



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA  
COORDINACIÓN DE PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL**

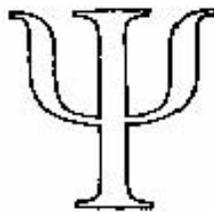
**EFEECTO DE LA ESCOPOLAMINA EN EL CONDICIONAMIENTO CONTEXTUAL  
DE UNA RESPUESTA APETITIVA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:  
YOLIZTLI YECTIVANI JUÁREZ MUÑOZ.**

**Jurado de examen  
Director: Dr. Javier Nieto Gutiérrez  
Revisor: Dra. Livia Sánchez Carrasco  
Comité: Dr. Víctor Ramírez Amaya  
Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez  
Dr. César Casasola Castro**



**ESTA TESIS FUE FINANCIADA POR EL PROYECTO PAPITT IN 307509.**

**MÉXICO, D.F. CIUDAD UNIVERSITARIA, 2010**



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.

Agradecimientos.

A mis padres, Rosa María y Raúl, que siempre han creído en mí. Por su apoyo incondicional, su esfuerzo constante en mi formación académica y personal, así como por su cariño infinito. Los amo.

A mi hermano, Rodrigo, mi compañero de siempre. Por su compañía y comprensión.

A la Dra. Livia Sánchez Carrasco, a quien debo gran parte de mi formación como investigadora. Por su amistad y confianza.

Al Dr. Javier Nieto Gutiérrez, quien me permitió ser parte de su equipo de investigación. Por los que consejos que me ha brindado.

A mis sinodales, quienes enriquecieron este trabajo con sus valiosos comentarios. Por su tiempo y dedicación.

A mis amigos, quienes han estado conmigo a lo largo de estos años. Por su lealtad y amor.

## Índice.

1. Resumen.....	1
2. Antecedentes.	
2.1 Aprendizaje y Condicionamiento Clásico.....	3
2.2 Representaciones conjuntas (Contexto).....	5
2.3 Hipocampo y representaciones conjuntas.....	6
2.4 Actividad colinérgica hipocámpica.....	9
2.5 Antagonistas colinérgicos.....	12
2.6 Condicionamiento Contextual de Miedo y Escopolamina.....	14
2.7 Condicionamiento Apetitivo, Hipocampo y Acetilcolina.....	18
2.8 Planteamiento del problema y objetivo.....	20
3. Método.	
3.1 Sujetos.....	22
3.2 Aparatos.....	22
3.2.1 Estímulos contextuales.....	23
3.3 Sustancias.....	24
3.4 Procedimiento.....	24
4. Análisis de Resultados.....	27
5. Resultados.....	28
5.1 Adquisición.....	28
5.2 Sesiones de Prueba.....	29
6. Discusión.....	32
7. Referencias.....	38

## **1. Resumen.**

Se ha demostrado ampliamente, en procedimientos de condicionamiento contextual del miedo, que el uso de antagonistas de los receptores colinérgicos muscarínicos provoca déficits en el aprendizaje; sin embargo existe poca evidencia acerca del papel que juegan dichos receptores en el condicionamiento contextual de tareas apetitivas. El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la escopolamina en la adquisición de una respuesta condicionada, así como en el condicionamiento contextual de la misma. Se asignó a 24 ratas a uno de tres grupos: Escopolamina, Metilescopolamina y Salina. Se entrenó con el mismo procedimiento a los grupos en dos fases. En la primera fase, se les expuso durante cada sesión a quince ensayos tono – comida. Una semana después se condujo la segunda fase; en ella se sometió a los grupos a dos sesiones de prueba y en cada una se expuso a los sujetos a tres ensayos. En una de las sesiones de prueba se presentó a los sujetos una luz en el contexto de adquisición, mientras que en la segunda sesión se expuso a los sujetos al tono en un contexto nuevo. A fin, de evaluar el efecto de la escopolamina se administró a los sujetos 15 minutos antes de iniciar las sesiones de adquisición una inyección intraperitoneal de la sustancia correspondiente al grupo al que fueron asignados en una dosis de 0.1 mg/kg. Los resultados mostraron que los sujetos del grupo Escopolamina tuvieron un retraso en la adquisición de la respuesta apetitiva entrenada (entradas al comedero), además de que durante la sesión de prueba al tono, tienen un índice de elevación menor al de los demás grupos durante el primer ensayo. En la prueba de condicionamiento al contexto no se observaron

diferencias entre los grupos. El efecto de retardo en la adquisición de la respuesta observado en el grupo Escopolamina, así como el índice de elevación menor observado durante la fase de prueba se discuten en términos del efecto de la escopolamina en los receptores muscarínicos colinérgicos en el cerebro. Mientras que, la ausencia de diferencias en los índices de elevación observados durante la fase de prueba se discute en términos de la manera en que se condujo la prueba.

Palabras clave: escopolamina, condicionamiento clásico.

## **2. Antecedentes.**

### **2.1 Aprendizaje y Condicionamiento Clásico.**

El aprendizaje es un cambio en la capacidad de comportamiento que resulta de experiencias específicas con el ambiente (Lieberman, 2000). A fin de analizar los mecanismos que subyacen al aprendizaje los psicólogos han utilizado diversos paradigmas, uno de los más estudiados: el condicionamiento clásico, ha permitido caracterizar las condiciones que producen aprendizaje, su contenido y la forma en que éste afecta la ejecución de una conducta. Por lo que, el uso de dicho procedimiento permite describir como los organismos aprenden a relacionar y representar de manera confiable los eventos que ocurren en el ambiente (Rescorla, 1988).

El procedimiento básico empleado dentro del condicionamiento clásico involucra fundamentalmente dos estímulos: el estímulo incondicionado (*EI*) y el estímulo condicionado (*EC*). El *EI* provoca naturalmente una respuesta incondicionada (*RI*), mientras que inicialmente el *EC* sólo produce una respuesta de orientación. Después de varios emparejamientos entre el *EC* y el *EI* emerge una nueva respuesta ante el *EC*, que se denomina respuesta condicionada (*RC*) (Domjan, 2005).

Ahora se sabe que los organismos poseen una representación detallada de las características motivacionales y perceptuales del *EC* y el *EI*. Asimismo, se sabe que el emparejamiento de cualquier conjunto de estímulos (i.e. precondicionamiento sensorial) o la exposición a los mismos puede producir aprendizaje. Así, en general, se acepta ampliamente que la ocurrencia de la *RC* es un buen índice de aprendizaje, sin embargo, existe evidencia que sugiere que la

conducta no siempre refleja lo que se ha aprendido. Por ejemplo, en un experimento de aprendizaje latente, Tolman y Honzik (1930) permitieron que un grupo de ratas exploraran un laberinto radial sin recibir recompensa, mientras los sujetos del otro grupo recibieron alimento cada vez que alcanzaban el final de un brazo. Conforme transcurrieron los ensayos se observó que las ratas del grupo recompensado cometían un menor número de errores, mientras que en el grupo sin recompensa no se observaron cambios. En una fase posterior se introdujo el reforzamiento contingente al grupo sin recompensa. Los resultados de esta fase mostraron que la ejecución de dicho grupo mejoraba notablemente en el siguiente ensayo. Tolman y Hoznik concluyeron que a pesar de que en la primera fase no se observaron cambios conductuales en el grupo sin recompensa, los sujetos habían aprendido sobre el laberinto durante toda la tarea, por lo que este aprendizaje se hizo evidente en la fase de reforzamiento. El hecho de que las ratas del grupo sin recompensa tuvieran una ejecución eficiente pocos ensayos después de ser recompensadas apoya la visión de que durante la experiencia de aprendizaje los animales, además de codificar las relaciones entre eventos, pueden relacionar estos con el entorno en el que suceden. De igual forma, se asume que la presentación de estímulos (i.e. estímulos o consecuencias) en los procedimientos de condicionamiento clásico ocurre dentro de un fondo de estímulos convencionalmente denominados estímulos contextuales o contexto, que influyen sobre el comportamiento y que también pueden ser controlados experimentalmente. Estos estímulos comprenden: (1) las características físicas de la cámara de condicionamiento (e.g., la iluminación, la intensidad de los sonidos, las texturas del piso y de las paredes, los olores, la ubicación en el espacio, etc.) y

(2) la estimulación interna de los sujetos (e.g., los ciclos de sueño, efectos de drogas, etc.) (Bouton, 1991; Lovibond, Preston y Mackintosh 1984; Welker y McAuley, 1978).

## **2.2 Representaciones conjuntas (Contexto).**

De acuerdo con diversas investigaciones, los animales generan una representación del contexto en el que se lleva a cabo el experimento, y esta representación afecta el aprendizaje y la ejecución (Gordon y Klein, 1994; ver también Bouton y Nelson, 1998). En el caso del condicionamiento contextual se observa que las señales contextuales presentes durante el condicionamiento afectan la recuperación de la información que se adquirió en él y que forman parte de la información que los organismos aprenden. Por ejemplo, en el paradigma de condicionamiento contextual de miedo en la fase de condicionamiento se expone a una rata a un tono seguido de una breve descarga eléctrica, posteriormente cuando se presenta nuevamente el tono se observa una respuesta de congelamiento (i.e. inmovilidad). Este aprendizaje ocurre en un contexto particular, llamado contexto de adquisición. Días después se evalúa la respuesta de congelamiento exponiendo al sujeto al contexto de adquisición y se observa que la respuesta se presenta aún en ausencia del tono o la descarga. Esto indica que el propio contexto se asoció con la experiencia de aprendizaje, convirtiéndose en un buen predictor de la descarga. Por tanto, se ha propuesto que el contexto puede establecer asociaciones directas con el *EI*.

