



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**“ANÁLISIS DEL EFECTO INMEDIATO, A  
LARGO PLAZO Y DE LA ABSTINENCIA A  
DIAZEPAM SOBRE LA DISCRIMINACIÓN  
Y GENERALIZACIÓN DE ESTÍMULOS  
CON ESCOPOLAMINA”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**  
P R E S E N T A:  
**LEONARDO WEISSMANN SÁNCHEZ**

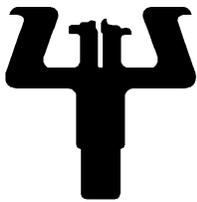
DIRECTOR DE TESIS: DR. CÉSAR CASASOLA CASTRO

REVISOR DE TESIS: DR. HUGO SANCHÉZ CASTILLO

SINODALES: DR. OSCAR ZAMORA ARÉVALO

DR. OSCAR RICARDO GALICIA CASTILLO

LIC. KARINA SIMÓN ARCEO



® Facultad  
de Psicología

MÉXICO, D.F. Marzo 2012.



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.

## ÍNDICE

### RESUMEN

<b>1. INTRODUCCIÓN.</b>	4
<b>2. BENZODIACEPINAS.</b>	8
2.1. Definición y desarrollo.	8
2.2. Farmacocinética y farmacodinamia de las benzodiazepinas.	11
2.2.1. Farmacocinética.	11
2.2.2. Farmacodinamia.	13
2.3. Efectos de las benzodiazepinas.	15
2.4. Efecto de las benzodiazepinas sobre la memoria.	18
<b>3. MEMORIA.</b>	19
3.1. Definición de la memoria.	19
3.2. Historia del estudio científico de la memoria.	21
3.3. Clasificación de la memoria.	26
3.4. Historia del estudio farmacológico de la memoria.	30
3.5. Memoria y benzodiazepinas.	32
<b>4. DISCRIMINACIÓN DE DROGAS.</b>	38
4.1. Discriminación de drogas y control de estímulos.	38
4.2. Generalización de estímulos.	42
4.3. Discriminación de drogas con escopolamina.	44
<b>5. JUSTIFICACIÓN.</b>	47
<b>6. OBJETIVO GENERAL.</b>	48
6.1. Objetivos específicos.	48
<b>7. MÉTODO.</b>	49
7.1. Sujetos.	49
7.2. Aparatos.	49
7.3. Fármacos.	50
7.4. Procedimientos.	50
7.5. Análisis de datos.	53
<b>8. RESULTADOS.</b>	56
8.1. Adquisición del control de estímulos con escopolamina.	56
8.2. Generalización con escopolamina.	57
8.3. Diazepam y generalización con escopolamina.	58
8.4. Efectos a largo plazo del diazepam.	60
8.5. Abstinencia a diazepam y generalización.	62
<b>9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.</b>	65
9.1. Conclusiones.	71
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	72

## RESUMEN

Se ha demostrado que la administración aguda o a largo plazo de benzodiazepinas puede producir alteraciones de la memoria en distintos organismos, estas alteraciones son similares a los efectos amnésicos observados de forma posterior a la administración de drogas anticolinérgicas. Sin embargo, cuando la administración de alguno de estos compuestos, como el antagonista muscarínico escopolamina o la benzodiazepina diazepam, es empleada como estímulo discriminativo en procedimientos de discriminación de drogas, diversas especies son capaces de adquirir la asociación entre la administración del fármaco y la emisión de respuestas específicas. A la fecha, no se ha evaluado el efecto de las benzodiazepinas sobre la discriminación, previamente aprendida, de drogas anticolinérgicas. Por lo cual el objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la administración aguda de diazepam, sus efectos a largo plazo (90 días) y el efecto de la abstinencia a diazepam, sobre la discriminación y generalización de estímulos con escopolamina.

