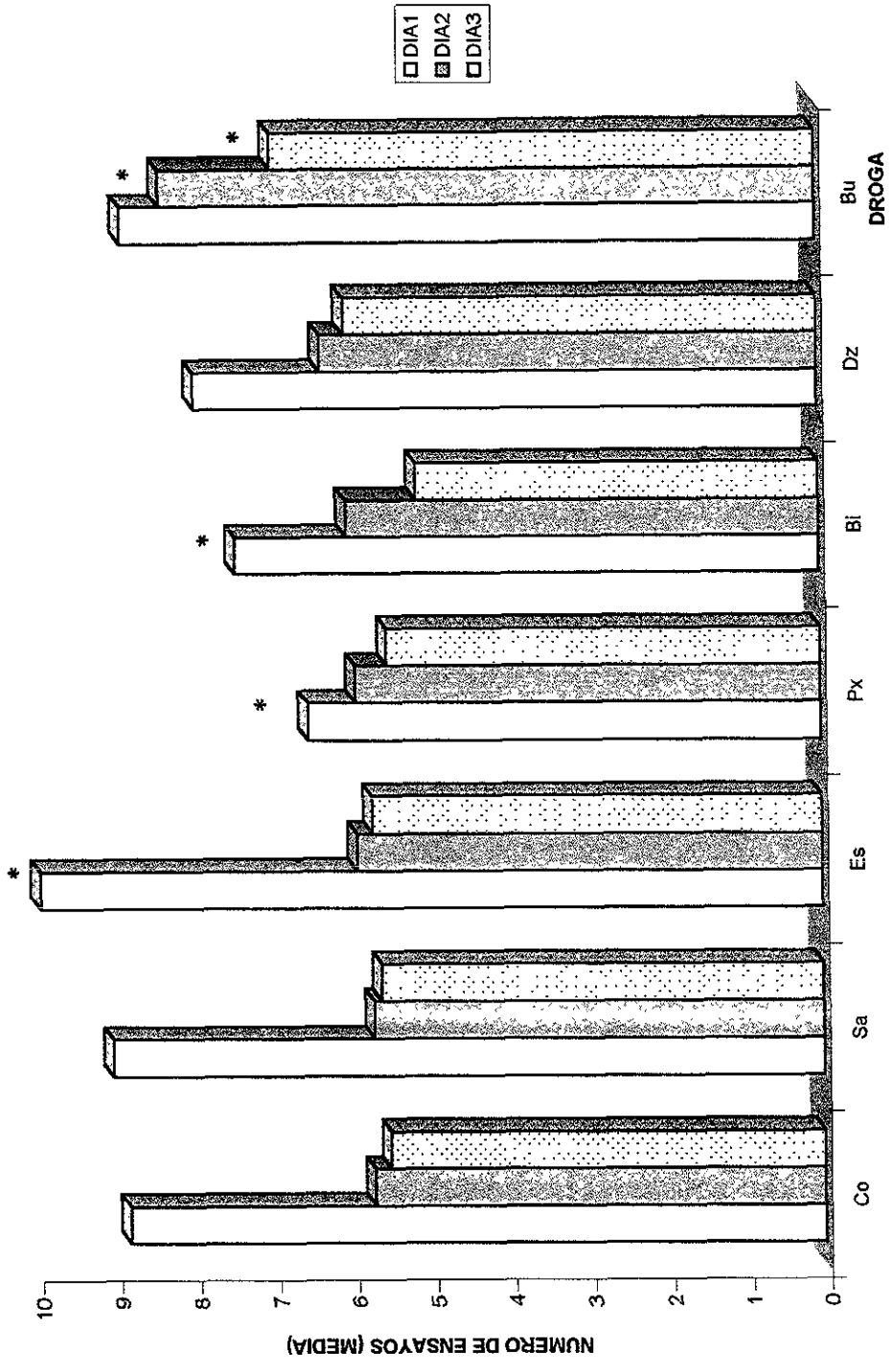


Fig. 14. Media de ensayos para alcanzar el criterio Vs. droga. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona. El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Duncan $p < 0.05$.

DROGA	Número de errores Experimento 3		
	DIA 1	DIA 2	DIA 3
CONTROL	3.4	0.7	0.4
SALINA	3.4	0.7	0.6
ESCOPOLAMINA (8.0 mg/kg)	7.3 *	0.8	0.6
PICROTOXINA (2.0 mg/kg)	1.4 *	0.7	0.3
BICUCULINA (2.0 mg/kg)	2.0 *	0.8	0.1 *
DIAZEPAM (2.0 mg/kg)	2.3 *	0.8	0.6
BUSPIRONA (2.0 mg/kg)	3.0	1.6	0.9

Cuadro 11. Valor medio del número de errores cometidos en cada día, cuando las drogas se administraron **30 min antes del entrenamiento y de la prueba** de un procedimiento de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.

Los símbolos (*, †) indican diferencias estadísticas significativas con respecto a Sa.
 Prueba post-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 3
NUMERO DE ERRORES. INYECCION 30' ANTES DEL ENTRENAMIENTO y 30' ANTES DE LA PRUEBA

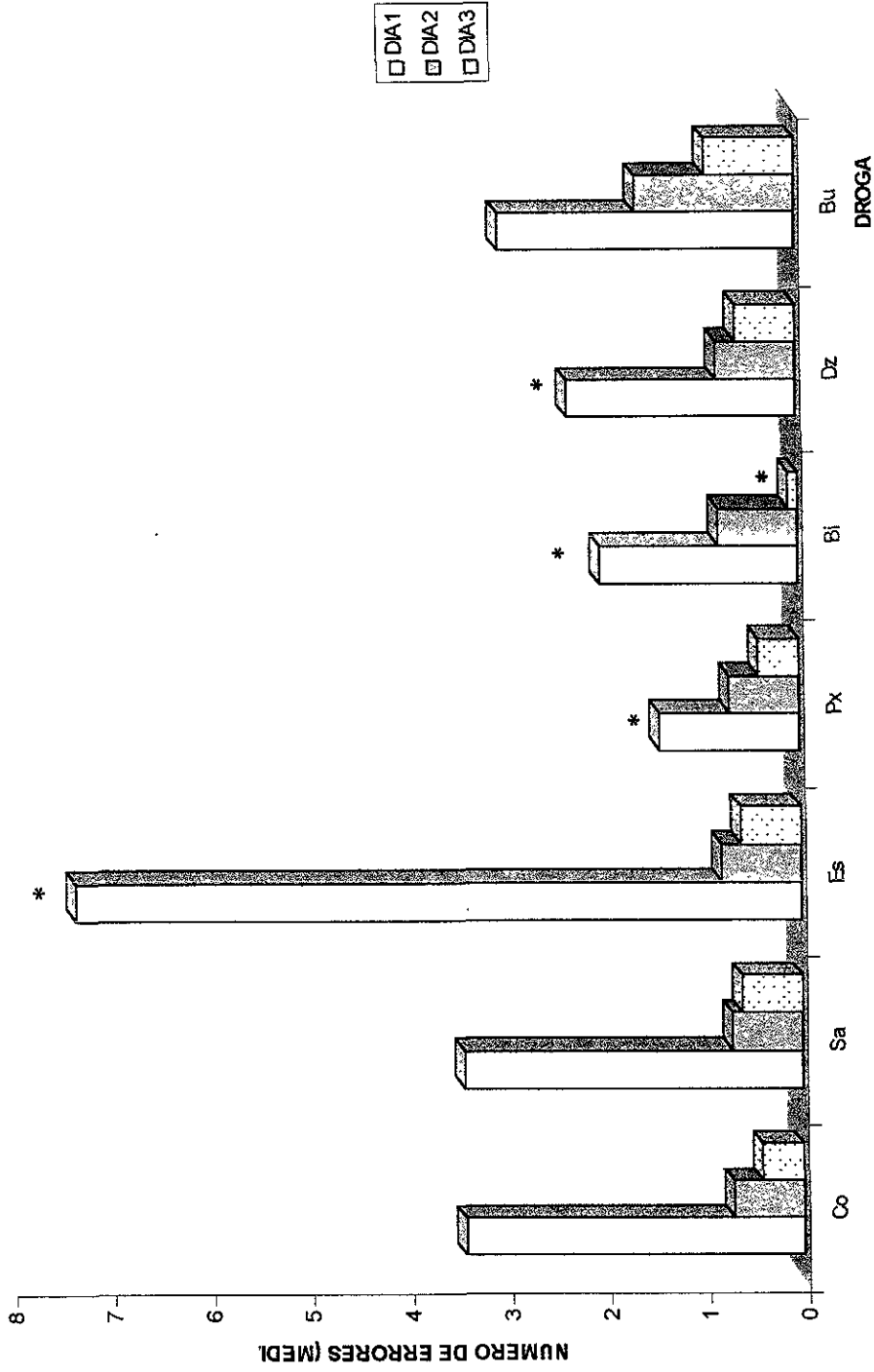


Fig. 15. Media de errores Vs. droga. Co=control, Sa=salina, Es=escopolamina, Px=picrotoxina, Bi=bicuculina Dz=diazepam y Bu=buspirona. El * indica diferencias estadísticas con respecto a Sa. Duncan $p < 0.05$.

EXPERIMENTO 4

Entre las muchas conductas modificadas por el GABA, las más estudiadas son las conductas motoras. Uno de los efectos más sobresalientes de la administración sistémica de agentes GABAérgicos es la hipomotilidad, o sedación, como algunos autores prefieren llamar a estados conductuales caracterizados por una reducción en la actividad ambulatoria. La mayoría de los agentes GABAérgicos, administrados sistémicamente deterioran la actividad ambulatoria y la ejecución motora (Paredes, 1992).

La administración de agonistas serotoninérgico que actúan sobre receptores 5HT_{1A} producen una pequeña parte del síndrome conductual serotoninérgico que se manifiesta en un aplanamiento en la postura del cuerpo de los sujetos de experimentación. Rowan, Cullen & Moulton (1990) encontraron que a dosis de 1.0 y 2.0 mg/kg la buspirona no provocaron efecto sobre la actividad motora de los animales, sin embargo con una dosis de 3.0 mg/kg esta droga ocasionó una reducción significativa en la actividad locomotora.

Puesto que en los Experimentos 2 y 3 de este estudio el efecto de los ansiolíticos diazepam y buspirona fue evaluado sobre una tarea de evitación inhibitoria en ensayo múltiple cuando los fármacos se administraron antes del entrenamiento, fue importante detectar si a la dosis empleada (2.0 mg/kg) se presentaban efectos secundarios con estos agentes y descartar la posibilidad de que produjeran alteraciones motoras no específicas que pudieran interferir con la conducta requerida en este procedimiento.