Además de que los modelos de aprendizaje asociativo proponen que los organismos poseen representaciones detalladas de los estímulos, así como de las relaciones que existen entre los mismos (Holland, 1990), en la actualidad se ha

desarrollado un campo de investigación que intenta identificar las estructuras neuronales que intervienen en la formación de representaciones durante el condicionamiento contextual, así como los mecanismos neuronales subyacentes (Kandel, 2001). Específicamente, existe evidencia de que durante el aprendizaje se generan patrones de actividad neuronal en distintas áreas del cerebro, que causan cambios duraderos en la fuerza de las conexiones sinápticas y que a su vez se relacionan con la representación de eventos (Morris et al., 2003). A partir de estos hallazgos se ha propuesto que la potenciación a largo plazo (LTP) hipocampal, es decir, un aumento duradero de la transmisión sináptica debido a la estimulación de alta frecuencia en el hipocampo, es una condición necesaria para la formación de representaciones sobre el contexto (Anagnostaras et al., 1999).

### **2.3 Hipocampo y Representaciones Conjuntas.**

El hipocampo es una de las estructuras que ha sido implicada directamente con la integración de información que proviene de estímulos compuestos (i.e. aprendizaje contextual, Holland y Bouton, 1999). Esta estructura es parte de la formación hipocampal, que está comprendida por la corteza entorrinal, el giro dentado, el hipocampo dicho propiamente y el complejo subicular. El hipocampo incluye a las regiones (campos) CA1-CA4 y es considerado como el mayor componente estructural de la formación hipocampal (Ver Figura 1).

En relación a sus aferentes, el hipocampo recibe información altamente procesada de la corteza entorrinal e importantes proyecciones subcorticales a través de la fimbria-fornix. El circuito de flujo de información más conocido consiste en las proyecciones que van de la corteza entorrinal, pasan a través de la vía perforante hacia el giro dentado, hipocampo y subículo.

Existen principalmente dos áreas que proyectan aferentes colinérgicos al hipocampo: el septum medial y la extremidad vertical de la banda diagonal de Broca. Ambas estructuras son parte del cerebro basal anterior (Jarrard, 1993).

## Anatomía del Hipocampo.

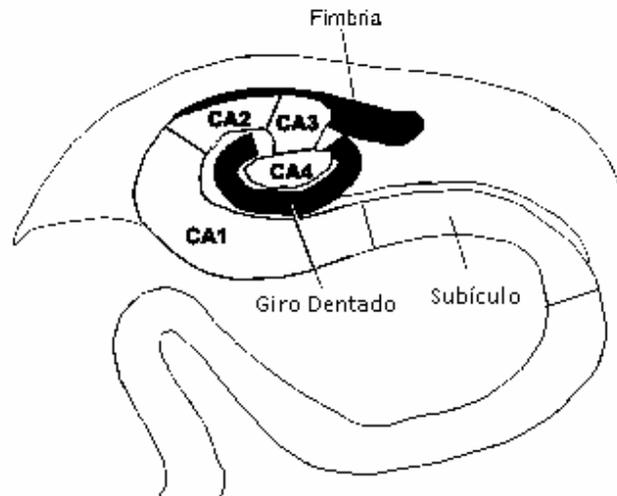


Figura 1. Figura que muestra la anatomía del hipocampo incluyendo sus campos.

En cuanto a la evidencia que muestra que el hipocampo es necesario para el aprendizaje de relaciones entre múltiples señales, se ha observado que la lesión de ésta estructura produce un déficit en la adquisición de asociaciones entre múltiples estímulos (i.e., representaciones conjuntas)(Eichenbaum, 1990). Por ejemplo, Phillips y LeDoux (1994) evaluaron el papel del hipocampo en la formación de este tipo de representaciones. Para ello, diseñaron un experimento en el que evaluaron el efecto que tenía la lesión en el hipocampo dorsal sobre el condicionamiento contextual, cuando los estímulos contextuales eran de primer plano (foreground) o de fondo (background). Se lesionó el hipocampo dorsal a un grupo de ratas y se incluyeron dos grupos control: *sham* y sin cirugía. Después del período de recuperación se asignó a los sujetos a tres grupos: *EC-EI*, *EC no EI* y

sólo *EI*. En las dos primeras sesiones, se expuso a los sujetos de grupo *EC-EI* a dos emparejamientos de un tono seguido de una descarga eléctrica, mientras que a los sujetos del grupo *EC no EI* se les expuso de manera no apareada al tono y a la descarga, finalmente a los sujetos del grupo sólo *EI* se les expuso a dos presentaciones de la descarga en ausencia del tono. En el tercer día se expuso a los sujetos de los grupos *EC-EI* y *EC no EI* a dos presentaciones del tono solo. Se midió la respuesta de congelamiento durante el primer ensayo de cada sesión 20s antes de la presentación del tono para los grupos *EC-EI* y *EC no EI*, mientras que para el grupo sólo *EI* se registro esta respuesta 40s antes de la presentación de la descarga eléctrica. Los resultados mostraron que los sujetos del grupo *EC-EI* con lesión del hipocampo dorsal presentaban una menor respuesta de congelamiento en el último día, mientras que los sujetos del grupo *EC no EI* con lesión del hipocampo mostraron un retraso en la adquisición de la conducta de congelamiento. Los autores concluyeron que la lesión del hipocampo dorsal afecta el condicionamiento del contexto sólo cuando existe un estímulo fásico (*EC*) pareado con el *EI*, condición en la cual las características externas al compuesto *EC-EI* se integran formando una representación del ambiente (i.e. contexto).

Actualmente, se piensa que el hipocampo integra las distintas características sensoriales presentes en una situación de aprendizaje, de forma tal que permite crear una representación conjunta (Rudy et. al., 2004, Sutherland y Rudy, 1989). En particular, se ha propuesto que en las ratas la adquisición de tareas en las que es necesaria la formación de una representación que incluya relaciones entre múltiples señales es hipocampo-dependiente (e.g., condicionamiento contextual).

## **2.4 Actividad colinérgica hipocámpica.**

Como ya se mencionó el hipocampo se asocia con actividad colinérgica, por lo que además de los estudios donde se evalúa el efecto de lesiones hipocámpicas, se han realizado análisis de la actividad colinérgica en el hipocampo, así como distintas inactivaciones reversibles con fármacos que inhiben su actividad (e.g. antagonistas colinérgicos).

Antes de continuar con la descripción de los experimentos que muestran los efectos de la inactivación de la neurotransmisión colinérgica hipocámpica es importante mencionar que la acetilcolina es un neurotransmisor que se sintetiza por acción de la enzima colina acetiltransferasa a partir de colina y acetil co-enzima A. La acetilcolina se almacena en vesículas en el soma, desde donde se transporta hacia las terminales axónicas para ser liberada al espacio sináptico. Una vez liberada la acetilcolina se liga a sus respectivos receptores: nicotínicos y muscarínicos. Los receptores nicotínicos son canales iónicos activados por ligando, cuya activación causa un cambio rápido (en el orden de milisegundos) en la permeabilidad al  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ , por lo tanto se genera una depolarización y la excitación de la célula. Por otro lado, los receptores muscarínicos son receptores acoplados a una proteína G, asociados con cadenas de señalización intracelular y actividad de segundos mensajeros, por lo que la respuesta de estos es más lenta, puede ser excitatoria o inhibitoria y su actividad no está ligada necesariamente a cambios en la permeabilidad a iones. Se conocen cinco subtipos de receptores muscarínicos (m1-m5) y cada uno es producido por un gen distinto. Estas variantes de receptores tienen distinta ubicación anatómica

en la periferia así como en el sistema nervioso central y difieren en su especificidad química.

Finalmente, una vez que la acetilcolina interactuó con sus respectivos receptores se degrada por acción de la enzima acetilcolinesterasa, dejando como producto colina y ácido acético. La colina se reabsorbe por transportadores para ser reutilizada (Goodman y Gilman, 2005) (Ver Figura 2).

### Neurotransmisión Colinérgica.

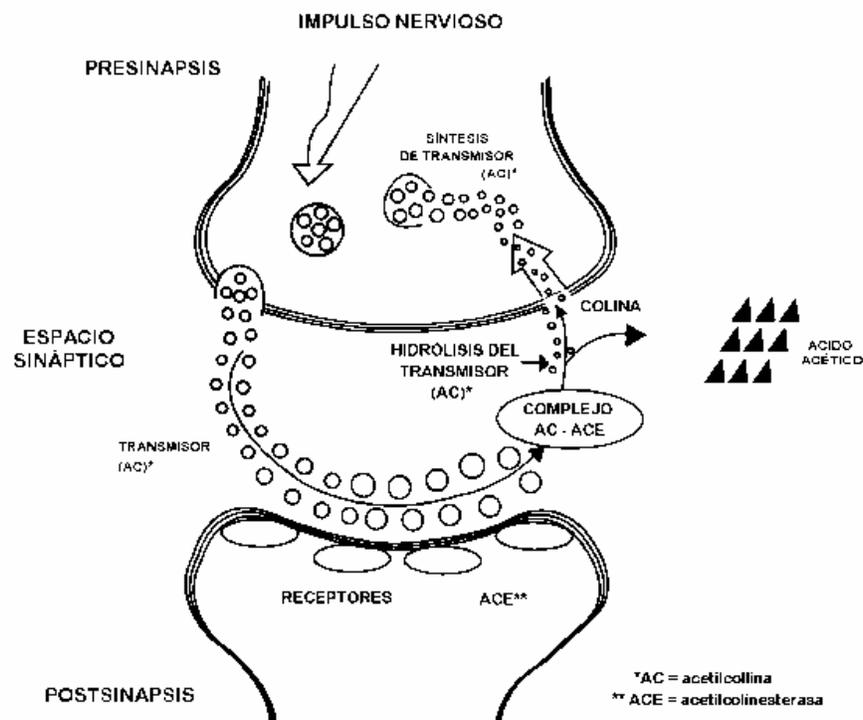


Figura 2. Figura que muestra la síntesis y degradación de la acetilcolina, así como su liberación durante la sinápsis colinérgica.