Se emplearon 30 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso corporal de 250-300 g al inicio del experimento. Los sujetos fueron entrenados a discriminar entre la administración de escopolamina (1.0 mg/kg, i.p.) y solución salina al 0.9% (1.0 ml/kg, i.p.), empleando para ello el procedimiento clásico de discriminación de drogas con 2 palancas. Una vez que los sujetos alcanzaron los criterios de adquisición en el procedimiento de discriminación, fueron asignados aleatoriamente a alguna de las siguientes condiciones: 1) grupo con administración aguda de diazepam (1.0 mg/kg, i.p.), 2) grupo con abstinencia a diazepam (7.0 mg/kg/10 días, i.p.) o 3) grupo control. En cada uno de los grupos se obtuvo curvas de generalización mediante la administración de seis dosis diferentes de escopolamina (0.0, 0.0564, 0.09, 0.16, 0.31 y 1.0 ml/kg, i.p.). Adicionalmente, 90 días después de la primera evaluación, el grupo con administración de diazepam y su control, fueron sujetos a una segunda evaluación en generalización. Lo anterior con el fin de conocer los efectos a largo plazo de la administración de la benzodiazepina.

La administración aguda de diazepam produjo una disminución significativa en el gradiente de generalización de la escopolamina. La alteración en la capacidad de generalización inducida por el diazepam se mantuvo incluso 90 días después de su administración. Por su parte la abstinencia a diazepam produjo un aplanamiento total de la curva de generalización para la escopolamina y una disminución significativa en la tasa de respuestas. Los resultados sugieren que la administración de diazepam disminuye de forma severa la capacidad de los sujetos para discriminar estímulos farmacológicos anticolinérgicos. Mientras que la abstinencia a estos compuestos afecta diversos sistemas funcionales y por tanto a la capacidad de discriminación.

**Palabras clave:** Benzodiazepinas, diazepam, síndrome de abstinencia, aprendizaje, memoria, discriminación de drogas, acetilcolina, generalización y escopolamina.

## 1. INTRODUCCIÓN

La memoria es una de las funciones neurocognoscitivas más importantes en los organismos. La capacidad para adquirir, consolidar, almacenar y recuperar información del medio ambiente a través de la experiencia es una propiedad adaptativa que resulta indispensable al resto de las funciones cognoscitivas (Gonheim, 2004). La alteración en los procesos relacionados con la memoria o en alguno de los componentes que la constituyen, genera severos trastornos en distintos niveles de organización de la conducta, así como en el funcionamiento óptimo del organismo en relación con el medio en el cual se desarrolla.

Debido a su relevancia, diversas disciplinas científicas han dedicado un importante esfuerzo en el estudio y comprensión de la memoria. Las neurociencias de la conducta y la psicobiología han generado una gran cantidad de investigación en torno a este proceso cognoscitivo con el fin de explicar los elementos que lo constituyen, los mecanismos neuronales y los procesos cerebrales que subyacen a su funcionamiento, así como las condiciones y características del medio ambiente que producen algún tipo de modificación en la memoria. Dentro de estas perspectivas científicas, la farmacología ha sido una importante aproximación y herramienta de estudio de la memoria, a través de la farmacología se ha analizado la interacción de diversos compuestos químicos con los mecanismos de la memoria y se ha evaluando el efecto que diversas drogas producen sobre los sistemas y procesos neuronales vinculados con la memoria (Kandel et al., 2001). Asimismo, se ha constatado que fármacos, cuya función, utilidad y acción terapéutica originales no tienen relación alguna con la memoria, son capaces de producir cambios o efectos inesperados sobre la adquisición, consolidación, almacenamiento o recuperación de la información (Gonheim, 2004), este es el caso de los psicofármacos denominados

benzodiazepinas. La literatura especializada en el área, ha reportado frecuentemente que las benzodiazepinas son capaces de producir efectos amnésicos. La pérdida parcial o completa de la memoria, o bien la incapacidad para recordar información derivada de la experiencia ha sido definida como amnesia (Tulving y Schacter, 1990).