Objetivo:

Determinar el efecto de la administración de 2.0 mg/kg de buspirona y diazepam sobre la actividad motora de horizontal y vertical de ratas.

Procedimiento:

Prueba de actividad motora

Las ratas fueron distribuidas al azar en 3 grupos de 10 sujetos cada uno a los que se les administró por vía intraperitoneal 2.0 mg/kg de diazepam o buspirona. Un grupo adicional recibió solución salina. Veinticinco minutos después de la administración de los tratamientos cada sujeto fue colocado en la caja de actividad motora (descrita en el capítulo 4). El registro de la actividad motora horizontal y vertical de los animales se realizó cada 5 minutos por un periodo de 40 minutos que duró la prueba.

Resultados:

Actividad motora vertical:

Los valores de actividad motora vertical se analizaron estadísticamente empleando un ANOVA mixto de medidas repetidas en un diseño 2(droga)x8(tiempo) y un ANOVA factorial por bloques (3drogaX8tiempoX10repetición) empleando como prueba post-hoc la de Duncan ($p > 0.05$).

En el Cuadro 12 se presenta el valor medio de la actividad motora vertical para cada uno de los tratamientos administrados y en la Fig. 16 la ordenada representa el número de cruzamientos a las fotoceldas y la abscisa cada uno de los intervalos de tiempo en los que fue registró la actividad de los sujetos.

Al analizar los datos con el ANOVA de medidas repetidas no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos pero se observa en la Fig. 16 que la actividad de los animales que recibieron diazepam muestra un comportamiento en forma de U que alcanza valores de actividad altos al principio y al final del experimento. Por lo que los datos se analizaron también con el ANOVA factorial por bloques (3drogaX8tiempoX10repetición). La prueba post-hoc indicó que hubo diferencias significativas entre los grupos cuando se analiza el factor droga $F(2, 207) = 13.47$, $p < 0.0001$. indicando que las diferencias fueron significativas para el grupo de diazepam con respecto al de salina.

En el cuadro 13 se muestran los resultados de actividad motora horizontal y la Fig. 17 muestra la gráfica que se obtiene con estos datos. Cuando los datos se

analizaron estadísticamente con el ANOVA de medidas repetidas las diferencias se presentaron exclusivamente con el factor tiempo $F(7, 189)=9.40, p<0.0001$ y para la interacción tiempoXdroga $F(14, 189)=1.88, p<0.030$.

En la figura 17 se observa que el efecto del diazepam y la buspirona es semejante al que se observa con los animales del grupo de salina. La actividad motora horizontal disminuye conforme transcurre el tiempo debido a la habituación de los sujetos.

Discusión:

Considerando que la tarea de evitación inhibitoria implica el desplazamiento de los sujetos de un compartimento a otro de la cámara de evitación, en este experimento era necesario detectar que las drogas ansiolíticas empleadas no presentaban efecto específicos sobre la actividad motora de los animales.

Los resultados de este experimento muestran que la buspirona no ocasiona interferencia sobre la actividad vertical y horizontal de los sujetos. La administración de diazepam tampoco dificulta la actividad motora horizontal pero sí interfiere con la actividad motora vertical ocasionando que se registren valores altos de actividad al inicio y al final de la evaluación. El comportamiento de esta actividad con respecto al tiempo se describe con una curva en forma de U.

La forma de la curva puede explicarse en función de la acción miorrelajante del diazepam. Esta acción miorrelajante es consecuencia del efecto de la droga a nivel de corteza motora y cerebelosa. El efecto máximo de este fármaco sobre la acción miorrelajante ocurre a la hora de su administración intravenosa (Bowman & Rand, 1985). Las funciones del cerebelo son la de producir cambios en el tono muscular en relación con el equilibrio, locomoción y postura de los sujetos, así como en la coordinación de la fuerza de contracción de los músculos que se emplean durante los movimientos (Kiernan, 1998).

En la Fig. 16 se observa que cuando los animales se introdujeron a la cámara de actividad motora (25 min después de la administración del diazepam) no presentaron problema en su actividad motora vertical, pero conforme transcurrió el tiempo hubo una disminución de ésta. La mínima actividad vertical se registró a los 25 minutos de

ingresar a los animales a la cámara, tiempo en el cual se presenta el máximo efecto miorrelajante del fármaco, fenómeno que rápidamente tendió a desaparecer en los siguientes tiempos de registro. Esto indica que durante el tiempo que se mantuvo una concentración adecuada del ansiolítico, el animal se vio impedido para mantener una posición erguida, o bien ser sostenido sólo por sus extremidades traseras; pero conforme esa concentración disminuía, la actividad vertical se fue recuperando. Un evidente descenso en la actividad motora de las ratas se presentó también a los 25 min de haberlas ingresado en las caja de actividad pero en este caso no se presentaron diferencias significativas con respecto a los grupos de buspirona y diazepam.

Aunque la administración de diazepam tuvo efecto sobre la actividad motora vertical, hay que hacer notar que la tarea de evitación inhibitoria demanda fundamentalmente el desplazamiento de un compartimento a otro de la cámara de evitación y este movimiento se ejecuta sobre las cuatro patas del sujeto. En consecuencia, la prueba de evitación inhibitoria sólo puede ser interferida si los fármacos presentan efecto sobre la actividad motora horizontal.

Nuestros resultados sobre actividad motora horizontal indican que ninguno de los ansiolíticos probados, diazepam y buspirona, interfirieron con esta actividad de los sujetos. Otros estudios también confirman nuestros resultados. La administración de **Bu**, en dosis de 1.0 y 2.0 mg/kg no afectó la actividad exploratoria de los sujetos experimentales (Rowman, Cullen & Moulton, 1990). Tampoco el **Dz** administrado en dosis de 0.5 1.0 y 2.0 mg/kg modificó la actividad motora de ratones (Fernández-Guasti, Hong & López-Rubalcava, 1992; Fernández-Guasti & López-Rubalcava, 1990). Con estas evidencias y los de este experimento podemos asegurar que durante la prueba de evitación inhibitoria en ensayo múltiple, que se requería ejecutaran los animales en los experimentos anteriores, no hubo interferencia por alguna alteración en la actividad motora de los sujetos bajo el efecto de **Dz** y **Bu** en dosis de 2.0 mg/kg.

TRATAMIENTO	ACTIVIDAD MOTORA VERTICAL (número de cruzamientos a las fotoceldas c/5min)									
	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	35 min	40 min		
Sa (NaCl 0.9%)	521	293	175	104	116	90	107	24		
Dz (2.0 mg/kg)	556	458	401	358	302	402	440	472		
Bu (2.0 mg/kg)	300	149	269	180	138	188	100	137		

Cuadro.- 12. Actividad motora vertical después 25 minutos de la administración (i.p.) de diazepam (Dz), buspirona (Bu) o solución salina (Sa). La media del número de interrupciones a las fotoceldas se registró cada 5 min durante los 40 min de la prueba.

TRATAMIENTO	ACTIVIDAD MOTORA HORIZONTAL (número de cruzamientos a las fotoceldas c/5min)									
	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	35 min	40 min		
Sa (NaCl 0.9%)	2302	1499	1162	1013	1083	1071	679	320		
Dz (2.0 mg/kg)	1496	1821	992	694	250	724	576	355		
Bu (2.0 mg/kg)	1581	715	834	868	652	692	848	914		

Cuadro.- 13. Actividad motora horizontal después de 25 minutos de la administración (i.p.) de diazepam (Dz), buspirona (Bu) o solución salina (Sa). La media del número de interrupciones a las fotoceldas se registró cada 5 min durante los 40 min de la prueba.

ACTIVIDAD MOTORA VERTICAL

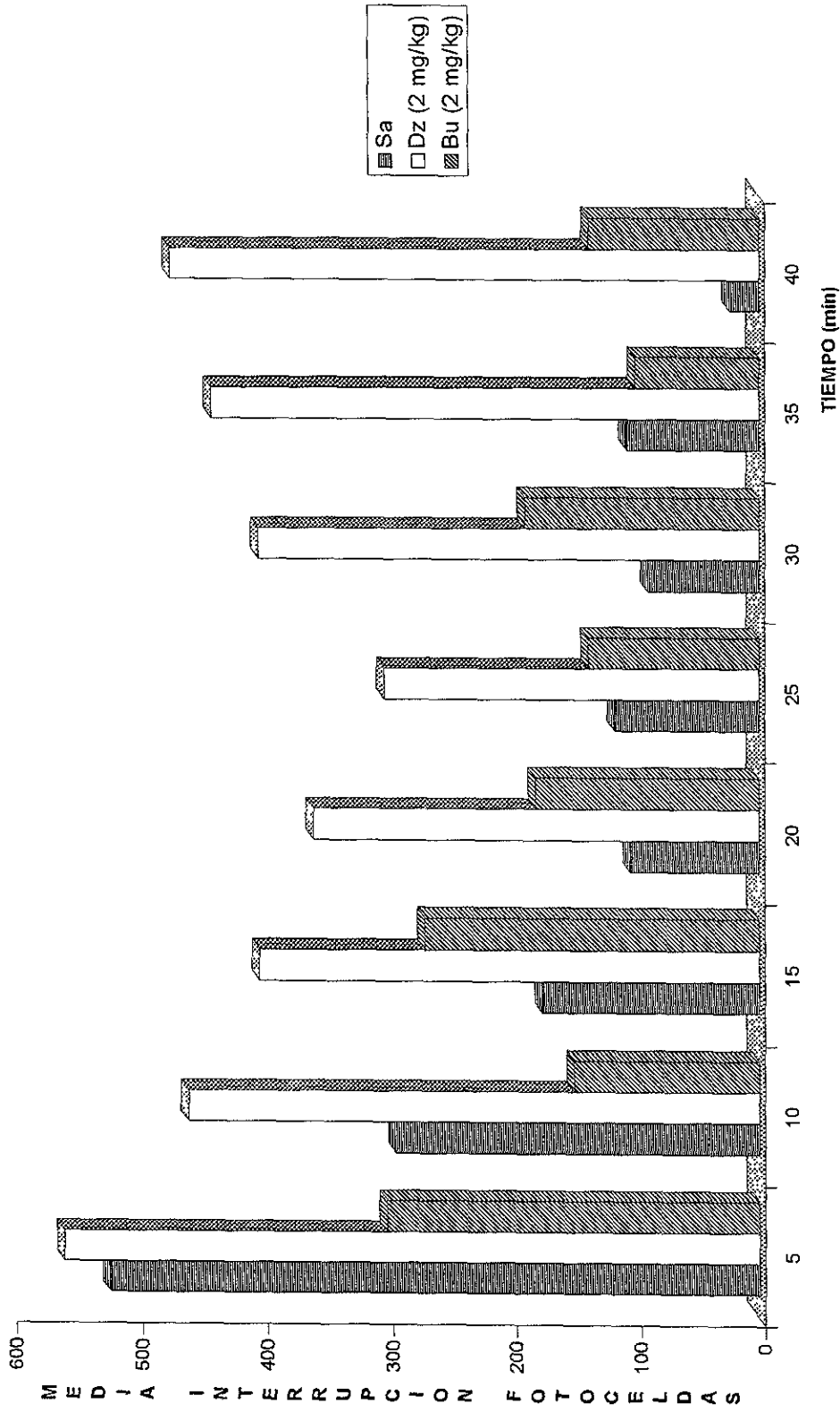


Fig. 16. Actividad motora vertical de ratas (n=10) Vs tiempo. Los valores del eje "y" son la media del número de interrupciones a las fotoceldas. Las diferencias no fueron significativas entre los grupos salina (Sa), diazepam (Dz) y buspirona (Bu) cuando se analizó el factor droga.