Debido a que la actividad colinérgica se ha ligado con distintas funciones cognitivas (Blokland, 1996) se han realizado experimentos que buscan analizar la relación entre la ejecución de distintas tareas con la producción de acetilcolina. Por ejemplo, Nail-Boucherie et al. (2000) diseñaron un experimento para evaluar si el condicionamiento contextual de miedo estaba asociado con un incremento en los

niveles de acetilcolina. Para ello, colocaron cánulas para microdiálisis en el campo CA3 de un grupo de ratas. Después del periodo de recuperación de la cirugía, se asignó a los sujetos a dos grupos: grupo con y sin descarga y se les colocó una sonda de microdiálisis a través de la cual se perfundió a las ratas durante 140min, se recolectaron tres muestras durante los últimos 60min con un intervalo de 20min entre cada recolección. Sin interrumpir la microdiálisis, se colocó a las ratas en la caja de condicionamiento y después de un periodo de adaptación de 18min se expuso a las ratas del grupo con descarga a seis presentaciones de una descarga eléctrica de 50V y 4,2mA que duró 2s. Durante esta sesión se recolectaron muestras de 20 microlitros cada 20min. Se retiró a los sujetos de la caja de condicionamiento y 100min después se retiró la sonda de microdiálisis y se bloqueó la cánula. Veinticuatro horas después se colocó nuevamente la sonda de microdiálisis y, 90min posteriores a la implantación, se colectaron tres muestras durante los 60min previos a la sesión de prueba con un intervalo de 20min entre cada recolección. Una vez tomadas las muestras de la línea base se colocó a los sujetos en la cámara de condicionamiento y después de un periodo de 20s se inició el registro de la conducta de congelamiento durante 10min. La sesión de prueba tuvo la misma duración que la sesión de condicionamiento. Se retiró a los sujetos de las cajas de condicionamiento y durante los 100min siguientes se recolectaron cinco muestras más. Los resultados mostraron que transferir a los sujetos a un nuevo ambiente en la fase de condicionamiento (i.e., cámara de condicionamiento) incrementó el nivel de acetilcolina extracelular en el hipocampo. Sin embargo, en la sesión de prueba, cuando se introdujo a los sujetos del grupo con descarga a la cámara de condicionamiento se observó un incremento aún

mayor en los niveles extracelulares de acetilcolina en el hipocampo. Los autores concluyeron que aunque los niveles extracelulares de acetilcolina en el hipocampo aumentan con la exposición a un contexto nuevo (i.e. fase de condicionamiento), esta producción es menor a la observada cuando se reexpone a los sujetos al contexto ya condicionado. De esta manera es posible suponer que la actividad colinérgica hipocámpica intacta es necesaria en el reconocimiento de ambientes previamente explorados.

## **2.5 Antagonistas colinérgicos.**

En los experimentos cuyo propósito es analizar el papel del hipocampo en el aprendizaje contextual se han utilizado fármacos que inhiben la actividad colinérgica, uno de estos fármacos es la escopolamina. La escopolamina es un antagonista muscarínico competitivo no selectivo; es decir, impide la acción de la acetilcolina, previniendo que se ligue a su sitio de unión en todos los subtipos de receptores muscarínicos. Asimismo, aunque se ha demostrado que la escopolamina tiene una alta selectividad por los receptores muscarínicos, en dosis altas este fármaco puede bloquear los receptores nicotínicos (Brown y Taylor, 2006).

Dado que la distribución de los cinco diferentes subtipos de receptores muscarínicos (m1-m5) está claramente descrita en las ratas es posible inferir que cada subtipo tiene un papel funcional específico. Por ejemplo, se ha observado que los subtipos m1 y m5 están ubicados principalmente en el cerebro. Asimismo, las áreas cerebrales con mayor densidad de receptores muscarínicos son el hipocampo, la corteza y el tálamo (Goodman y Gilman, 2006). Debido a que la escopolamina no tiene preferencia por alguno de los subtipos de receptores

muscarínicos bloquea los efectos de la acetilcolina afectando una serie de procesos cognitivos, como: memoria (Agrawal et. al., 2009), atención (Jones y Higgins, 1995), el procesamiento de estímulos (van Haaren y van Hest, 1989) y algunas formas de aprendizaje (Anagnostaras et al., 1995; Rudy, 1996).

El efecto de la escopolamina en tareas de aprendizaje y memoria se evalúa en términos del proceso amnésico ligado a su acción como antagonista colinérgico.

El momento en el que se administra la escopolamina (i.e. antes o después de las sesiones de condicionamiento) ha sido relacionado con el proceso que afecta durante el procesamiento de información. De esta manera se analiza el efecto de la escopolamina en la adquisición de información administrando la sustancia previo a las sesiones de entrenamiento, mientras que se evalúa su efecto en la consolidación de información cuando la administración de la sustancia se realiza después de las sesiones de entrenamiento.

Los resultados diferenciales en el momento de administración de la escopolamina se han interpretado como indicadores de distintos momentos de procesamiento de información en el hipocampo (Kim y Fanselow, 1992).

Es importante resaltar que los efectos de la escopolamina inyectada intraperitonealmente en funciones cognitivas se asumen como el resultado de un bloqueo total en los receptores muscarínicos de todos los niveles del cerebro, ya que este fármaco se une a todos los subtipos de receptores muscarínicos y no tiene una preferencia por un área específica del cerebro.

Regularmente, la administración de escopolamina se realiza de forma intracraneal o periférica. Sin embargo, en los estudios sobre condicionamiento

contextual se ha administrado principalmente de forma periférica (i.e., intraperitoneal). Como consecuencia es difícil diferenciar entre los efectos periféricos y centrales de la droga. Sin embargo, un método que se ha utilizado para discernir entre los efectos centrales y periféricos de la escopolamina es incluir un grupo control, al que se le administra metilescopolamina (Anagnostaras et.al., 1995, Rudy, 1996).

La metilescopolamina es un fármaco con características similares de unión a la escopolamina, sin embargo, no atraviesa la barrera hematoencefálica. De esta manera, si se administra a dos grupos una dosis equivalente de escopolamina y metilescopolamina, y sólo en el grupo escopolamina se ven afectadas las funciones cognitivas, es posible inferir que los efectos de la escopolamina están mediados por la acción de esta droga sobre el sistema nervioso central.

## **2.6 Condicionamiento Contextual de Miedo y Escopolamina.**

Anagnostaras, Maren y Fanselow (1995) realizaron un experimento para evaluar el papel de los receptores muscarínicos colinérgicos utilizando escopolamina. Para ello, entrenaron treinta ratas hembra en un procedimiento de condicionamiento contextual de miedo. Las ratas se asignaron a tres grupos anterógrado, retrógrado y salina. Quince minutos antes de la sesión de condicionamiento se les administró escopolamina (1.0 mg/kg; i.p.) a los sujetos del grupo anterógrado; mientras que los sujetos del grupo retrógrado y salina recibieron un volumen análogo de solución salina (1.0 ml/kg; i.p.). Posteriormente, se colocó a los sujetos en el contexto de adquisición, el cual estaba conformado por características olfativas y espaciales particulares. Después de dos minutos de haber sido colocados en este contexto, se presentó un tono con una duración de

30s, una frecuencia de 2KHz y una intensidad 85 dB que terminaba con la presentación de un shock de 2s de duración y una intensidad de 1mA. Un minuto después de realizado el ensayo de condicionamiento se retiró a los animales del contexto de adquisición. A los sujetos del grupo retrógrado se le administró inmediatamente escopolamina (1.0 mg/kg; i.p.), mientras que los sujetos de los grupos anterógrado y salina recibieron solución salina en un volumen análogo (1.0 ml/kg; i.p.). Una semana después se probó a los animales en el contexto de adquisición para medir el nivel de condicionamiento al contexto; para ello, se registró la conducta de congelamiento en 16 observaciones por cada intervalo de 2min. Dos días después se colocó a los sujetos en un contexto diferente al contexto de adquisición, en él se realizó una prueba para evaluar la respuesta de miedo al tono. Esta prueba inició con un intervalo de adaptación de 2min, posteriormente se expuso a los sujetos al tono durante 8min y también se registró la respuesta de congelamiento. Los resultados de la prueba en el contexto de adquisición mostraron un porcentaje menor de congelamiento en los sujetos del grupo anterógrado; mientras que en la prueba de condicionamiento al tono todos los grupos tuvieron el mismo nivel de condicionamiento. Por tanto, Anagnostaras et al. (1995) concluyeron que la administración previa de escopolamina afecta el condicionamiento contextual de miedo.