Las benzodiazepinas son compuestos sintetizados desde su origen, con la premisa de lograr fármacos que contrarresten un amplio espectro de síntomas indeseados en los pacientes. Las indicaciones terapéuticas de las benzodiazepinas se asocian a síntomas tales como: la ansiedad, tensión muscular, estrés, convulsiones, trastornos de sueño, conductas violentas y dolor entre otros. La prescripción de estos fármacos tiene poco más de medio siglo de historia, no obstante, debido a su eficacia terapéutica, relativa buena tolerancia, así como condiciones sociales, demográficas y epidemiológicas, su empleo se ha incrementado de manera exponencial con el paso de los años, al grado de ser los medicamentos de mayor consumo durante la década de los ochenta (Buffett-Jerrott y Stewart, 2002). Sin embargo y a pesar de su relativa buena tolerancia, las benzodiazepinas presentan algunos efectos secundarios adversos, entre los cuales se han señalado a la sedación, problemas de carácter atencional e interferencia con la memoria. En la literatura concerniente a este último aspecto, se ha reportado que el uso terapéutico, la administración prolongada o la administración libre de benzodiazepinas tiene repercusiones negativas sobre los procesos de memoria, particularmente se ha reportado la ocurrencia de un fenómeno inespecífico conocido como amnesia anterógrada (Buffett-Jerrott et al., 1998; Buffett-Jerrott y Stewart, 2002; Gonheim, 2004), la cual se considera como la inhabilidad para recordar hechos posteriores a la aparición del agente causante o bien, la incapacidad para consolidar información y formar nuevas memorias (Buffett-Jerrott, 2002).

En humanos, el efecto amnésico de las benzodiazepinas ha sido reportado empleando distintos procedimientos o tareas de memoria, es el caso de la evocación libre o demorada de palabras (Nogueira et al., 2006), de sílabas sin sentido (Izaute y Bacon, 2006; Mintzer et al., 2006), en tareas de evocación y reconocimiento de objetos e imágenes (Rammsayer et al., 2000; Rush and Baker, 2001), de información verbal (Munte et al., 1996; Coull et al., 1999) o en la ejecución de la tarea de igualación a la muestra con demora (Robbins et al., 1997).

Los efectos negativos de las benzodiazepinas sobre la memoria son fácilmente modelables en animales no humanos. Por ejemplo, estos efectos se han observado en roedores en el laberinto de agua de Morris (Cain, 1997; Hogan et al., 2005; Anand et al., 2007) o en la recuperación de información previamente aprendida en el laberinto T (Borde et al., 1997). Incluso, algunas amnesias orgánicas, aquellas que ocurren sin la intervención de un fármaco, tienen ciertas características en común con la amnesia inducida por benzodiazepinas, lo que haría que modelos experimentales de estas últimas sean de utilidad para el estudio de las amnesias con origen neurológico (Gonheim, 1990).

Adicionalmente las benzodiazepinas, como muchas otras drogas, presentan un efecto secundario derivado del retiro súbito o repentino de la administración prolongada de estos compuestos, este efecto se caracteriza por un conjunto de síntomas y signos denominados síndrome de abstinencia. El síndrome de abstinencia a las benzodiazepinas es similar al observado en compuestos con características farmacológicas comunes a las benzodiazepinas como los barbitúricos y el alcohol. El síndrome de abstinencia a este tipo de compuestos se caracteriza por irritabilidad, ansiedad, temblor, cambios sensorio-perceptuales, alucinaciones y una gran variedad de crisis o patrones convulsivos, usualmente generalizados (Marciani et al., 1985; Davies et al., 1987; Mzrray, 1990; Lader,

1994). Tanto las benzodiazepinas como los barbitúricos y el alcohol, actúan principalmente sobre el receptor GABAérgico  $GABA_A$ , incrementando la actividad de este receptor y aumentando la inhibición neuronal (Olsen y Avoli, 1997).

Los efectos negativos de las benzodiazepinas sobre la memoria son similares a los efectos amnésicos clásicos que son observados de forma posterior a la administración de algunas drogas anticolinérgicas, como es el caso de la escopolamina, antagonista muscarínico (Mintzer y Griffiths, 2003b; Rammsayer et al., 2000). Sin embargo, a pesar de sus efectos amnésicos, tanto la administración de diazepam como la de escopolamina, puede ser asociada por distintas especies con respuestas condicionadas durante el aprendizaje de procedimientos de discriminación de estímulos, como es el caso de la tarea de discriminación de drogas, sin que hasta el momento se haya evaluado el efecto de las benzodiazepinas sobre la capacidad de los organismos para discriminar fármacos anticolinérgicos.