ACTIVIDAD MOTORA HORIZONTAL

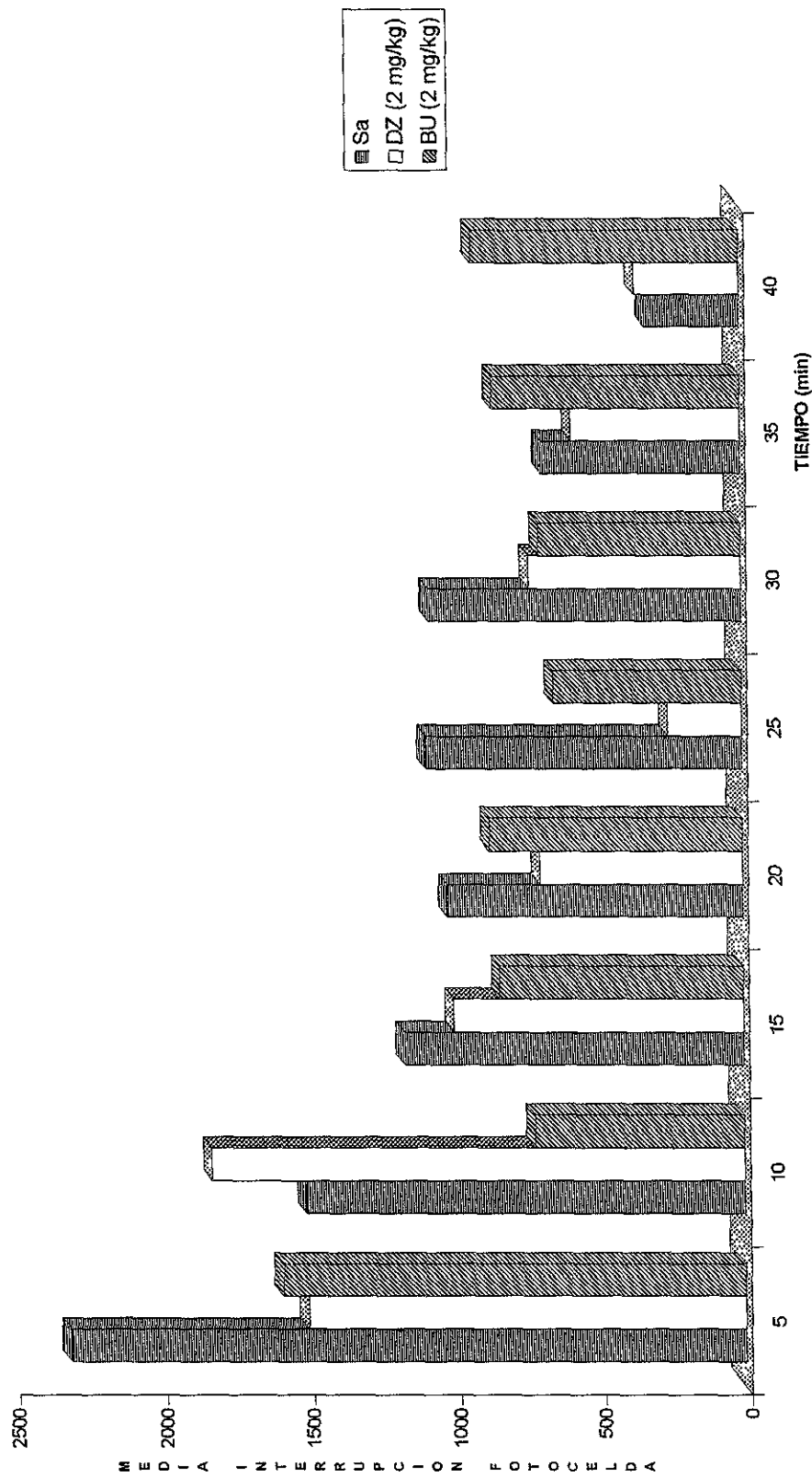


Figura 17. Actividad motora horizontal de ratas (n=10) Vs tiempo. Los valores del eje "y" son la media del número de interrupciones a las fotoceldas. Las diferencias no fueron significativas entre los grupos salina (Sa), diazepam (Dz) y buspirona (Bu) cuando se analizó el factor droga

CAPITULO 6 DISCUSION GENERAL

Puesto que en la literatura se encuentra información cuya evidencia apoya la propuesta que los procesos que subyacen a la memoria/ansiedad se encuentran íntimamente relacionados o traslapados, y otros estudios sugieren que se trata de procesos independientes, en este estudio se señaló la necesidad de proponer investigaciones tendientes a obtener información que permita establecer la participación de los diversos sistemas neuroquímicos y su interacción con los procesos memoria/ansiedad.

Los resultados del experimento 1 de este estudio muestran que bajo un procedimiento de evitación inhibitoria de un ensayo, la administración intraperitoneal del agonista parcial a receptores 5-HT_{1A}, buspirona (2.0 y 4.0 mg/kg), produce deterioro en la memoria retrógrada, y se pudo confirmar que las mismas dosis del agonista GABAérgico, diazepam, no producen tal efecto (Fig. 5). Usando dosis altas de Bu el efecto retrógrado en evitación inhibitoria ya había sido detectado (Wada & Fukuda 1992), también usando tareas de automoldeamiento (Meneses, 1995) y de memoria de trabajo (Bass, Means & McMillen, 1992). Se ha observado que tales efectos retrógrados de **Bu** se ven afectados por variables farmacológicas y conductuales entre las que se encuentran la vía de administración, la dosis, la especie animal, la tarea, la intensidad del choque y la vía de administración entre otras.

La ausencia de efectos retrógrados con la administración de **Dz** y de benzodiazepinas en general, ya había sido señalada en humanos (Ghoneim & Mewaldt, 1975 y 1977; Lister, 1985; Roth, 1984) y en animales (Patel, Ciofalo & Iorio, 1980).

Nuestros resultados experimentales sugieren que los procesos que ocurren subsecuentemente al entrenamiento y que están implicados en el almacenamiento de información, son sensibles a la **Bu** (produce amnesia retrógrada) pero no al **Dz**.

Usando un procedimiento de evitación inhibitoria de un solo ensayo se ha mostrado que **Es** y **Dz** deterioran la memoria anterógrada. Puesto que en estos estudios necesariamente las drogas fueron administradas antes del entrenamiento, el deterioro que estas producen sobre la memoria, pudo deberse a su efecto sobre la adquisición propiamente o también a su efecto sobre la consolidación.

Los resultados de los experimentos 2 y 3 muestran que el modelo de evitación pasiva en ensayo múltiple nos permitió detectar la naturaleza diferente de la amnesia anterógrada producida con el anticolinérgico **Es** y el ansiolítico **Dz**, evidenciando que **Es** impide la adquisición mientras que el **Dz** deteriora la retención.

Por otro lado, bajo este protocolo experimental fue posible observar los efectos facilitatorios de la **Px** y la **Bi**, reportados por el grupo de McGaugh (1988), cuando en el laboratorio no habían sido evidentes con el procedimiento de evitación inhibitoria de un solo ensayo. La facilitación observada con la administración de **Bi** y que estuvo presente a lo largo de su administración consecutiva y la facilitación con **Px** evidente sobre todo en la primera administración, puede explicarse por un lado, con base a los diferentes mecanismos de acción que tienen estos fármacos para antagonizar al GABA; la **Bi** es un antagonista competitivo de receptores GABA_A, mientras que la **Px** bloquea los canales de cloro; y por el otro, a los efectos de la **Bi** sobre el sistema colinérgico. Se ha señalado que **Bi** produce un aumento en la liberación de ACh.

Nuestros resultados también permitieron evidenciar la utilidad del modelo de evitación inhibitoria en ensayo múltiple para dissociar los efectos ansiolíticos de los amnésicos de la **Bu**, cuando este fármaco se administró (2.0 mg/kg i.p.) treinta minutos antes de la sesión de entrenamiento y las dos sesiones de prueba. Sin embargo, no fue posible observar este efecto con la administración de **Dz** puesto que su propiedad ansiolítica quedó oscurecida por el evidente efecto que sobre el aprendizaje y la memoria tiene este fármaco. De alguna manera, estos resultados

concuerdan con los obtenidos por Viana y colaboradores (1994). Los datos que obtuvieron estos investigadores cuando administraron ipsapirona, otro antagonista de receptores 5-HT_{1A} (1.0 y 2.0 mg/kg i.p.), veinticinco minutos antes de colocar a las ratas en un laberinto en T elevado, sugieren que se manifiesta una disociación entre el efecto ansiolítico y el amnésico de esta droga. En contraste cuando evaluaron el efecto del **Dz**, encontraron que únicamente dosis ansiolíticas de este fármaco causan amnesia, concordando estos resultados con otros que previamente ellos habían reportado indicando que las propiedades ansiolíticas y las propiedades amnésicas del **Dz** están ínterrelacionadas (Tomaz, Brandão & García-Carrasco, 1992). En particular, diferentes grupos de investigación han mostrado que los efectos ansiolíticos y los efectos amnésicos de las benzodiazepinas están localizados en el mismo sitio, la amígdala anterolateral/basolateral (Hodges, Green & Glenn, 1987; Scheel-Krüger & Petersen, 1982; Tomaz, Dickinson-Anson & McGaugh, 1992; Tomaz, Dickinson-Anson, McGaugh, Sousa-Silva, Viana & Graeff, 1993).