Sin embargo, Rudy (1996) reportó en una serie de experimentos posteriores que la escopolamina afecta el condicionamiento al tono y al contexto cuando se administra antes y después del entrenamiento. En todos los experimentos se empleó un procedimiento de condicionamiento contextual de miedo y se entrenó a ratas de 23 días de edad. El primer experimento tuvo como propósito analizar el

efecto de la escopolamina en el condicionamiento contextual y en el condicionamiento del tono. Antes de iniciar la sesión de condicionamiento se inyectó a las ratas con escopolamina (1.0 mg/kg; i.p.) o con solución salina en un volumen análogo (1.0 ml/kg; i.p.). Después de 2min de haber colocado a las ratas en el primer set de cámaras experimentales, que representaban el contexto de adquisición, se les expuso a un clic con duración de 20s y una intensidad de 80dB que terminaba con la presentación de una descarga eléctrica en las patas, con una duración de 2s y una intensidad de 1mA, 30min después se retiró a los sujetos de la cámara de condicionamiento. Al día siguiente, se realizó la prueba de condicionamiento al contexto, se colocó a los sujetos en el contexto de adquisición y después de un periodo de adaptación de 20s se registró la conducta de congelamiento cada 10s. La duración total de la prueba fue de 5min. Treinta minutos después de haber terminado la prueba de condicionamiento al contexto se realizó la prueba de condicionamiento al tono. En esta prueba se colocó a los sujetos en un set de cajas con un contexto diferente al de adquisición y después de un periodo de adaptación de 3min se presentó el tono durante 3min más. Esta sesión tuvo una duración total de 6min. Los resultados mostraron que las ratas del grupo escopolamina registraron un porcentaje menor de la conducta de congelamiento tanto al tono como al contexto. Por lo cual, el autor concluyó que la escopolamina administrada inmediatamente antes del condicionamiento interfiere con el aprendizaje sobre el contexto y el tono. En otro experimento se evaluó si el resultado anterior se debía al efecto central de la escopolamina y no a sus efectos periféricos. Para ello, entrenó en las mismas condiciones del experimento anterior a dos grupos de ratas. Al primero se le administró metilescopolamina (1.0 mg/kg;

i.p.) y al segundo solución salina en un volumen análogo (1.0 ml/kg; i.p.) inmediatamente antes de la sesión de condicionamiento. Los resultados mostraron que la metilescopolamina no tiene efecto sobre el condicionamiento contextual, ni sobre el condicionamiento al tono. Por tanto, Rudy concluyó que el déficit observado en el condicionamiento al contexto y al tono se debe a un efecto central de la escopolamina.

Debido a que cuando una droga se administra antes del entrenamiento no se puede estar seguro acerca de si el déficit se debe a la acción del fármaco en el aprendizaje y la memoria o a un efecto de alteración de detección a nivel sensorial, los siguientes experimentos se diseñaron con el propósito de evaluar estas hipótesis. Todos los grupos recibieron una inyección de escopolamina (1.0 mg/kg; i.p.) en diferentes intervalos de tiempo (i.e. inmediatamente después, 10min después, 30min después, 3 horas después o 24 horas después de haber terminado la sesión de adquisición). Finalmente, se condujeron las sesiones de prueba, de forma idéntica a los experimentos descritos anteriormente. Los resultados mostraron que los sujetos de los grupos a los que se les administró escopolamina después de la fase de entrenamiento, a excepción del grupo 24 horas después, tuvieron un menor porcentaje de congelamiento en la prueba de condicionamiento al contexto y al tono. Por tanto, Rudy concluyó que la escopolamina afecta el condicionamiento al contexto y al tono cuando se administra después de la sesión de entrenamiento. Sin embargo, este resultado depende del intervalo que separa el final de la sesión con el momento de administración de la escopolamina, ya que el grupo que recibió escopolamina 24 horas después de la sesión de entrenamiento tuvo un nivel de congelamiento

similar al de los sujetos del grupo control (i.e. salina) durante las pruebas de condicionamiento al contexto y al tono.

## **2.7 Condicionamiento Apetitivo, Hipocampo y Acetilcolina.**

Aunque se ha determinado que el hipocampo y la actividad colinérgica relacionada con éste son necesarios para el establecimiento de representaciones conjuntas en el paradigma de condicionamiento contextual de miedo, se ha estudiado poco acerca del papel de esta estructura en la formación de representaciones conjuntas en tareas de tipo apetitivo. Asimismo, se ha sugerido la existencia de diferencias en las estructuras involucradas en los dos tipos de aprendizaje. Por ejemplo, se ha descrito una red de estructuras que son importantes para el establecimiento de relaciones entre estímulos apetitivos. Esta red de estructuras involucra la corteza del cíngulo anterior, la corteza orbitofrontal, la amígdala y el núcleo accumbens (Ambrogio et al., 1999).

Específicamente, Pratt y Keley (2004) diseñaron un experimento para evaluar el papel de los receptores muscarínicos colinérgicos en la adquisición de una respuesta apetitiva. Para ello, implantaron cánulas bilateralmente en el núcleo accumbens de un grupo de ratas. Después del periodo de recuperación se les restringió el alimento hasta que alcanzaron el 85% de su peso corporal *ad libitum*. Durante la privación de alimento se les proporcionó diariamente cuatro pellets de sucrosa para evitar respuestas neofóbicas durante el condicionamiento. Antes de iniciar con la fase de condicionamiento se asignó a las ratas a cuatro grupos mecamilamina 10.0  $\mu$ g, escopolamina 10.0  $\mu$ g, escopolamina 1.0  $\mu$ g y salina 1.0  $\mu$ l. Mientras la escopolamina es un antagonista muscarínico, la mecamilamina es

un fármaco antagonista colinérgico cuyo sitio de acción son los receptores nicotínicos, por lo tanto se incluyó como control para diferenciar los efectos de ambos antagonistas en los distintos tipos de receptores colinérgicos. Previo a las cinco primeras sesiones experimentales las ratas fueron infundidas a través de las cánulas con las soluciones durante un minuto, posteriormente se les regresó a su caja-habitación y cinco minutos después fueron colocadas en la cámara experimental. Se entrenó a las ratas a presionar una palanca para obtener pellets de sucrosa. Durante las primeras dos sesiones se reforzó a las ratas bajo un programa de reforzamiento Razón Fija (RF) 1 concurrente con un programa Tiempo Fijo (TF) 30s. En la tercera sesión se omitió el programa de reforzamiento TF30 y se cambió el programa RF1 por uno de Razón Variable (RV) 2 (probabilidad=0.5) y se terminó la sesión cuando los sujetos emitían 50 respuestas. En el día 11 se infundieron nuevamente a los sujetos a través de las cánulas con las soluciones descritas. Todas las sesiones tuvieron una duración de 15min. Los resultados mostraron que la infusión de escopolamina (en ambas dosis) en el núcleo accumbens de las ratas produce un déficit para adquirir la respuesta apetitiva, mientras que la mecalamina (antagonista de los receptores nicotínicos) no produjo el mismo efecto. Las conclusiones de los autores fueron que la escopolamina produce un déficit para aprender acerca del valor del reforzador, en este caso de la sucrosa.

Además de los experimentos que refieren una relación entre el daño en las estructuras cerebrales y el condicionamiento apetitivo, Menahem et al. (1971) desarrollaron un experimento para evaluar la activación del hipocampo en la adquisición ante una consecuencia apetitiva comparada con una aversiva. Para

ello, colocaron electrodos en el hipocampo (giro dentado, CA3 y CA1) de un grupo de ratas. Durante la primera sesión se presentó a los sujetos aleatoriamente a tres estímulos (tono 1, tono 2 o descarga). Durante los días dos y tres se expuso a los sujetos a uno de los tonos seguido de la presentación de comida, mientras que el segundo tono se presentó solo. En los días 4 y 5 se expuso a los sujetos al tono que había sido presentado con la entrega de comida seguido de una descarga eléctrica. Finalmente, en el día seis los sujetos fueron expuestos nuevamente al tono seguido de comida. Los resultados mostraron que la activación en el giro dentado de las ratas disminuía cuando se presentaba el tono seguido de la descarga eléctrica, mientras que dicha activación aumentaba cuando el tono era seguido por la comida. El análisis de la activación de los campos CA3 y CA1 mostró una activación similar cuando el tono era seguido de la comida y de la descarga. Los autores concluyeron que dicha activación diferencial se debía a que las neuronas de los campos CA3 y CA1 podrían estar involucradas con un procesamiento de información complejo.

Estos resultados indican que tanto la activación hipocampal, así como la acetilcolina están relacionados con el aprendizaje de tipo apetitivo; sin embargo, se sabe poco sobre el papel de estas en tareas de condicionamiento apetitivo que impliquen la representación conjunta (i.e. contextual).

## **2.8 Planteamiento del problema y objetivo.**

Debido a la cantidad de información concerniente a la implicación del sistema colinérgico en la adquisición de distintas respuestas condicionadas, así como su participación en el establecimiento de representaciones conjuntas (Anagnostaras, 1995, Rudy, 1996, Rudy et. al., 2004), el presente trabajo tiene

como propósito analizar los efectos de la escopolamina en el aprendizaje contextual empleando un procedimiento de condicionamiento apetitivo, ya que la mayoría de los experimentos reportan el efecto de la escopolamina en el condicionamiento contextual de miedo. Se espera que el efecto de la escopolamina en el condicionamiento contextual sea similar al reportado usando procedimientos de condicionamiento de miedo, asumiendo que el establecimiento de dicha representación requiere de la integridad del sistema colinérgico.