Por lo tanto el objetivo del presente estudio fue analizar en ratas el efecto inmediato, el efecto a largo plazo (90 días) y el efecto de la abstinencia a la benzodiazepina diazepam, sobre la recuperación de información en una tarea de discriminación de estímulos, empleando como estímulo discriminativo la administración del fármaco antimuscarínico escopolamina.

## **2. BENZODIACEPINAS**

### **2.1. Definición y desarrollo**

Las benzodiazepinas son los sedantes hipnóticos más importantes en la farmacología contemporánea. El mecanismo de acción de las benzodiazepinas contribuye en grados variables a los efectos sedantes, hipnóticos, relajantes musculares, ansiolíticos y anticonvulsivos que caracterizan a este grupo farmacológico.

Los sedantes hipnóticos antiguos deprimen al Sistema Nervioso Central (SNC) de una manera dependiente de la dosis (Goodman y Gilman, 2007), a diferencia de las benzodiazepinas, las cuales tienen sólo una capacidad limitada para generar depresión profunda y potencialmente letal del SNC, por lo que también son utilizadas para generar sedación y amnesia antes o durante procedimientos quirúrgicos u operatorios (Goodman y Gilman, 2007).

Es importante mencionar, que si bien las benzodiazepinas tienen un efecto tanto sedante como hipnótico, estos dos efectos no son iguales y tampoco se producen con la misma intensidad. La diferencia entre sedantes e hipnóticos radica básicamente, en que los primeros disminuyen la actividad, moderan la excitación y tranquilizan en general a la persona que los recibe, mientras que un hipnótico produce somnolencia y facilitan el inicio y la conservación de un estado de sueño similar al sueño natural en cuanto a sus características electroencefalográficas (Goodman y Gilman, 2007). La producción de un efecto predominantemente sedante o hipnótico depende del tipo de benzodiazepina administrada, de su estructura química y de sus propiedades específicas, de aquí que para el tratamiento terapéutico de casos particulares se prescriban benzodiazepinas de forma diferencial. Actualmente existen una gran variedad de estos fármacos y se siguen

sintetizando nuevos compuestos con el fin de abarcar la mayor cantidad posible de síntomas, así como de lograr benzodiazepinas cada vez más específicas y efectivas.

El término benzodiazepina se refiere a la parte de la estructura compuesta por un anillo de benceno fusionado con un anillo de diazepina de siete miembros (Goodman y Gilman, 2007). Diversas modificaciones en la estructura de los sistemas de anillos han producido compuestos con actividad similar. De esta forma un sustitutivo metilo en la posición cuatro, es un aspecto estructural importante del antagonista de la benzodiazepina conocido como flumazenil (Haefely, 1994). Además de los derivados de la benzodiazepina, se han sintetizado varios compuestos no benzodiazepínicos que compiten con las benzodiazepinas clásicas o con el flumazenil, por los sitios de unión específicos en el SNC (Gardner et al., 1993).

Desde la antigüedad se han utilizado sustancias y compuestos con el fin de inducir el sueño o disminuir los niveles de estrés en humanos. El primer agente que se introdujo de manera específica como sedante y poco después como hipnótico, fue el bromuro, lo cual ocurrió a mediados del siglo XIX (Goodman y Gillman, 2007). El perfeccionamiento de métodos más especializados para valorar los efectos de estos fármacos prepararon la escena para que en 1950 Leo H. Sternbach sintetizará el clordiazepóxido, la primera benzodiazepina tranquilizante, así como del descubrimiento de su peculiar patrón de acciones por Randall (Sternbach, 1980). La síntesis del clordiazepóxido ocurrió de manera fortuita. Cuando la obtención de diversos compuestos tenía por intención principal lograr uno que tuviera marcados efectos tranquilizantes y relajantes en el organismo, Sternbach sintetizó muchas y diferentes heptoxdiacinas, compuestos que constan de anillos con siete elementos. La búsqueda de Sternbach alcanzó la síntesis de cerca de cuarenta compuestos, después de lo cual, encontró que la estructura designada de estas heptoxdiacinas era incorrecta: no eran