Se ha reportado la presencia de amnesia anterógrada en ratas por la administración de atropina (anticolinérgico) y clordiazepóxido (agonista GABAérgico) en evitación inhibitoria en ensayo continuo (Waddington & Olley, 1977) y un deterioro en la adquisición inducido por **Es** (Elrod & Buccafusco, 1988) cuando se empleó un procedimiento de ensayos discretos. En nuestro estudio la amnesia anterógrada reportada cuando se administra **Es** fue confirmada. Los datos del primer día en los experimentos 2 y 3 indican que la **Es** deteriora la ejecución de la conducta de evitación en ensayo múltiple interrumpiendo el proceso de adquisición y puesto se trata de una droga anticolinérgica se pone de manifiesto el papel que juega la acetilcolina para el aprendizaje de esta tarea. Por otro lado, la ausencia de deterioro en la ejecución durante la retención (días 2 y 3) a pesar de la administración previa del anticolinérgico, hace evidente que ante el bloqueo colinérgico, otros sistemas neurotransmisores entran en juego responsabilizándose de la ejecución adecuada de la tarea. Por otro lado, que el efecto amnésico característico del anticolinérgico **Es**, tienda a desaparecer al incrementarse el número de ensayos y días de prueba, sugirieren la presencia del

efecto protector del sobre-entrenamiento ya reportado por Cobos-Zapiaín & Prado-Alcalá (1986) y por Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, (1990). Estos autores explican el efecto protector del sobre-entrenamiento señalando que ciertas estructuras cerebrales o sistemas neuroquímicos son necesarios para la consolidación de tareas instrumentales, pero, cuando esas tareas son sobre-entrenadas o sobre-reforzadas, la huella de memoria no es representada por el mismo conjunto de estructuras o sistemas neuroquímicos y concluyen que después de un incremento en la experiencia de aprendizaje, la huella de memoria puede ser ampliamente distribuida en el cerebro (Durán-Arévalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990).

El grupo de **Dz** en día 2 provocó deterioro en la retención para la prueba conductual de evitación inhibitoria de ensayo múltiple, lo que es consistente con lo señalado en la bibliografía (presencia de amnesia anterógrada). En la discusión previa de este trabajo indicamos que se presenta un aprendizaje ligado a estado. Dentro de las evidencias contrarias a la presencia de dependencia de estado producida por **Dz**, se encuentra la de Viana, Tomaz & Graeff (1994), quienes trabajando evitación inhibitoria con laberinto en T indican que no se presentó aprendizaje ligado a estado, argumentando que sus resultados claramente muestran que los animales a los que se les dio una dosis ansiolítica de **Dz** antes del entrenamiento de evitación inhibitoria tuvieron completa amnesia durante la prueba, independientemente de estar bajo el efecto de **Sa** o **Dz**. Sin embargo, ellos sugieren que la evitación inhibitoria es diferente de la aparentemente prueba similar de castigo (conflicto), porque con las prueba de castigo las benzodiazepinas son completamente efectivas en animales sobre-entrenados. Tomando en consideración este último aspecto, y partiendo del hecho que la prueba de evitación inhibitoria de ensayo múltiple tiene un componente de castigo y que a su vez presenta un componente de sobre-entrenamiento, nosotros podemos señalar que estos factores influyen en los resultados sobre dependencia de estado que se plantea en este trabajo. Es importante considerar que varios autores han establecido que las condiciones particulares de las diferentes pruebas

conductuales como son del tipo de tarea a ejecutar, intensidad de choque, dosis empleada, vía de administración, sobre reforzamiento, sobre-entrenamiento, presencia de escape, presencia de castigo etc. facilitaran o impedirán la disociación de las acciones de los fármacos.

Por otro lado ya ha sido señalado por Handley & M^oBlane (1993), que se han incrementado las evidencias para proponer múltiples mecanismos de ansiedad los cuales permiten explicar patrones diferenciales de efectos de drogas dentro y entre modelos. Es decir cada modelo exige que se produzca un tipo determinado de respuesta (evitación, escape, nado, conflicto, etc.) y las características de esta provocarán la estimulación de determinada zona cerebral o participación de sistemas neuroquímicos específicos. Lo que ha llevado a plantear la presencia de diferentes modelos de ansiedad con diferente sensibilidad al efecto de las drogas ansiolíticas.

Son varios los factores a considerar cuando se desea estudiar la ansiedad evaluando el efecto que drogas ansiolíticas o ansiogénicas producen en la conducta de los animales en estudio. Entre algunos de estos factores se encuentran la multitud de variables experimentales que pueden producir patrones de conducta que son sensibles diferencialmente ante la variedad de drogas (por ejemplo si el choque es inevitable, si la respuesta es contingente al choque o si el paradigma permite la evitación del choque, etc.). Todo ello es determinante crítica del tipo de efecto que una droga particular ejerce.

Otros factores como los parámetros de programa, la intensidad y frecuencia del choque, el tipo de reforzador, el contexto en el cual la conducta ocurre, la respuesta conductual en estudio (la tarea) , la especie animal empleada, también son de interés a considerar ya que pueden influir en el tipo y grado de efecto conductual inducido por la droga.

Además de lo señalado arriba, es de interés considerar que fenómenos tan complejos como el aprendizaje/memoria o la ansiedad y/o sus interacciones no pueden ser explicados de una manera simple, pues son múltiples las formas de interacción o interrelación que guardan estos fenómenos en estudio, por lo que se

requerirá aún de un cúmulo de resultados en variados modelos animales; así como el implemento de diversas estrategias metodológicas que permitan que resultados (respuestas conductuales) obtenidos en diversas especies animales, ya sea con administración sistémica o en regiones específicas del cerebro y todo ello permitirá a los investigadores seguir acercándose a una explicación que refleje mejor las complejas interrelaciones que existen entre la ansiedad y el aprendizaje/memoria.

Por otro lado, es evidente que el desarrollo o avance en esta dirección será más sencillo y corto en la medida en que la investigación en esta área del conocimiento se siga desarrollando bajo las dos perspectivas a) considerando que posiblemente la ansiedad y el aprendizaje/memoria son procesos independientes y b) considerando la base cognoscitiva de la ansiedad.

Vale la pena resaltar la importancia de este trabajo como un primer intento que se hace en el laboratorio, como estudio pionero que pretende detectar algunas relaciones entre aprendizaje/memoria y ansiedad bajo un paradigma de amplio uso en estudios hasta el momento, de los procesos mnemónicos. Además, este trabajo permitirá sentar las bases para nuevas investigaciones. en el laboratorio. Los resultados de este estudio proporcionaron información fructífera en el entendimiento de los efectos conductuales que son producidos por la administración de drogas ansiolíticas y ansiogénicas en el paradigma de evitación inhibitoria en ensayo múltiple, modelo que nos permitió diferenciar los efectos de las diversas drogas al mostrarnos un espectro más amplio del perfil conductual de cada una de ellas.

Por lo que se refiere al modelo, considero que los procesos mnemónicos y su relación con la ansiedad debe seguir explorándose bajo la óptica del modelo de evitación inhibitoria por las ventajas que ofrece como técnica confiable y sensible para detectar los efectos de las drogas. Deben agotarse las posibilidades de manejo de variables como el incremento en la intensidad del choque eléctrico, debe evaluarse el efecto de las drogas ansiolíticas sobre el componente de

escape (conducta emocional incondicionada) o determinar el efecto de la administración aguda y crónica de drogas ansiolíticas. También será necesario evaluar bajo este modelo, la participación que los diversos neurotransmisores ejercen directamente o modulando los procesos cognoscitivos y la ansiedad, cuando los fármacos son administrados en regiones específicas del cerebro que se conoce o sospecha están implicadas en estos fenómenos.

Se sugiere entonces emplear el modelo de evitación inhibitoria en sus diversas versiones de ensayo múltiple (discreto y continuo) para obtener información adicional sobre el efecto de los fármacos sobre los procesos de ansiedad, aprendizaje y memoria. Esto no significa que en el laboratorio no se puedan hacer estudios comparativos con los datos obtenidos cuando se empleen otros modelos animales también útiles en la evaluación de drogas ansiolíticas.

CONCLUSIONES

Con base en el análisis y discusión de los resultados obtenidos durante el desarrollo de los diferentes experimentos de esta investigación se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La administración (i.p.) del ansiolítico **Bu** (antagonista parcial de receptores 5-HT_{1A}) administrados inmediatamente después del entrenamiento de una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo, en dosis de 2.0 y 4.0 mg/kg deterioró la ejecución de las ratas.
- El ansiolítico **Dz** (agonista de receptores benzodiazepínicos) en dosis de 2.0 y 4.0 mg/kg no produjo amnesia retrógrada, lo cual indica que los procesos que ocurren subsecuentemente al entrenamiento y que están implicados con los procesos de almacén de memoria a largo plazo, no son sensibles a estas dosis del fármaco.

- La administración pre-entrenamiento de 2mg/kg de **Px** facilitó la tarea de evitación inhibitoria en ensayo múltiple.
- La mejora en la ejecución manifiesta en algunos ensayos, cuando los antagonistas GABAérgicos **Bi** y **Px** se administraron 30 minutos antes de iniciar cada una de las sesiones del experimento 3, sugiere su efecto facilitatorio.
- El procedimiento de evitación inhibitoria de ensayo múltiple permitió detectar que a amnesia anterógrada que producen el **Dz** (2.0 mg/kg) y la **Es** (8,0 mg/kg) es de naturaleza diferente:
 - a) La amnesia anterógrada producida por **Es** es el resultado del deterioro que este agente ejerce sobre la adquisición.
 - b) La amnesia anterógrada producida por **Dz** es el resultado del deterioro que este agente ejerce sobre la retención.
- El incremento en el tiempo de latencia de retención provocado por la pre-administración de **Es** y **Dz** sugieren que el sobre-entrenamiento implicado en la aplicación de ensayo múltiple, tiene un efecto protector ante la amnesia anterógrada.
- El efecto protector del sobre-entrenamiento (implicado en la evitación de ensayo múltiple) ante los efectos amnésicos de **Es** confirma que ante el incremento en la experiencia de aprendizaje, la huella de memoria puede ser ampliamente distribuida en el cerebro.
- La mejora en la ejecución de una tarea de evitación inhibitoria en ensayo múltiple a pesar de la administración continua del antimuscarínico **Es** soporta nuevamente la participación de otros sistemas neurotransmisores ante el bloqueo colinérgico.