### **3. Método.**

#### **3.1 Sujetos.**

Se emplearon 24 ratas macho, cepa Wistar, de dos meses de edad al inicio del experimento, sin entrenamiento experimental previo; alojadas en jaulas-habitación individuales con acceso libre al agua y un procedimiento de privación de alimento que permitía el acceso a la comida durante una hora después de las sesiones experimentales.

#### **3.2 Aparatos.**

Se utilizaron seis cámaras de condicionamiento operante MEDAssociates®, modelo ENV-001. Las dimensiones de cada cámara fueron 20.8 cm de altura, 21.0 cm de largo y 28.2 cm de ancho. Las paredes laterales y el techo eran de acrílico; mientras que los paneles frontal y posterior eran de acero inoxidable. El piso de cada cámara estuvo compuesto de 16 barras cilíndricas de acero inoxidable, de 0.5 cm de diámetro, colocadas en paralelo al panel frontal; dichas barras estaban separadas entre sí por 1.5 cm de centro a centro.

En el centro del panel frontal se encontraba ubicado el receptáculo de comida a 1 cm del piso, en el cual se entregaron 2 pellets Noyes de precisión (45 mg), como estímulo incondicionado (EI); en éste mismo panel, se ubicó a 2 cm del techo una bocina que emitió un tono de 2900 Hz durante 30s como estímulo condicionado (EC). En la parte superior central del panel posterior, a 3cm del techo, se ubicó un foco de 28 V DC que proporcionó la iluminación general.

Se registró como respuesta condicionada la interrupción de un haz de luz que atravesaba horizontalmente el receptáculo de alimento, se registró la ocurrencia de dicha respuesta durante toda la sesión.

Todas las cámaras estuvieron conectadas a una interfase (MEDAssociates® Mod SG-502) que controló las sesiones y recolectó los datos a través de una computadora Pentium III.

### **3.2.1 Estímulos contextuales.**

Las seis cámaras de condicionamiento operante se acondicionaron para representar dos contextos que se distinguieron en características olfativas, táctiles y de localización. Las cámaras de condicionamiento se organizaron en una matriz de dos cajas de ancho por tres cajas de alto. Las tres cámaras que se ubicaron a la izquierda se acondicionaron para representar un contexto, en el cual se colocó en el exterior de la cámara de condicionamiento y justo por debajo del receptáculo de alimento un recipiente con 1 g de Vick's Vaporub (Richardson- Vick, Inc., Shelton, CT), asimismo se cubrió el piso con lija para madera (Lija Fandeli F) de número 80. Las cámaras ubicadas del lado derecho de la matriz representaron un contexto distinto; en el cual se colocó por fuera de cada cámara debajo del receptáculo de alimento un recipiente con 10 ml de esencia de Vainilla (Laboratorios Castells, S.A. de C.V., México) y se cubrió el piso con papel Foamy blanco.

Los contextos estuvieron contrabalanceados, es decir, para la mitad de los sujetos la fase de adquisición se llevó a cabo en las cámaras de condicionamiento en las que el contexto estuvo representado por el aroma a Vick y la textura de lija para madera en el piso; mientras que, para el resto de los sujetos la fase de adquisición se condujo en el contexto representado por el aroma a vainilla y la textura de foamy en el piso.

### **3.3 Sustancias.**

Se administró intraperitonealmente escopolamina (Scopolamine hydrobromide trihydrate S0929, Sigma-Aldrich) 0.1 mg/kg y metilescopolamina (Scopolamine methylbromide S8502, Sigma-Aldrich) 0.1 mg/kg previo a las sesiones de adquisición. Las sustancias se disolvieron en solución salina (0.9%).

Las dosis en que se administraron los fármacos utilizados en el presente trabajo, así como el momento de la administración se determinaron a través de una serie de experimentos piloto en los que se evaluó el procedimiento usado por Anagnostaras et al. (1995), así como las dosis usadas por Anagnostaras et al. (1995) y Rudy (1996) (i.e. 1.0 mg/kg). Los resultados encontrados mostraron que la administración de los fármacos en la dosis empleada por estos autores antes de las sesiones de condicionamiento producía letargo en los sujetos, que se reflejaba en una tasa baja de tasa de respuestas. En un segundo piloteo se evaluó el efecto de distintas dosis de escopolamina (Anagnostaras et al., 1999) administradas previo a las sesiones de adquisición. Al analizar la curva de adquisición dependiente de las dosis probadas se determinó que la escopolamina administrada intraperitonealmente en dosis de 0.1mg/kg permitía que los sujetos adquirieran la respuesta entrenada.

### **3.4 Procedimiento.**

El experimento duró en total 14 días (Ver Figura 3), todas las sesiones se condujeron diariamente en la misma franja horaria.

**Días 1 y 2 (Entrenamiento).** Antes de iniciar el experimento se condujeron dos sesiones de entrenamiento al comedero, en las cuales se colocó a los sujetos en las cámaras de condicionamiento en ausencia de las modificaciones

contextuales y se entregó al inicio de la sesión el *EI*, seguido de un periodo de adaptación de 15min, posteriormente se presentó el *EI* en 15 ocasiones con un intervalo de 510s entre cada presentación. La duración total de la sesión fue de dos horas y veinte minutos aproximadamente.

**Días 3-5 (Adquisición).** Previo a la fase de condicionamiento se asignó a los sujetos en forma aleatoria a uno de los 3 grupos (N=8): Escopolamina, Metilescopolamina y Salina. Antes de iniciar cada sesión de esta fase, y de acuerdo al grupo correspondiente, se administró intraperitonealmente a los sujetos la sustancia respectiva (escopolamina y metilescopolamina en dosis de 0.1 mg/kg; o bien, solución salina en un volumen de 1.0 ml/kg). Quince minutos después de la administración sistémica de las sustancias se colocó a los sujetos en el contexto de adquisición, para la mitad de los sujetos este contexto fue el que tenía el aroma de vick y la textura de lija, mientras que para los demás sujetos este contextos fue el que tenía el aroma de vainilla y la textura de foamy. En esta fase se expuso a los sujetos a 15 emparejamientos *EC-EI* en cada sesión, con un intervalo entre ensayos de 480s. La duración total de cada una de las sesiones fue de dos horas.

**Días 6 y 7 (Prueba a).** Una semana después de la última sesión de adquisición se sometió a todos los sujetos a dos sesiones de prueba. En cada día se realizó una de las dos posibles pruebas.

#### Prueba 1. Condicionamiento al contexto.

En la prueba de condicionamiento al contexto se expuso a los sujetos al contexto original de adquisición (i.e., vick-lija o vainilla-foamy). En este contexto se

realizaron 3 presentaciones de un estímulo distinto al utilizado en la fase de adquisición (tono). Se usó la luz que se encontraba encima de la palanca izquierda, la cual permaneció encendida durante 30s con un intervalo entre ensayos de 480s.

### Prueba 2. Condicionamiento al Tono

En la prueba de condicionamiento al tono se expuso a los sujetos al contexto distinto al de adquisición o novedoso (e.g. en el caso de los sujetos que se entrenaron en el contexto con aroma a vick y textura de lija esta prueba se llevo a cabo en el contexto con aroma a vainilla y la textura de foamy, mientras que para los sujetos que fueron entrenados en el contexto vainilla-foamy esta prueba se llevo a cabo en el contexto vick-lija). En este contexto novedoso se realizaron tres presentaciones del estímulo utilizado durante la fase de adquisición (tono) con un intervalo entre ensayos de 480s, esta prueba permitió evaluar el nivel de condicionamiento al *EC*.

Las pruebas estuvieron contrabalanceadas para todos los sujetos, es decir se analizó la ejecución de la mitad de los sujetos primero en el mismo contexto de adquisición, mientras que los demás se evaluaron primero en el contexto distinto al de adquisición (novedoso).

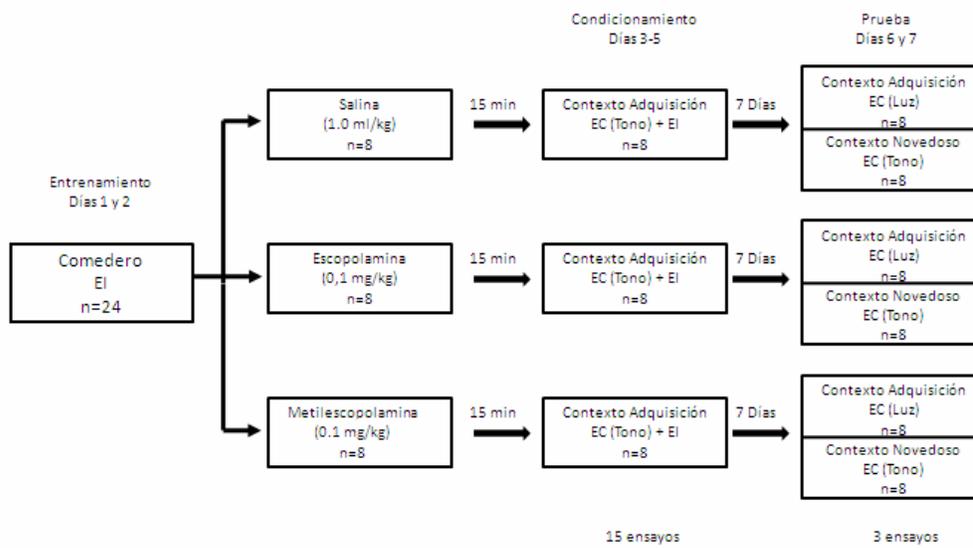


Figura 3. Se muestra el resumen de las fases de que constó el experimento. El *EI* fueron los pellets de purina.