compuestos con anillos de siete elementos, sino anillos de seis elementos: quinazolinas de tres óxidos (Sternbach, 1980). Sternbach decidió tratar una de aquellas quinazolinas con metilamina, una amina primaria, de esta forma logró un nuevo compuesto, el Ro 5-0690, el cual resultó tener efectos hipnóticos y sedativos completamente inesperados en ratones (Randall, 1961). Posteriormente, el análisis químico evidenció que el tratamiento con metilamina del precursor no resultó en el derivado esperado, en lugar de ello se produjo un reacomodamiento y alargamiento del anillo heterocíclico que derivó en una estructura de anillos de siete miembros (Sternbach, 1980). El Ro 5-0690 fue a diferencia de los otros compuestos, un resultado del tratamiento con metilamina y no un derivado directo de la quinazolina, al que se nombró metaminodiacepóxido, posteriormente modificado a clordiacepóxido (Sternbach, 1980).

Los efectos más impactantes, durante el periodo de evaluación del nuevo fármaco, fueron los cambios conductuales inducidos en animales agresivos. A raíz de estos descubrimientos, el clordiacepóxido fue evaluado durante muchos años en una gran cantidad de especies animales en laboratorios, con el objeto de comprobar y ratificar los efectos conductuales para los que había sido creado: reducción en la irritabilidad, agresividad y conductas violentas, disminución en la actividad locomotora, relajación y distensión muscular, efectos analgésicos, antiinflamatorios e incluso, bajo administración crónica, como estimulante del apetito (Randall, 1961). Además, los efectos adversos evaluados en aquel entonces, resultaron ser mínimos: una toxicidad casi inexistente y ausencia absoluta de efectos teratógenos, sumado a una alteración insignificante de la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea (Randall, 1961).

## **2.2. Farmacocinética y farmacodinamia de las benzodiazepinas**

### **2.2.1. Farmacocinética**

Todas las benzodiazepinas son bases orgánicas débiles, son muy liposolubles y se absorben rápido y completamente por vía oral, salvo el clorazepato que se descarboxila rápidamente en el jugo gástrico para luego absorberse por completo (Goodman y Gilman, 2007). La velocidad de absorción de las benzodiazepinas, depende de varios factores, siendo el más importante la lipofilia. La solubilidad en los lípidos es primordial para determinar la velocidad a la que un sedante hipnótico penetra el SNC. Así, los efectos en SNC de los fármacos y compuestos menos liposolubles, serán de inicio más lento, como es el caso del clordiazepóxido y lorazepam. Las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de las benzodiazepinas afectan en gran medida su utilidad clínica. En la forma no ionizada, todas se distribuyen de manera alta en lípidos y agua; de todas maneras, su lipofilia varía más de 50 veces, según la polaridad y la electronegatividad de los diversos sustitutos (Goodman y Gilman, 2007).

La actividad de las benzodiazepinas de acuerdo a su vida media, es decir el tiempo que pasa después de una sola dosis para que la concentración en la sangre disminuya a la mitad de su valor máximo, se pueden clasificar en las siguientes cuatro categorías: 1) benzodiazepinas de acción ultra breve, 2) agentes de acción breve con vida media menor de seis horas, 3) agentes de acción intermedia con una vida media de 6 a 24 horas y 4) agentes de acción prolongada con una vida media mayor a 24 horas (Goodman y Gilman, 2007).

El comienzo de la acción de las benzodiazepinas después de una dosis oral refleja el grado de absorción gastrointestinal (aproximadamente 30 min.), la duración de la acción demuestra el porcentaje de distribución en tejidos periféricos, así como el grado de unión a

proteínas plasmáticas y el porcentaje de aclaramiento y eliminación (Goodman y Gilman, 2007).