- El procedimiento de evitación inhibitoria de ensayo múltiple permitió detectar el efecto ansiolítico de la **Bu** (2 mg/kg). Este efecto no fue observado para **Dz**.
- Puesto que el deterioro en la retención ocurre cuando la prueba se ejecuta bajo un estado de no droga, diferente al estado en que se lleva a cabo el entrenamiento con droga, se sugiere la presencia de aprendizaje ligado a estado para el fármaco **Dz**.
- No se encontró evidencia de aprendizaje ligado a estado con la administración de **Px**, **Bi**, **Bu** y **Es**.
- La administración ip de los ansiolíticos **Dz** (2.0mg/kg) y **Bu** (2.0 mg/kg) no deterioraron la actividad motora horizontal de las ratas, por lo que no hubo interferencia sobre la tarea de evitación inhibitoria.
- A pesar de que el **Dz** afectó la actividad motora vertical este resultado no tuvo influencia en el desarrollo de la prueba de evitación dada la naturaleza de la respuesta que este paradigma requiere.
- El modelo de evitación inhibitoria en ensayo múltiple, permitió la disociación de los efectos ansiolíticos y mnemónicos de la **Bu** y permitió la observación del efecto de los fármacos a lo largo del tiempo.
- Ante las evidencias de diferentes tipos de ansiedad y de diferentes tipos de memorias/aprendizajes, se requiere de una cuidadosa selección del modelo animal para que éste de cuenta de proceso psicobiológico a estudiar.

- Estos datos y los que se obtengan con otros modelos animales permitirán ir estableciendo las múltiples interacciones que existen entre fenómenos tan complejos como el aprendizaje/memoria/ansiedad.
- Esta área de investigación seguirá desarrollándose considerando la perspectiva que posiblemente estos procesos son independientes o bien considerando la base cognoscitiva de la ansiedad.

CAPITULO 7 REFERENCIAS

- Aghajanian, G. K. (1995). Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. En: Bloom, E. F. Kupfer, D. J. (Eds.). Psychopharmacology: the fourth generation of progress, (pp. 451-460). New York: Raven Press.
- Aigner, T. G., Mitchell, S. J., Aggleton, J. P., DeLong, M. R., Struble, R. G., Price, D. L., Wenk, G. L. & Mishkin, M. (1987). Effects of scopolamine and physostigmine on recognition memory in monkeys with ibotenic-acid lesions of the nucleus basalis of Meynert. Psychopharmacology, 92, 292-300.
- Altman, H. J. & Normile, H. J. (1988). What is the nature of the role of the serotonergic nervous system in the learning and memory: Prospects for development of an effective treatment strategy for senile dementia. Neurobiology of Aging, 9, 627-638.
- Altman, H. J., Normille, H. J., Galloway, M. P., Ramírez, A. & Azmitia, E. C. (1990). Enhanced spatial discrimination learning in rats following 5,7-DHT-induced serotonergic deafferentation of the hippocampus. Brain Research, 518, 61-66.
- Ammasari, T. M., Pavone, F., Castellano, C. & McGaugh, J. L. (1991). Amygdala and dorsal hippocampus lesions block the effects of GABAergic drugs on memory storage. Brain Research, 551, 104-109.
- Andrade, R. & Chaput, Y. (1991). 5-hydroxytryptamine₄-like receptors mediate the slow excitatory response to serotonin in the rat hippocampus. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 257, 930-937.
- Andrade, R. & Nicoll, R. A. (1987) Novel anxiolytics discriminate between postsynaptic receptors mediating different physiological responses on single neurons of the rats hippocampus. Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 336, 5-10.
- Atkinson, R. C. & Shiffrin R. M. (1971). The control short-term memory. Scientific American, 25, 82-90.
- Baddeley, A. (1994). Las memorias humanas. Mundo Científico, 14 (150), 802-807.
- Baddeley, D. A. & Hitch, G. (1974). The psychology of learning of motivation. En: Bower, G. H. (Ed.). The psychology of learning and motivation, (Vol. 8). New York: Academic Press.
- Baird, E. S. & Hailey, D. M. (1973). Plasma levels of diazepam and its major metabolite following intramuscular administration. British Journal Anaesthetic 45, 546-547.
- Bammer, G. (1982). Pharmacological investigations of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding: a review and some new results. Neuroscience Biobehavioral Reviews, 6 (3), 247-296.
- Barnes, J. M., Barnes, N. M. & Cooper, S. J. (1992). Behavioral pharmacology of 5-HT₃ receptor ligands. Neuroscience Biobehavioral Reviews, 16, 107-113.
- Kiernan, J. A. (1998). El sistema nervioso humano. Un punto de vista anatómico. México: McGraw-Hill Interamericana.

- Barret, J. E. & Miczek, K. A. (1995). Behavioral techniques in preclinical neuropsychopharmacology research. En: Bloom, E. F. & Kupfer, D. J. (Eds.). Psychopharmacology: The fourth generation of progress, (pp. 65-73). New York: Raven Press.
- Barret, J. E. & Vanover, K. E. (1993). 5-HT receptors as targets for the development of novel anxiolytics drugs: models, mechanisms and future directions. Psychopharmacology, 112, 1-12.
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B. & Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science, 217, 408-417.
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Pontecorvo, M. J. & Flicker, C. (1985). The cholinergic hypothesis: A historical overview, current perspective, and future directions. Annals of New York Academic Science, 444, 332-358.
- Barzilai, A., Kennedy, T. E., Sweatt, J. D. & Kandel, E. R. (1989). 5-HT modulates protein synthesis and the expression of specific proteins during long-term facilitation in aplysia sensory neurons. Neuron, 2, 1577-1586.
- Bass, E. W., Means, L. W. & McMillen, B. A. (1992). Buspirone impair performance of a three-choice working memory water escape task in rats. Brain Research Bulletin, 28, 455-461.
- Beart, P. M. (1984). Basal ganglia transmitters and receptors. En: McKenzie, J. S. Kemm, R. E. and Wilcock, L. N. (Eds.). The basal ganglia: structure and function, (pp. 261-298). New York: Plenum Press.
- Beninger, J. R. (1989). The role of serotonin and dopamine in learning to avoid aversive stimuli. En: Trever-Archer (Ed.). Aversion, avoidance and anxiety, (pp. 265-284). New Jersey: Erlbaum Assoc.
- Bovet, D., McGaugh, J. L. & Oliverio, A. (1966). Effects of posttrial administration on drugs on avoidance learning on mice. Life Sciences, 5, 1309-1315.
- Bowen, D. M., Smith, C. B., White, P. & Davison, A. N. (1976). Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. Brain, 99, 459-496.
- Bower, G. H. & Hilgard, E. R. (1973). Teorías de Aprendizaje. México: Editorial Trillas.
- Bowery, N. G., Hudson, A. L. & Price, G. W. (1987). GABA_A and GABA_B receptor site distribution in the rat nervous system. Neuroscience, 20, 365-383.
- Bowery, N. G., Maguire, J. J. & Pratt, G. D. (1991). Aspects of the molecular pharmacology of GABA_B receptors. Seminars in the Neurosciences, 3 (3), 241-249.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J. (1985). Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. México: Interamericana.
- Breen, R. A. & McGaugh, J. L. (1961). Facilitation of maze learning with post-trial injections of picrotoxin. Journal of Comparative Physiology Psychology, 54, 498-501.
- Breier, A. (1995). Serotonin, schizophrenia and antipsychotic drug action. Schizophrenia Research, 14, 187-202.
- Brennan, M. J. W. (1982). GABA autoreceptors are not coupled to benzodiazepine receptors in rat cerebral cortex. Journal of Neurochemistry, 38, 264-266.

- Briley, M. (1990). Biochemical strategies in the search for cognition enhancers. Pharmacopsychiatry, 23 (Supplement 1), 75-80.
- Brioni, J. D. & McGaugh (1988). Post-training administration of GABAergic antagonists enhances retention of aversively motivated tasks. Psychopharmacology, 96, 505-510.
- Brioni, J. D. (1993). Role of GABA during the multiple consolidation of memory. Drug Development Research, 28, 3-27.
- Brioni, J. D., Nagahara, A. H. & McGaugh (1989). Involvement of the amygdala GABAergic system in the modulation of memory storage. Brain Research, 487, 105-112.
- Bueno, J. A., Sabanes, F., Salvador, L & Gascón, J. (1985). Psicofarmacología Clínica. Mallorca: Salvat Editores.
- Cahill, L. & McGaugh, J. L. (1990). Amygdaloid Complex Lesions differentially affect retention of tasks using appetitive and aversive reinforcement. Behavioral Neuroscience, 104, 532-543.
- Cahill, L., Brioni, J. & Izquierdo, I. (1986). Retrograde memory enhancement by diazepam: Its relation to anterograde amnesia, and some clinical implications. Psychopharmacology, 90, 554-556.
- Carli, M. & Samanin, R. (1992). 8-Hidroxy-2-(di-n-propilamino) tetralin impairs spatial learning in a water maze: role of postsynaptic 5-HT_{1A}. British Journal of Pharmacology, 105, 720-726.
- Carli, M., Luschi, R., Garofalo, P. & Samanin, R. (1995). 8-OH-DPAT impairs spatial but not visual learning in a water maze by stimulating 5-HT_{1A} receptors in the hippocampus. Behavioral Brain Research, 67, 67-74.
- Carlson, N. (1994). Fisiología de la conducta. Barcelona: Editorial Ariel.
- Castellano, C. & McGaugh, J. L. (1989). Retention enhancement with post-training picrotoxin: lack of state dependency. Behavioral and Neural Biology, 51, 165-170.
- Castellano, C. & Pavone, F. (1988). Effects of ethanol on passive avoidance behavior in the mouse: Involvement of GABAergic mechanisms. Pharmacology, Biochemistry & Behavior, 29, 321-324.
- Castellano, C., Cestari, V., Cabib, S. & Puglisi-Allegra, S. (1993). Strain-dependent effects of post-training GABA receptor agonists and antagonists on memory storage in mice. Psychopharmacology, 111, 134-138.
- Cobos-Zapíaín, G. G. & Prado-Alcalá, R. A. (1986). Aplicación de picrotoxina en la sustancia nigra reticulada: efectos sobre la memoria de largo plazo en una tarea sobrentrenada. XXIV Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Guanajuato, Gto. México.
- Cole, S. O. (1986). Effects of benzodiazepines on acquisition and performance: a critical assessment. Neuroscience Biobehavioral Reviews, 10, 265-272.
- Conde, C. A., Costa, V. & Tomaz, C. (1999). Measuring emotional memory in the elevated T-maze using a training-to-criterion procedure. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 63 (1), 63-69.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth, R. H. (1996). The biochemical basis of neuropharmacology. New York: Oxford University Press.