#### **4. Análisis de Resultados.**

Para analizar los datos se calculó el índice de elevación. Este índice se obtiene restando el número de respuestas registradas (i.e. entradas al comedero) en los 30s de exposición al *EC* (tono o luz dependiendo la fase) menos el número de respuestas registradas en los 30s previos a la presentación del *EC*. El índice de elevación permite determinar el control del *EC* sobre la *RC*. Los índices de elevación con valores superiores a cero muestran control del *EC* sobre la *RC*.

Para la fase de adquisición se calcularon los índices de elevación para cada ensayo obtenido durante las 3 sesiones (45 ensayos en total) y se calculó el promedio en bloques de 5 ensayos. Se emplearon estos promedios tanto para la realización de las figuras, así como para los análisis estadísticos.

Para cada sesión de prueba se obtuvieron los índices de elevación para cada ensayo (3 ensayos por cada sesión de prueba).

Tanto para las fases de adquisición como para ambas fases de prueba se realizó un ANOVA de medidas repetidas, después de lo cual se hizo un análisis más detallado a través de las comparaciones planeadas para cada fase, así como las comparaciones post hoc a través del método de corrección de Bonferroni

## 5. Resultados.

### 5.1 Adquisición.

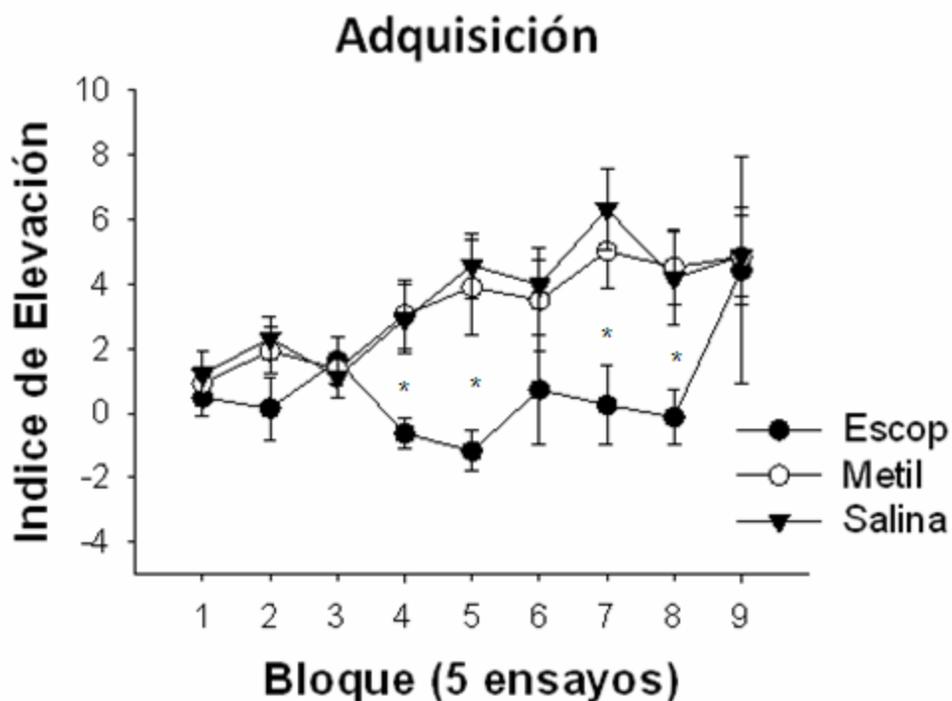


Figura 4. Índice de elevación registrado en los tres grupos durante la fase de condicionamiento. Se muestra la media  $\pm$  el error estándar de la media. \* $p < 0.05$ .

En la figura 4 se muestran los datos de las tres sesiones de adquisición, en bloques de 5 ensayos. Se puede observar un incremento en los valores del índice de elevación que va de valores cercanos a cero en los primeros ensayos a valores cercanos a 5 en los últimos ensayos. Asimismo, se puede observar que la velocidad de adquisición de la *RC* es lenta en el grupo escopolamina, comparada

con los otros grupos. Un ANOVA de medidas repetidas bloque x grupo mostró diferencias significativas en los factores principales bloque ( $F=3.86$ ,  $p<0.05$ ) y grupo ( $F=5.69$ ,  $p<0.05$ ), lo cual evidencia el incremento en el nivel de respuesta registrado a lo largo de los bloques, así como la diferencia en el nivel de respuesta de los diferentes grupos. Finalmente, cabe señalar que el efecto de interacción no resultó significativo ( $F=1.38$ ,  $p>0.05$ ).

Las comparaciones post hoc mostraron diferencias significativas: 1) entre el grupo escopolamina y los demás grupos y 2) estas diferencias fueron evidentes en los bloques 4, 5, 7 y 8 ( $p<0.05$ ).

## 5.2 Sesiones de Prueba.

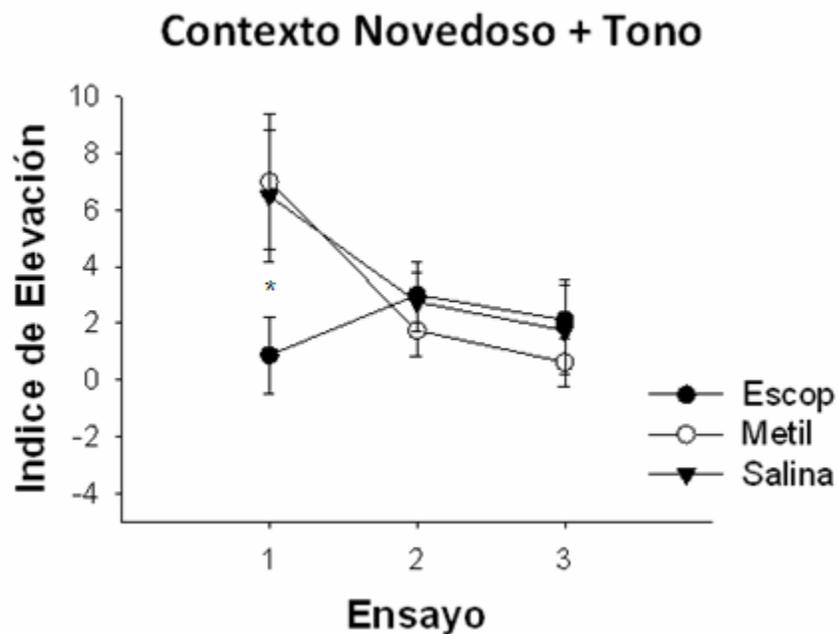


Figura 5. Índice de elevación registrado en los tres grupos durante los ensayos de prueba al tono en el contexto novedoso. Se muestra la media  $\pm$  el error estándar de la media. \* $p<0.05$ .

Para la sesión de prueba de condicionamiento al tono se calcularon los índices de elevación por ensayo. En la Figura 5 se puede observar que en el

primer ensayo el grupo escopolamina mostró un índice de elevación cercano cero, mientras los grupos restantes mostraron índices de elevación superiores a seis. En lo que respecta a los ensayos dos y tres, no se observan diferencias entre los grupos. Un ANOVA de medidas repetidas grupo x ensayo mostró diferencias significativas para el factor principal ensayo,  $F(2, 42) = 136.7, p < 0.05$ , mientras el factor principal grupo,  $F(2, 21) = 0.79, p > 0.05$ , y la interacción grupo x ensayo,  $F(4, 42) = 2.35, p > 0.05$  no resultaron significativas. Con el propósito de evaluar las diferencias observadas en el primer ensayo, se realizaron comparaciones planeadas entre el grupo escopolamina, y los grupos salina y metilescopolamina, dicho análisis mostró diferencias significativas entre los grupos en el primer ensayo,  $F(1, 21) = 6.58, p < 0.05$ . Las comparaciones post hoc confirmaron esta diferencia ( $p < 0.05$ ).

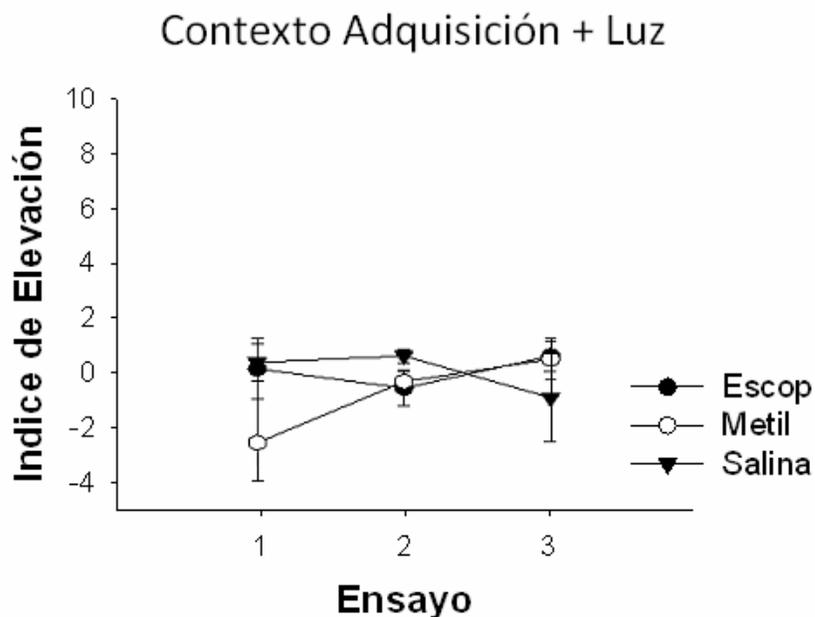


Figura 6. Índice de elevación registrado en los tres ensayos de prueba con la luz en el contexto de adquisición para cada grupo. Se muestra la media  $\pm$  el error estándar de la media.