Las benzodiazepinas son transportadas por la circulación sistémica a la circulación cerebral capilar, estos agentes tienen alto grado de unión, del 80-95%, a proteínas plasmáticas, albúmina principalmente y debido a su escasa fracción libre, pasan poco al líquido cefalorraquídeo. El diazepam es la benzodiazepina más soluble, es por ello que atraviesa rápidamente la barrera hematoencefálica, realiza un rápido equilibrio entre la sangre y el tejido cerebral y se concentra con facilidad en este último (Goodman y Gilman, 2007).

En general las benzodiazepinas son *metabolizadas* primariamente por enzimas microsomales hepáticas, sufriendo oxidación microsomal (fase I) y luego glucuronoconjugación (fase II) (Goodman y Gillman, 2007). La mayoría de las benzodiazepinas deben ser primero oxidadas (metabolitos activos, fase I) y luego conjugadas (metabolitos inactivos, fase II). Los metabolitos oxidados son activos y pueden ligarse o unirse al receptor de las benzodiazepinas. Los metabolitos glucurono-conjugados son inactivos y se excretan con facilidad (Goodman y Gilman, 2007).

Otros agentes benzodiazepínicos de vida media más prolongada producen metabolitos que pueden circular por más de 200 horas en plasma. Cuando se utilizan drogas de vida media, las dosis repetidas se acumulan incrementando la probabilidad de producir sedación matinal, pero aparentemente sin un efecto “rebote” de insomnio (Kaplan, 1980).

La *eliminación* del fármaco ocurre por filtración y secreción tubular principalmente metabolitos glucurono-conjugados y en menor cantidad los oxidados.

En el caso particular del diazepam, benzodiazepina cuyo nombre comercial es Valium® y sus principales vías de administración son: oral, intramuscular, intravenosa y rectal, la vida

media es de aproximadamente  $43 \pm 13$  horas. Su aplicación terapéutica, tiene como objetivo el tratamiento de: trastornos de ansiedad, estado epiléptico, relajación del músculo estriado y premedicación anestésica (Kaplan, 1980).

### **2.2.2. Farmacodinamia**

Las benzodiazepinas son agonistas alostéricos del ácido gamma-aminobutírico (GABA), el neurotransmisor inhibitorio más importante del SNC, la gran mayoría de la actividad farmacológica de las benzodiazepinas es producida por el aumento de los efectos de este neurotransmisor sobre sus receptores tipo GABA<sub>A</sub> (Haefely, 1994). El GABA es capaz de unirse e interactuar con tres tipos de receptores específicos: el receptor GABA<sub>A</sub>, el GABA<sub>B</sub> y el GABA<sub>C</sub>, cada uno de ellos con propiedades fisiológicas y farmacológicas diferentes, siendo el GABA<sub>A</sub> el más importante en relación a los efectos de las benzodiazepinas (Polc, 1988; Mehta y Ticku, 1999). El receptor GABA<sub>A</sub> es de especial relevancia, por ser el de mayor presencia en el SNC en cuanto a neurotransmisores inhibitorios se refiere, así como por su amplia distribución en el SNC y por tener la particularidad de poseer un sitio de unión para las benzodiazepinas (Tan, 2007).

El receptor GABA<sub>A</sub> pertenece a la familia de receptores ionotrópicos, es decir receptores asociados a un canal iónico y activados por ligando, estos receptores combinan en su estructura sitios de unión al ligando con un canal iónico o ionóforo, para el caso de los GABA<sub>A</sub> este canal es un cloróforo o canal de cloro. Una vez activados por el neurotransmisor, los receptores GABA<sub>A</sub> operan mediante la apertura de canales de cloro, lo cual aumenta la conductancia para este ión y produce efectos inhibitorios por hiperpolarización de la célula. Las benzodiazepinas son agonistas alostéricos GABA<sub>A</sub>, es decir, tienen afinidad por un sitio de unión diferente al del ligando endógeno, producen sus

efectos en el SNC incrementando el influjo de iones a través del canal del receptor y aumentando de esta forma la inhibición GABAérgica (Maubach et al., 2004; Kash et al., 2004; Hanson, 2008).