- Costall, B. & Naylor, R. J. (1992). The psychopharmacology of 5-HT₃ receptors. Pharmacology and Toxicology, 71, 401-415.
- Cruz-Morales, S. E., Durán-Arévalo, M., Díaz del Guante, M. A., Quirarte, L. G. & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against Scopolamine-Induced Amnesia. Behavioral Neurology Biology, 57, 256-259.
- Cruz-Morales, S. E. (1992). Interacción de los sistemas colinérgico y GABAérgico en la consolidación de una respuesta de evitación inhibitoria. Tesis doctoral. Facultad de Medicina UNAM, México.
- Cruz-Morales, S. E., Quirarte, G. L., Diaz del Guante M. A. & Prado-Alcalá, R. A. (1993). Effects of GABA antagonists on inhibitory avoidance. Life Sciences, 53, 1325-1330.
- Curtis, D. R. & Johnston, G. A. R. (1974) Amino acids transmitters in the mammalian central nervous system. Ergebn. Physiology, 69, 97-188.
- Chance, P. (1995). Aprendizaje y Conducta. México: Manual Moderno.
- Chaouloff, F. (1993). Physiopharmacological interaction between stress hormones and central serotonergic systems. Brain Research Reviews, 18, 1-32.
- Chaput, Y., de Montigny, C. & Blier, P. (1991). Presynaptic and postsynaptic modifications of the serotonin system by long-term administration of antidepressant treatments. Neuropsychopharmacology, 5, 219-129.
- Chopin, P. & Briley, M. (1987). Animals models of anxiety: the effect of compounds that modify 5-HT neurotransmission. TIPS, 8, 383-388.
- Da Cunha, C., Huang, C. H., Walz, R., Dias, M., Koya, R., Bianchin, M., Pereira, M. E., Izquierdo, I. & Medina, J. H. (1991). Memory facilitation by post-training intraperitoneal, intracerebral and intra-amygdala injection of Ro 5-4864. Brain Research, 544, 133-136.
- Danysz, W. & Archer, T. (1994). Glutamate, learning and dementia-selection of evidence. Amino Acids, 7, 147-163.
- Davies, P. & Maloney A. J. F. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. Lancet, 2, 1403.
- Decker, M. W., Tran, T. & McGaugh, J. (1990). A comparison of the effects of scopolamine and diazepam on acquisition and retention of inhibitory avoidance in mice. Psychopharmacology, 100, 515-521.
- Decker, M. W. & McGaugh, J. L. (1991). The roll of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory system in learning and memory. Synapse, 7, 151-168.
- Dewar, D., Graham, D. I. & McCulloch, J. (1990), 5-HT₂ receptors in dementia of the Alzheimer's type a quantitative autoradiographic study of frontal cortex and hippocampus. Journal of Neural Transmission, (P-D Sect.) 2, 129-137.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3d ed. revised (1987). Washington, D C: The American Psychiatry Association.
- Dourish, C. T. (1987). Brain 5-HT_{1A} receptors and anxiety. En: Dourish, C. T., Ahlenius, S. & Hutson, P. H. (Eds.). Brain 5-HT_{1A}: behavioral and neurochemical pharmacology (pp. 261-177). Chichester: Ellis Horwood.

- Duka, T., Stephehns, D. N., Krause, W. & Dorow, R. (1987). Human studies on the benzodiazepine receptor antagonist β -carboline ZK 93426: preliminary observations on psychotropic activity. Psychopharmacology, 93, 421-427.
- Durán-Arévalo, M., Cruz-Morales, S. E. & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Is Acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning?. Brain Research Bulletin, 24, 725-727.
- Ehlert, F. J., Roeske, W. R. & Yamamura, H. I. (1994). Muscarinic receptors and novel strategies for the treatment of age-related brain disorders. Life Sciences, 55, 2135-2145.
- Eison, A. S. & Eison, M. S. (1994). Serotonergic mechanisms in anxiety. Progress Neuro-Psychopharmacology Biology and Psychiatry, 18, 47-62.
- Elrod, K. & Buccafusco, J. J. (1988). An evaluation of mechanisms of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 29, 15-21.
- Evenden, J. L. & Angeby, K. (1990). Effects of 8-hidroxy-2-(di-n-propilamino)-tetralin (8-OH-DPAT) on locomotor activity and rearing of mice and rats. Psychopharmacology, 102, 485-491.
- Fang, J. C., Hinrichs, J. V. & Ghoneim, M. M. (1987). Diazepam and memory: Evidence for spared memory function. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 28, 347-352.
- Fibiger, H. C. (1991). Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review recent evidence. Trends in Neurosciences, 14, 220-223.
- Fletcher, A., Cliffe, I. A. & Dourish, C. T. (1993). Silent 5-HT_{1A} receptor antagonists: utility as research tools and therapeutic agents. Tips, 14, 441-448.
- Flicker C., Dean, R. L., Watkins, D. L., Fisher, S. K. & Bartus, R. T. (1983). Behavioral and neurochemical effects following neurotoxic lesions of a major cholinergic input to the cerebral cortex in the rat. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 18, 973-981.
- Frazer, A. Maayani, S. & Wolfe, B. B. (1990). Subtypes of receptors for serotonin. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 30, 307-348.
- Fuller, R. W., Wong, D. T. & Robertson, D. W. (1991). Fluoxetine, a selective inhibitor of serotonin uptake. Medicinal Research Reviews, 11, 17-34.
- Fuxe, K., Agnati, L. F., Ögren, S. O., Anderson, K. & Benfenati, F. (1983). Neurobiology of central monoamine neurotransmission: functional neuroanatomy and noradrenaline and 5-hydroxytryptamine involvement in learning and memory. En: Caputto, R. & Ajmone Marsan, C. (Eds.). Neural transmission, learning and memory, (pp. 237-255). New York: Raven Press.
- Ganong, W. F. (1974). Manual de Fisiología Médica. México: El Manual Moderno.
- García-Saldivar, N. L. & Cruz-Morales, S. E. (1997). Efecto de drogas GABAérgicas sobre la consolidación de la memoria en condiciones de bajo reforzamiento. XL Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Morelia, Mich. México.
- Ghoneim, M. M. & Mewaldt, S. P. (1975). Effects of diazepam and scopolamine on storage, retrieval and organizational processes in memory. Psychopharmacology, 44, 257-262.

- Ghoneim, M. M. & Mewaldt, S. P. (1977). Studies on human memory: the interactions of diazepam, scopolamine, and physostigmine. Psychopharmacology, 2, 1-6.
- Ghoneim, M. M., Hinrichs, J. V. & Mewaldt, S. P. (1984). Dose-response analysis of the behavioral effects of diazepam. Learning and memory. Psychopharmacology, 17, 165-170.
- Gilman, S. & Newman, S. W. (1989). Principios de Neuroanatomía y Neurofisiología. Clínicas de Manter & Gatz. México: El Manual Moderno.
- Giordano, M., & Prado-Alcalá, A. R. (1986). Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effects of the negative reinforcer. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 24, 905-909.
- Glennon, R. A. & Ducat, M. (1991). Serotonin receptor subtypes. En: Bloom, E. F. Kupfer, D. J. (Eds.). Psychopharmacology: The fourth generation of progress (pp. 415-429). New York: Raven Press.
- Gold, E. P. (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. Behavioral Neurology and Biology, 46, 87-98.
- Gower, A. J. (1992). 5-HT receptors and cognitive function. En: Marsden, C. A. & Heal D. J. (Eds.). Central serotonin receptors and psychotropic drugs (pp. 239-259). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Graeff, F. G. (1988). Animal models of aversion. En: Simon, P., Soubrié, P. & Wildocher, D. (Eds.). Animals models of psychiatric disorder (pp. 115-141). Basel: Karger.
- Gray, J. A. (1982). The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hipocampal system. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Green, S. & Hodges, H. (1991). Animal models of anxiety. En: Willner, P. (Ed.). Behavioural models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives (pp. 17-49). Cambridge: University Press.
- Guyton, A. C. (1992). Tratado de Fisiología Médica. México: Interamericana/Mc. Graw-Hill.
- Haefely, W. (1985). The biological basis of benzodiazepine actions. En: Smith, D. E. & Wesson, D. R. (Eds.). Benzodiazepine: current standards for medical practice (pp. 7-41). Lancaster: MTP Press.
- Hallanger, A. E. & Wainer, B. H. (1988). Ascending Projections from the pedunculo-pontine tegmental nucleus and the adjacent mesopontine tegmentum in the rat. Journal of Comparative Neurology, 274, 483-515.
- Hamon, M. (1994). Neuropharmacology of anxiety: perspectives and prospects. TIPS, 15, 36-39.
- Handley, S. L. & M^oBlane, J. W. (1993a). 5-HT drugs in animal models of anxiety. Psychopharmacology, 112, 13-20.
- Handley, S. L. & M^oBlane, J. W. (1993b). An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs. Journal of Pharmacology and Toxicology Methods, 29, 129-138.
- Hemsworth, B. A. & Neal, M. J. (1968). The effect of central stimulant drugs on acetylcholine release from rat cerebral cortex. Brain Journal of Pharmacology, 34, 543-550.

- Hinde, R. A. (1966). Animal behavior: A synthesis of ethology and comparative psychology. New York: McGraw Hill.
- Hock, F. J. (1995). Therapeutic approaches for memory impairments. Behavioral Brain Research, 66, 143-150.
- Hodges, H. & Green, S. (1986). Effects of chlordiazepoxide on cued radial maze performance in rats. Psychopharmacology, 88, 460-466.
- Hodges, H., Green, S. & Glenn, B. (1987). Evidence that the amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not in discrimination. Psychopharmacology, (Berlin) 92, 491-504.
- Honig, K. W. (1978). Studies of working memory in the pigeon. En: Hulse, H. S. Fowler, H. & Honig, K. W. (Eds.). Cognitive process in animal behavior (211-220). New Jersey: Erlbaum Assoc.
- Hoover, D. B. & Jacobowitz, D. M. (1979). Neurochemical and histochemical studies of the effect of a lesion of the nucleus cuneiformis on the cholinergic innervation of discrete areas of the rat brain. Brain Research, 170, 113-122.
- Houser, V. P. (1978). The effects of drugs on behavior controlled by aversive stimuli. En: Blackman, D. E. & Sanger, D. J. (Eds.). Contemporary research in behavioral pharmacology. New York: Plenum Press.
- Hoyer, D. (1990). Serotonin 5-HT₃, 5-HT₄, and 5-HT-M receptors. Neuropsychopharmacology, 3, 371-383.
- Hoyer, D., Hartig, P. R. & Humphrey, P. P. A. (1994). International union of Pharmacology classification for 5-hydroxytryptamine (serotonin). Pharmacology Review, 347 46, 157-203.
- Hulme, E. C., Birdsall, N. J. M. & Buckley, N. J. (1990). Muscarinic receptor subtypes. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 30, 633-673.
- Irie, E. & Markowitsch, H. J. (1987). Basal forebrain-lesioned monkeys are severely impaired in tasks of association and recognition memory. Annals of Neurology, 22, 735-743.
- Izquierdo, I., Da Cunha, C., Huang, C. H., Waz, R., Wolfman, C. & Medina, J. H. (1990). Posttraining down-regulation of memory consolidation by a GABA-A mechanism in the amygdala modulated by endogenous benzodiazepine. Behavioral Neural Biology, 54, 105-109.
- Jacobs, B. R. & Azmitia, E. C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. Physiological Review, 72, 165-229.
- Jensen, R. A., Martínez, J. L. Jr., Vásquez, B. J. & McGaugh, J. L. (1979). Benzodiazepines alter acquisition and retention of and inhibitory avoidance response in mice. Psychopharmacology, 64, 125-126.
- Johnston, M. V., Mckinney, M. & Coyle, J. T. (1981). Neocortical cholinergic innervation: A description of extrinsic and intrinsic components in the rat. Experimental Brain Research, 43, 159-172.
- Julius, D. (1991). Molecular biology of serotonin receptors. Annual Review of Neuroscience, 14, 335-360.
- Kalsner, S. (1990). Heteroreceptors, autoreceptors, and other terminals sites. En: Kalsner, S. Westfall T. C. (Eds.). Presynaptic receptors and question of