En la Figura 6 se muestran los índices de elevación registrados en la sesión de prueba con la luz, se puede observar que el valor de dichos índices fluctúa alrededor de cero en todos los ensayos. Un ANOVA de medidas repetidas grupo x ensayo confirmó la ausencia de diferencias entre los grupos,  $F(2, 21) = 0.72, p > 0.05$ , los ensayos,  $F(2, 42) = 0.50, p > 0.05$  y la interacción grupo x ensayo,  $F(4, 42) = 1.67, p > 0.05$ .

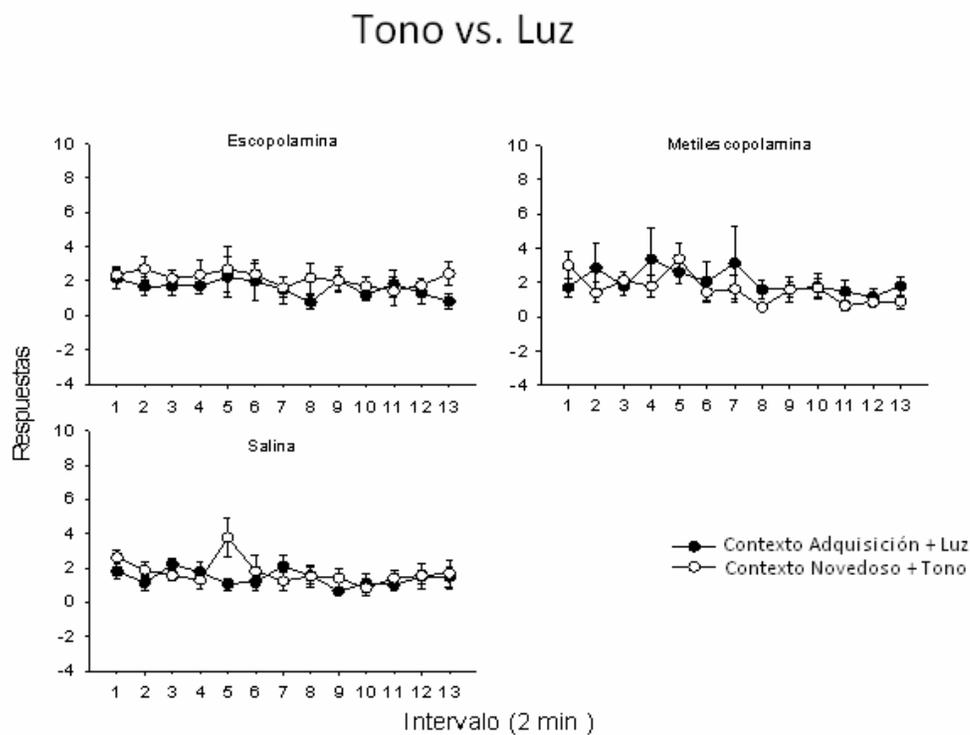


Fig 7. Respuestas por intervalo (2min) registradas en cada grupo durante las sesiones de prueba al tono (Contexto Novedoso + Tono) y a la luz (Contexto de Adquisición + Luz).

Con el propósito de analizar con mayor detalle el nivel de condicionamiento de la RC, que produjeron los diferentes contextos, se analizó el número de interrupciones a la fotocelda registradas en las sesiones de prueba al tono (Ctxt Diferente) y a la luz (Ctxt Igual). Para este análisis se segmentó la sesión en intervalos de 2min y se contabilizaron las respuestas registradas en cada intervalo,

dicho análisis se muestra en la Figura 7. Se puede observar que el nivel de respuesta en ambas sesiones y en los tres grupos fluctúa alrededor de 2 respuestas por intervalo. Un ANOVA Grupo x Sesión x Intervalo confirmó la ausencia de diferencias entre los grupos,  $F(2, 21) = 94.31$ ,  $p > 0.05$  y las sesiones,  $F(1, 21) = 0.15$ ,  $p > 0.05$ . Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre los intervalos  $F(12, 252) = 2.60$ ,  $p < 0.05$ . Adicionalmente, ninguna de las interacciones entre los factores evaluados resultó significativa (Ver Tabla 1).

Repeated Measures Analysis of Variance Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1955.000	1	1955.000	94.31900	.000000
GRUPOS	10.260	2	5.130	.24749	.783001
Error	435.278	2	20.728		
SESSION	2.564	1	2.564	.15542	.697381
SESSION*GRUPOS	27.333	2	13.667	.82840	.450524
Error	346.449	21	16.498		
INT	93.273	12	7.773	2.60482	.002752
INT*GRUPOS	37.100	24	1.546	.51804	.971412
Error	751.964	252	2.984		
SESSION*INT	37.798	12	3.150	1.06529	.390084
SESSION*INT*GRUPOS	55.000	24	2.292	.77506	.766793
Error	745.106	252	2.957		

Tabla 1. Interacciones entre los distintos factores analizados durante la fase de prueba al contexto,

## **6. Discusión.**

Los resultados del presente trabajo muestran que la administración de escopolamina afecta el condicionamiento de una respuesta apetitiva. En particular, en el presente experimento se emparejo la entrega de alimento con un tono y se observó que la adquisición de la RC (i.e. introducir la cabeza al comedero) era

similar en los grupos Salina y Metilescopolamina, mientras el grupo Escopolamina mostró una curva lenta de adquisición. Sin embargo, al final de la fase de adquisición se observó un nivel de condicionamiento similar en todos los grupos. No obstante, los resultados de la sesión de prueba con el tono mostraron índices de elevación cercanos a cero en el grupo escopolamina, mientras los grupos control mostraron índices cercanos a seis. Es decir, se observó que para los grupos control el tono conservaba aún sus propiedades de *EC*, mientras el grupo escopolamina no. Los resultados de la sesión de prueba con el estímulo nuevo no muestran diferencias entre los grupos, por lo que no es posible evaluar los efectos de la escopolamina en el condicionamiento contextual de una respuesta apetitiva, asimismo, es posible suponer que la prueba de condicionamiento al contexto no resultó sensible a la medición de dicho efecto.

El efecto de retardo en la adquisición de la tarea causado por la escopolamina es incongruente con lo reportado por Anagnostaras et al. (1995) y Rudy (1996), esto puede deberse a que la administración sistémica de escopolamina afecta de forma general a todas las estructuras y sistemas cerebrales que presentan neurotransmisión colinérgica muscarínica y no solo a un sitio o estructura particular. Por lo cual es posible que la escopolamina afecte no sólo al hipocampo en sí, sino también a la actividad de otras estructuras, como aquellas que también requieren de acetilcolina para su funcionamiento. Por ejemplo, la escopolamina además de actuar en el hipocampo actúa en la amígdala y el núcleo accumbens. Similar a lo encontrado por Pratt y Kelley (2004) es posible que la administración de escopolamina genere un déficit para aprender acerca del valor del reforzador, debido al bloqueo de los receptores muscarínicos en zonas

fuera del hipocampo (i.e. amígdala, núcleo accumbens) y esto sea lo que ocasione el retardo en el aprendizaje.

En el primer ensayo de la prueba de condicionamiento al tono se observa que el grupo escopolamina tiene un índice de elevación significativamente menor que el resto de los grupos, lo cual podría indicar que la escopolamina, en dosis de 0.1 mg/kg afecta el condicionamiento al *EC*, en este caso al tono, en una tarea apetitiva. Esto es congruente con lo encontrado por Rudy (1996) usando un procedimiento de condicionamiento contextual de miedo en el que observó que las ratas inyectadas con escopolamina antes de la sesión de condicionamiento presentaban una menor respuesta de congelamiento ante el tono comparadas contra las ratas inyectadas con metilescopolamina o solución salina. Sin embargo, debe hacerse énfasis en que la dosis usada por Rudy (1996) era mucho más alta que la utilizada en el presente experimento. Como se sabe, la escopolamina es un antagonista de los receptores muscarínicos; sin embargo, en dosis altas ésta inhibe también la actividad de los receptores nicotínicos, en el caso de los datos hallados por Rudy (1996) el efecto en el condicionamiento del tono podría deberse a un bloqueo de ambos tipos de receptores colinérgicos. Debido a que la dosis utilizada en este experimento es mucho menor podemos asegurar que el efecto de la escopolamina sobre el condicionamiento del tono se debe al bloqueo de los receptores muscarínicos.

Consistente con los hallazgos reportados por Rudy (1996) y Anagnostaras et al. (1995), los resultados de este experimento muestran que la administración de metilescopolamina produce una ejecución similar a la administración de una

dosis similar de solución salina, por lo cual es posible concluir que las diferencias observadas entre estos grupos y el grupo escopolamina, tanto en la fase de condicionamiento, como en las pruebas se deben al efecto central de esta droga, y permiten descartar que los resultados obtenidos sean producto de los efectos periféricos de la droga.