- autoregulation of neurotransmitter release. New York: Annals Academic Science. 604, 1-6.
- Kant, G. L. Wylie, R. M., Chu, K. & Ghosh, S. (1998). Effects of the serotonin agonists 8-OH-DPAT, buspirone, and DOI on water maze performance. Pharmacology Biochemistry and Biobehavior, 59 (3), 729-735.
- Kimble, G. A. (1969). Condicionamiento y Aprendizaje. México: Trillas.
- Klein S. B. (1994). Aprendizaje principios y aplicaciones. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana.
- Kovács, G. L. & De Wied, D. (1994). Peptidergic modulation of learning and memory processes. Pharmacological Review, 46, 269-291.
- Lal, H., Kumar, B. & Foster, M. J. (1988). Enhancement of learning and memory in mice by benzodiazepine antagonist. FASEB Journal, 2, 2707-2711.
- LeDoux, P. (1993). Emotional memory: in search of systems and synapses. Brain mechanism. Annals New York Academy Science, 17, 149-157.
- Lewis, D. J. & Bregman, N. J. (1972) The cholinergic system, amnesia and memory. Physiology Behavior, 8, 511-514.
- Lewis, P. R., Shute, C. C. D. & Silver, A. (1967). The cholinergic limbic system: Projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system, and the subcortical organ and supra-optic crest. Brain, 90, 521-540.
- Lindsay, P. H. & Norman, D. A. (1972). Human information processing. New York: Academic Press.
- Lister, T. (1985). The amnesic action of benzodiazepines in man. Neuroscience Biobehavioral Reviews, 9, 87-94.
- Lucki, I. & Wieland, S. (1990). 5-Hydroxytryptamine_{1A} receptors and behavioral responses. Neuropsychopharmacology, 3, 481-493.
- Lummis, S. C. R. (1990) GABA receptors in insects. Comparative Biochemistry Physiology, 9, 1-8.
- MacDonal, R. L. & Twyman, R. E. (1991) Biophysical properties and regulation of GABA_A receptor channels. Seminars in Neurosciences, 3 (3), 219-230.
- Markowitsch, H. J., Kessler, J. & Streicher, M. (1985). Consequences of serial cortical, hippocampal, and thalamic lesions and of different lengths of overtraining on the acquisition and retention of learning tasks. Behavioral Neuroscience, 99, 233-256.
- McEntee, W. J. & Cook, T. H. (1991). Serotonin, memory, and the aging brain. Psychopharmacology, 103, 143-149.
- McGaugh, J. L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. Science, 153, 1351-1358.
- McGaugh, J. L. (1973). Drug facilitation of learning and memory. Annual Review of Pharmacology, 13, 229-241.
- McGaugh, J. L. (1989a). Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. Annual Review of Neuroscience, 12, 255-287.
- McGaugh, J. L. (1989b). Dissociating learning and performance: drug and hormones enhancement of memory storage. Brain Research Bulletin, 23, 339.

- McGaugh, J. L., Castellano, C. & Brioni, J. (1990). Picrotoxin enhances latent extinction of conditioned fear. Behavioral Neuroscience, 104, 264-267.
- McNamara, R. K. & Skeleton, R. W. (1993). Effects of intracranial infusions of clordiazepoxide on spatial learning in the Morris water maze. Neuroanatomical specificity. Behavioral Brain Research, 59 (1-2), 175-191.
- McNaughton, N. & Morris, R. G. M. (1987). Chlordiazepoxide, and anxiolytic benzodiazepine, impairs place navigation in rats. Behavioral Brain Research, 24, 39-46.
- Mednick, S. A. (1992). Aprendizaje. México: Uteha/Noriega Editores.
- Meneses, A. & Hong, E. (1993). Modification of the anxiolytic effects of 5-HT_{1A} agonists by shock intensity. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 46, 569-573.
- Meneses, H. A. (1995). Función de los receptores serotoninérgicos en el aprendizaje y la memoria. Tesis Doctorado U. N. A. M. UACPyP.
- Mewaldt, S. P., Hindrichs, J. V. & Ghoneim, M. M. (1983). Diazepam and memory: evidence for a memory transfer hypothesis. Memory Cognitive, 11, 557-564.
- Meyers, B. (1965). Some effects of scopolamine on passive avoidance response in rats. Psychopharmacología, 8, 11-119.
- Müller, G. E. & Pilzecker, A. (1990). Experimentelle beiträge zur lehre vom gedachtnis. Zeitschrift fur Psychology, 1, 1-288.
- Murray, C. L. & Fibiger, H. C. (1986) Pilocarpine and physostigmine attenuate spatial memory impairments produced by lesions of the nucleus basalis magnocellularis. Behavioral Neuroscience, 100, 23-32.
- Nabeshima, T., Noda, Y. & Kameyama, T. (1988). GABAergic modulation of memory with regard to passive avoidance and conditioned suppression tasks in mice. Psychopharmacology, 94, 69-73.
- Nabeshima, T., Noda, Y., Ito, K. & Kameyama, T. (1988). Role of cholinergic, and GABAergic neural systems in cycloheximide induced amnesic in mice. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 31, 405-409.
- Nakagawa, Y., Iwasaky, T., Ishima, T. & kimura, K. (1993). Interaction between benzodiazepine and GABA_A receptors in state-dependent learning. Life Science, 52, 1935-1945.
- Nazar, M., Siemiatkowski, M., Cztonkowska, A., Sienkiewics-Jarosz, H. & Ptzaznik, A. (1999). The role of the hippocampus and 5-HT/GABA in the central effects of benzodiazepine receptor ligands. Journal of Neural Transmission, 106, 369-381.
- Neisser, U. (1967). Cognitive psychology. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Nicoll, E., Malenka, F. C. & Kauer, J. A. (1990). Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. Physiological Reviews, 70 (2), 513-565.
- Nissen, M. J., Knopman, D. S. & Schacter, D. L. (1987). Neurochemical dissociation of memory systems. Neurology, 37, 787-794.
- Norman, D. A. (1973). El procesamiento de información en el hombre. Buenos Aires: Editorial Paidós.

- O'Donnell, P. & Pazo, J. H. (1994). Bases biológicas de la generación y transmisión del impulso nervioso. En: Houssay, B. A. Fisiología humana (Tomo 4). Buenos Aires: Ed. El Ateneo.
- Ögren, S. O. (1982). Central serotonin neurons and learning in the rat. En: Osborne N. N. (Ed.). Biology and serotonergic transmission, (pp. 317-334). New York: John Wiley & Sons.
- Ögren, S. O., Johanson C. & Magnusson O. (1985). Forebrain serotonergic involvement in avoidance learning. Neuroscience Letters, 58, 305-309.
- Olton, D. S. & Wenk, L. (1990). The development of behavioral tests to assess the effects of cognitive enhancers. Pharmacopsychiatry, 23 (Suppl), 65-69.
- Overstreet, D. H. (1984). Behavioral plasticity and the cholinergic system. Progress in Neuropsychopharmacology Biology and Psychiatry, 8, 133-151.
- Overton, D. A. (1964). State dependent or "dissociated" learning produced with pentobarbital. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 57, 3-12.
- Paredes, R. G. & Agmo, A. (1992). GABA and behavior: The role of receptor subtypes. Neuroscience Behavioral Reviews, 16, 145-170.
- Parent, M. B., Quirarte, G. L. & McGaugh, J. L. (1993). Inhibitory avoidance retention impairment produced by postraining amygdala lesions: Effects of variations in foot shock intensity: Trabajo presentado en el Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Acapulco, México.
- Parent, M. B., Tomaz, C. & McGaugh, J. L. (1992). Increased training in an aversively motivated task attenuates the memory impairing effects of postraining N-Metil-D-Aspartate-induced amygdala lesions. Behavioral Neuroscience, 106, 789-797.
- Patel, J. B., Ciofalo, V. B. & Iorio, L. C. (1979). Benzodiazepine blockade of passive-avoidance task in mice: A state-dependent phenomenon. Psychopharmacology, 61, 25-28.
- Pavlov, I. (1927) Conditioned reflexes. Oxford: University Press.
- Pérez-Ruiz, C. & Prado-Alcalá, R. A. (1989). Retrograde amnesia induced by lidocaine injection into the striatum: protective effect of the negative reinforced. Brain Research Bulletin, 22, 599-603.
- Peterson, R. C. & Ghoneim, M. M. (1980). Diazepam and human memory: influence on acquisition, retrieval, and state-dependent learning. Progress in Neuro-Psychopharmacology, 4, 81-89.
- Postman, L. & Keepele, G. (1970). Verbal learning and memory. England: Penguin Books.
- Postman, L. & Underwood, B. J. (1973). Critical issues in interference theory. Memory Cognitive 1, 19-40.
- Prado-Alcalá R. A. & Cobos-Zapíaín G. G. (1979). Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. Neuroscience Letters, 14, 253-258.
- Prado-Alcalá R. A., Cruz-Morales, S. E. & López-Miró, F. A. (1980). Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. Neuroscience Letters, 18, 339-345.

- Prado-Alcalá R. A., Signorel, L. & Figueroa, M. (1981). Time-dependent retention deficit induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 15, 633-636.
- Prado-Alcalá, R. A. & Cobos-Zapíaín, G. G. (1977). Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. Brain Research, 138, 190-197.
- Prado-Alcalá, R. A. (1985). Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory? Life Sciences, 37, 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R. A. (1991). Fisiología del aprendizaje y la memoria. En: Ninomiya, J. G. (Ed.). Fisiología humana: Neurofisiología (pp. 492-507). México: El Manual Moderno.
- Prado-Alcalá, R. A. (1995). Serial and parallel processing during memory consolidation. En: McGaugh, J. L. Bermudez-Rattoni, F. Prado-Alcalá, R. A. (Eds). Plasticity in the central nervous system learning and memory (pp. 57-65). New Jersey: Erlbaum Assoc.
- Prado-Alcalá, R. A., Kaufmann, P. & Moscona, R. (1980). Scopolamine and KCl injections into the caudate-putamen. Overtraining-induced protection against deficits of learning. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 12, 249-253.
- Pranzatelli, M. R. (1994). Serotonin and human myoclonus: rationale for the use of serotonin receptor agonists and antagonists. Archives of Neurology, 51, 605-617.
- Przegalinski, E., Tatarczynska, E., Klodzinka, A. & ChojnackaWojcik, E. (1994). The role of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors in the anticonflict effect of ipsapirone. Neuropharmacology, 33, 1109-1115.
- Quatermain, D. & Jung, H. (1989). Persistence of retrieval enhancement by amphetamine following scopolamine-induced amnesia. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 33, 51-54.
- Quatermain, D. (1983). The role of catecholamines in memory processing. En: Deutch, A. J. (Ed.). The physiological basis of memory (pp. 387-423). New York: Academic Press, Inc.
- Quirarte, L. G., Cruz-Morales, S. E., Díaz del Guante M. A., García, M. & Prado-Alcalá, R. A. (1993). Protective effects on under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. Brain Research Bulletin, 32, 521-524.
- Rao, V. S. N., Santos, F. A., Paula, W. G. & Silva R. M. (1999). Effects of acute and repeated dose administration of caffeine and pentoxifilline on diazepam-induced mouse behavior in the hole-board test. Psychopharmacology, 144, 61-66.
- Reese, H., & Lipsitt, L. P. (1975). Psicología experimental infantil. Editorial Trillas, México.
- Reynolds, G. S. (1973). Compendio de condicionamiento operante. México: Editorial Ciencia de la Conducta.
- Rossor, M. N., Garret, N. J. Johnson, A. L., Mountjoy, C. Q., Roth, M. & Iversen, L. L. (1982). A post-mortem study of the cholinergic and GABA systems in senile dementia Brain, 105, 313-330.

- Rowman, M. J. & Anwyl, R. (1986). Neurophysiological effects of buspirone and isapirone in the hippocampus: comparison with 5-hydroxytryptamine. European Journal of Pharmacology, 132, 93-96.
- Rowman, M. J., Cullen, W. K. & Moulton, B. (1990). Buspirone impairment of performance of passive avoidance and spatial learning tasks in the rat. Psychopharmacology, 100, 393-398.
- Sanger, D. J. & Joly, D. (1985). Anxiolytic drugs and the acquisition of conditioned fear in mice. Psychopharmacology, 85, 284-288.
- Satelle, D. B. (1990) GABA receptors of insects. Advances in insect physiology (pp. 1-111). New York: Academic Press.
- Scott, P. A, Tang, H. & Frazer, A. (1994). Differential induction of 5-HT_{1A} mediated responses in vivo by three chemically dissimilar 5-HT_{1A}. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 270, 198-208.
- Scheel-Krüger, J. & Petersen, E. N. (1982). Anticonflict effect of benzodiazepines mediated by a GABAergic mechanism in the amigdala. European Journal of Pharmacology, 82, 115-116.
- Schweitzer & Rickels, (1991). Serotonergic anxiolytics: a review of their clinical efficacy. En Rodgers, R. J. & Cooper, S. J. (Eds.). 5-HT_{1A} agonists, 5-HT₃ antagonists and benzodiazepines: Their comparative behavioural pharmacology (pp. 365-376). Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Schröder, H. (1993) Cellular and subcellular distribution of receptors in the entorhinal-hippocampal system: Morphologic and biochemical aspects. Hippocampus, 3 (Special issue), 139-148.
- Schulties, G. & Martínez, J. L. (1992). Peripheral modulation of learning and memory: enkephalines as a model system. Psychopharmacology, 109, 347-364.
- Secundino, V. I., López, C. Y. & Cruz-Morales, S. E. (1996). Evaluación del sistema colinérgico y GABAérgico en la fase de adquisición de la memoria, bajo un entrenamiento en evitación inhibitoria. XXXIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue. México.
- Seiden, L. S. & Dycstra, L. A. (1979). Psychopharmacology: a biochemical and behavioral approach. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Silvilotti, L. & Nistri, A. (1991). GABA receptor mechanisms in the central nervous system. Progress in Neurobiology, 36, 35-92.
- Skinner, B. F. (1938). The behavior of organism: An experimental analysis. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Skinner, B. F. (1953). Science and human behavior. New York: MacMillan.
- Solana-Figueroa, R. & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Retrograde amnesia produced by intrastriatal atropine and its reversal by choline. Life Sciences, 46, 679-686.
- Sommermeier, H., Scheuber, R., Greuel, J. M., De Vry, J. & Glaser, T. (1993). Anxiolytic effects of the 5-HT_{1A} receptor agonists ipsapirone in the rat: neurobiological correlates. European Journal of Pharmacology, 240, 29-37.
- Sperling, A. D. (1963). A model for visual memory task. Human Factors, 5, 19-31.
- Sperling, A. D. (1964). Psicología simplificada. México: Compañía General de Ediciones.

- Squire, R. L. & Davis, P. H. (1981). The pharmacology of memory: a neurobiological perspectiva. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 21, 323-356.
- Squire, R. L. (1986). Mechanisms of memory. Science, 232, 1612-1919.
- Squire, R. L. (1987). Memory and brain. Oxford: University Press.
- Thatcher, R. W. & Kimble, D. P. (1966). Effect of amygdaloid lesions on retention of an avoidance response in overtrained and non-overtrained rats. Psychonomic Science, 6, 9-10.
- Thiebot, M. H. (1985). Some evidence for amnesic-like effects of benzodiazepines in animals. Neurosciences Biobehavioral Reviews, 9, 95-100.
- Tomaz, C., Brandão, M. L. & Garcia-Carrasco, N. (1992). Overlapping neural substrates underlying defense reactions, aversive memory, and convulsive behavior. En: Butcher, L. L. Decker, M. & Lewin, E. (Eds.). Neurotransmitters interactions and cognitive function. (pp. 240-256). Cambridge: Birkhäuser Boston.
- Tomaz, C., Dickinson-Anson, H. & McGaugh, J. L (1991). Amygdala lesions block the amnesic effects of diazepam Brain Research, 568, 85-91.
- Tomaz, C., Dickinson-Anson, H. & McGaugh, J. L (1992). Basolateral amygdala lesions block diazepam-induced anterograde amnesia in an inhibitory avoidance task. Proceedings National Academy of Sciences, 89, 3615-3619.
- Tomaz, C., Dickinson-Anson, H., McGaugh, J. L., Souza-Silva, M. A., Viana, M. B. & Graeff, F. G. (1993). Localization in the amygdala of the amnesic action of diazepam on emotional memory. Behavioral Brain Research, 58, 99-105.
- Traber, J. & Glaser, T. (1987). 5-HT_{1A} receptor-related anxiolytic. TIPS, 8, 432-437.
- Treit, D. (1985). Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review Neuroscience Biobehavioral Reviews, 9, 203-222.
- Tsuda, A. Ida, Y. & Tanaka, M. (1988). The contrasting effects of diazepam and yohimbine on conditioned defensive burying in rats. Psychobiology, 6, 213-217.
- Tulvin, E. (1972). Episodic and semantic memory . En Tulvin, E. & Donaldson (Eds.). Organization of memory. (pp. 318-403). New York: Academic.
- Uriarte, B. V. (1988). Neuro Psicofarmacología. México: Ed. Trillas.
- VanderMaelen, C. P., Wilderman, R. C. & Gehlbach, G. (1991). Electrophysiological studies of the effects of buspirone on serotonergic neurons. En: Buspirone mechanisms and clinical aspects. (pp. 215-230). New York: Academic Press.
- Veca, A. & Dreisbach, J. H. (1988). Classical neurotransmitters and their significance within the nervous system. Journal of Chemistry Education, 65 (2), 108-111.
- Venault, P., Chapouthier, G., Prado de Carvalho, L., Simiand, J., Morre, M., Dodd, R. H. & Rossier, J. (1986). Benzodiazepine impairs and β -carboline enhances performance in learning and memory tasks. Nature, 321, 864-866.
- Viana, M. B., Tomaz, C. & Graeff, F. G. (1994). The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 49, 549-554.
- Wada T. & Fukuda N. (1992). Effect of a new anxiolytic, DN-2327, on learning and memory in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 41, 573-579.

- Waddington, J. L. & Olley, J. E. (1977). Dissociation of the anti-punishment activities of clordiazepoxide and atropine using two heterogenous passive avoidance tasks. Psychopharmacology, 52, 93-96.
- Wallin, A. & Gootffries, C. G. (1990). Biochemical substrates in normal aging and Alzheimer's disease. Pharmacopsychiatry, 23, 37-43.
- Wallis, D. I. (1994). 5-HT receptor involved in initiation or modulation of motor patterns: opportunities for drug development. TIPS, 15, 288-292.
- Warburton, D. M. & Wenses, K. (1984). Drugs as research tools in psychobiology: cholinergic drugs and information processing. Neuropsychobiology, 11, 121-132.
- Wilkinson, L. O. & Dourish, C. T. (1991). Serotonin and animal behavior. En: Peroutka, S. J. (Ed.). Serotonin receptor subtypes: Basic and clinical aspect (pp. 147-210). New York: Wiley-Liss.
- Wingfield, A. & Bymes. L. D. (1981). The psychology of human memory. New York: Academic.
- Winter, J. C. & Petti, D. T. (1987). The effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propilamino)tetralin and other serotonergic agonists on performance in a radial maze: A possible role for 5-HT_{1A} receptors in memory. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 27, 625-628.
- Yasuda, R. P., Cielsa, W., Flores, L. R., Wall, S. J., Li, M., Satkus, J. A., Weinstein, J. S., Spagnola, B. V. & Wolfe, B. B. (1992). Development of antisera selective for m₄ and m₅ muscarinic cholinergic receptors: Distribution of m₄ and m₅ receptors in rat brain. Molecular Pharmacology, 43, 149-157.
- Zola-Morgan, S. & Squire, L. R. (1993) Neuroanatomy of memory. Annual Review of Neurosciences, 16, 547-563.
- Zuardy, A. W., Cosme, R. A., Graeff, F. G. & Guimarães, (1993). Effects of ipsapirone and cannabidiol on humn experimental anxiety. Journal Psychopharmacology, 7, 82-88.