Durante la prueba al condicionamiento al contexto no se observaron diferencias entre los grupos, esto puede deberse a que la prueba no fue lo suficientemente sensible para analizar el nivel de condicionamiento, por lo cual, es necesario pensar en una prueba que evalúe de manera más confiable el condicionamiento al contexto durante la prueba. Para ello se podría incluir un grupo de sujetos a los cuales se les administre las sustancias previo a las sesiones de prueba, de manera similar a la administración en la fase de adquisición para descartar que los resultados se deban a una combinación del efecto del contexto físico sumado al contexto interno (i.e. el estado producido por la droga), debido a que existe evidencia que muestra que el contexto modula la recuperación de información. Por ejemplo, se ha observado que la probabilidad de ocurrencia de una respuesta disminuye cuando se expone a los sujetos a un contexto diferente del utilizado en el condicionamiento de esta respuesta (Bouton, 1994), este fenómeno es conocido como efecto de post-adquisición del cambio contextual. Este efecto ha sido reportado en experimentos de supresión condicionada (Riccio, Ackil, & Burch-Vernon, 1992), así como en procedimientos de condicionamiento instrumental apetitivo (Nakajima, Tanaka, Urushihara, & Imada, 2000). Una posible explicación de este efecto se relaciona con el

decremento por generalización (Mackintosh, 1974) donde la probabilidad de ocurrencia de una respuesta está determinada por la semejanza o diferencia percibida entre dos situaciones. Es decir, el decremento en la respuesta observado puede explicarse en términos del cambio de contexto percibido por el sujeto. En este caso en particular la diferencia del estado interno de los sujetos entre la fase de adquisición, en la cual estaban bajo los efectos de las sustancias (i.e. escopolamina y metilescopolamina) y las sesiones de prueba en las cuales no se administró la sustancia a los sujetos, pueden ser un punto de controversia en la interpretación de los resultados considerando que ambos tipos de contexto podrían ser percibidos por los sujetos como uno solo y que el hecho de omitir uno de ellos genere que la representación sea distinta a la percibida durante la fase de adquisición. Adicionalmente se podría evaluar la capacidad del *EC* para evocar la *RC* en el mismo contexto (contexto familiar + tono) o en un contexto diferente (contexto novedoso + tono). De esta manera se podría hacer un análisis del papel del contexto en la adquisición de la respuesta, así como su interacción con el *EC* en la evocación de esta.

Los datos obtenidos muestran que la administración sistémica de escopolamina interfiere con el condicionamiento de una respuesta apetitiva, aunque debe tomarse en cuenta que no se puede asegurar que dicho efecto se deba al bloqueo de los receptores muscarínicos exclusivamente el hipocampo, ya que la administración sistémica de escopolamina no permite discernir el lugar de acción preciso en el cerebro. A fin de eliminar esta confusión se sugiere realizar una infusión directa en el hipocampo, así como en otras estructuras que han sido ligadas con la adquisición de tareas apetitivas y que tienen aferentes colinérgicos

(i.e. amígdala y núcleo accumbens) de esta manera se podría evaluar que tanto de la red de estructuras implicada en el condicionamiento contextual de otras respuestas (i.e. condicionamiento contextual de miedo) está implicada en el establecimiento de dichas representaciones en el condicionamiento apetitivo.

## 7. Referencias.

- Ambrogio Lorenzini, C.G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. y G. Tassoni. Neural topography and chronology of memory consolidation: a review of functional inactivation findings. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71, 1-18.
- Anagnostaras, S.G., Maren, S., Sage, J. R., Goodrich, S y Fanselow, M.S. (1999) Scopolamine and pavlovian fear conditioning in rats: dose-effects analysis. *Neuropsychopharmacology*, 21 (6), 731-744.
- Anagnostaras, S.G., Maren, S. y Fanselow, M.S. (1995) Scopolamine selectively disrupts the acquisition of contextual fear conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 64 (3), 191-194.
- Agrawal, R., Ethika, T, Gunajn, S. y Chandishwar, N. (2009). Cholinergic influence on memory stages: a study on scopolamine amnesia mice. *Indian Journal of Pharmacology*, 41 (4), 192-196.
- Blokland, A. (1996) Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews*, 21, 285-300.
- Bouton, M.E. y Nelson, J.B. (1998) The role of context in classical conditioning: Some implications for cognitive behavior therapy, en: *Learning and behavior therapy*. Needham Heights, MA, US: Allyn & Bacon, xxiii, (pp. 59-84).
- Bouton, M. E. y Ricker, S. T. (1994). Renewal of extinguished responding in a second context. *Animal Learning and Behavior* , 22 (3), 317-324.
- Bouton, M. E. (1991). Context and Retrieval in Extinction and in Other Examples of Interference in Simple Associative Learning. In Dachowski & Flatherty

- (Eds.), *Current Topics in Animal Learning: Brain, Emotion and Cognition*. Hillsdale, NJ, USA: Lawrence Erlbaum Associates.
- Brown, J.H. y Taylor, P. (2006) Muscarinic receptor agonists and antagonists. En: *The pharmacological basis of therapeutics*. 10<sup>a</sup> Ed. Nueva York, EU: McGraw-Hill, pp. 141-160.
- Domjan, M. (2005) Pavlovian conditioning: a functional perspective. *Annual Review of Psychology*, 56, 179-206.
- Eichenbaum, H., Stewart, C. y Morris, R.G. (1990). Hippocampal representation in place learning. *The Journal of Neuroscience*, 10 (11), 3531-3542.
- Fanselow, M. S. (1997) Electrolitic lesions of the fimbria fornix, dorsal hippocampus, or enthorinal cortex produces anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67, 142-149.
- Gordon, W.C. y Klein, R.L. (1994) Animal memory: The effects of context change on retention performance. Animal learning and cognition. En: *Animal learning and cognition, Handbook of perception and cognition series*. 2<sup>a</sup> Ed. San Diego, CA, EU: Academic Press, xviii, pp. 255-279.
- Goodman, L.D. y Gilman A. (2005) *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10<sup>a</sup> Ed. Nueva York, EU: McGraw-Hill.
- Holland, P.C. y Bouton, M.E. (1999) Hippocampus and context in classical conditioning. *Current Opinion in Neurobiology*, 9, 195-202.
- Holland, P.C. (1990) Event representation in pavlovian conditioning: image and action. *Cognition*, 37, 105-131.
- Jarrard, L. E. (1993) On the role of hippocampus in learning and memory in the rat.

*Behavioral and Neural Biology*, 60 (1), 9-26

Jones, D.N.C. y Higgins, G.A. (1995) Effect of scopolamine on visual attention in rats. *Psychopharmacology*, 120 (2), 142-149.

Kandel, E.R. (2001). The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. *Science* 294: 1030-1038.

Kim, J. J. y Fanselow, M.S. (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675-677.

Lieberman, D. A. (2000) *Learning: Behavior and Cognition*. 3<sup>a</sup> Ed. Wadsworth Thomson Learning.

Lovibod, P.F., Preston, G.C. y Mackintosh, N.J. (1984) Context specificity of conditioning, extinction, and latent inhibition. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 10(3), 360-375.

Mackintosh, N. (1974). *The Psychology of Animal Learning*. London: Academic Press.

Menahem S., Disterhoft, J.F. y Olds, J. (1971) Hippocampal Unit Activity during Classical Aversive and Appetitive Conditioning. *American Association for the Advancement of Science*, 175, (4023) pp. 792-794

Morris, R. G. M., Moser, E. I., Riedel, G., Martin, S. J., Sandin, J., Day, M. y O'Carroll, C. (2003) Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 358, 773–786

- Nail-Boucherie, K., Dourmap, N., Jaffard, R. y Costentin, J. (2000) Contextual fear conditioning is associated with an increase of acetylcholine release in the hippocampus of rat. *Cognitive Brain Research*, 9, 193-197.
- Nakajima, S., Tanaka, S., Urushihara, K. e Imada, H. (2000). Renewal of Extinguished Lever-Press Responses upon Return to the Training Context. *Learning and Motivation*, 31 (4),416-431.
- Phillips, R.G. y LeDoux, J.E. (1994) Lesions of the dorsal hippocampus interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. *Learning and Memory*, 1, 34-44.
- Pratt, W.E. y Keley, A.E. (2004) Nucleus Accumbens Acetylcholine Regulates Appetitive Learning and Motivation for Food via Activation of Muscarinic Receptors. *Behavioral Neuroscience*, 118(4), 730-739
- Rescorla, R.A. (1988) Pavlovian conditioning: it's not what you think it is. *American Psychologist*, 43 (3), 151-160.
- Riccio, D., Ackil, J. K. y Burch-Vernon, A. (1992). Forgetting of stimulus attributes: Methodological implications for assessing associative phenomena. *Psychological Bulletin*. 112,433-445.
- Rudy, J.W., Huff, N.C. y Matus-Amat, P. (2004) Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 675-685.
- Rudy, J. W. (1996) Scopolamine Administered before and after Training Impairs both Contextual and Auditory-Cue Fear Conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65, 73-81.

- Sutherland, R.J. y Rudy, R.W. (1989) The hippocampal formation is necessary for rats to learn and remember configural discriminations. *Behavioural Brain Research*, 34 (1-2), 97-109.
- Tolman, E.C. y Honzik, C.H. (1930) Introduction and removal of reward, and maze performance in rats. University of California Publications, 4, 257-275.
- Van Haaren, F. y Van Hest, A. (1989) The effects of scopolamine and methylscopolamine on visual and auditory discriminations in male and female Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(3), 707-710.
- Welker, R.L. y McAuley, K. (1978) Reductions in resistance to extinction and spontaneous recovery as a function of changes in transportational and contextual stimuli. *Animal Learning & Behavior*, 6 (4), 451-457.