Los receptores GABA<sub>A</sub> son principalmente postsinápticos y están conformados por un ensamble heteropentamérico constituido por cinco subunidades, de las que a la fecha se han descrito diversas clases:  $\alpha$ 1-6,  $\beta$ 1-3,  $\gamma$ 1-3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$  y  $\rho$ 1-3 (Kash et al., 2004; Macdonald, 1994). Existe a su vez una familia de subunidades del receptor GABA<sub>A</sub> ( $\rho$ 1-3) que constituyen a un receptor ionotrópico atípico, por ser insensible al antagonista GABA<sub>A</sub> conocido como bicuculina así como a las benzodiazepinas, razón por la que se ha propuesto como un receptor diferente y al que se denominaría GABA<sub>C</sub>. Finalmente, el tercer receptor GABAérgico es el receptor GABA<sub>B</sub> el cual es un receptor metabotrópico o asociado a proteína G (Mehta y Ticku, 1999).

El sitio de unión de las benzodiazepinas se localiza en la cara superficial extracelular de los receptores GABA<sub>A</sub> y está formado por residuos localizados en al menos seis regiones no continuas en la interfase  $\alpha/\gamma$ , designados históricamente como “Loops A-F” (Sigel, 2002). Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , se presentan en la mayoría de receptores GABA<sub>A</sub>, siendo recurrente también la presencia de por lo menos una o más de las otras subunidades, entre las que destaca la  $\gamma$ 2 por aparecer con mayor frecuencia, pero sobre todo, por poseer una característica importante, ya que se ha señalado que la presencia de esta subunidad se asocia al 90% de los sitios a los que la benzodiazepina puede llegar a adherirse en el SNC (Gunther et al., 1995), aunque se refiere a cualquiera de las subunidades que van de  $\alpha$ 1 a  $\alpha$ 4 como el sitio de acción propiamente de las benzodiazepinas (Rudolph y Mohler, 2004). Lo anterior explica que la mayor sensibilidad a benzodiazepinas involucre la presencia de

al menos alguna de estas subunidades en combinación con cualquier subunidad  $\beta$  y la subunidad  $\gamma_2$ , siendo además este tipo de receptores los de mayor prevalencia en el cerebro, cómo ejemplifica el caso de la combinación  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ , la de mayor distribución en el SNC (Mohler, 2002).

El receptor GABA<sub>A</sub> posee un perfil farmacológico complejo, ya que está asociado con la unión a varios ligandos estructuralmente diversos, entre los cuales se incluyen: *moduladores positivos*, agonistas que potencian efectos del GABA mediante aumento en la conductancia del ión Cloro (flurazepam y zolpidem, por ejemplo), *moduladores negativos*, agonistas inversos que inhiben el efecto GABAérgico (como el DMCM) y *moduladores cero*, antagonistas que se unen al sitio de benzodiazepina, pero no tienen efecto alguno en el comportamiento del receptor (siendo ejemplo de esto el Ro 15-1788) (Hanson, 2008). Cabe mencionar que en lo que a este tema específico se refiere, tanto los elementos estructurales que relacionan la unión de la benzodiazepina a la modulación positiva o negativa del GABA, como los mecanismos mediante los cuales ligandos específicos de benzodiazepinas potencian dicha modulación, donde otros la inhiben (eficacia de la benzodiazepina), son datos de suma relevancia, que a la fecha se ignoran o se conoce muy poco acerca de estos.

### **2.3. Efectos de las benzodiazepinas**

Como se mencionó anteriormente, las benzodiazepinas se encuentran entre las drogas psicoactivas más ampliamente prescritas y consumidas. Su espectro farmacoterapéutico incluye el tratamiento de la ansiedad, el estrés, el insomnio, la epilepsia, el síndrome de abstinencia al alcohol, entre otros, y aunque las benzodiazepinas son fármacos bien tolerados y con un amplio margen de seguridad presentan algunos efectos adversos. Hasta

la década de los setenta, se asumió que las benzodiazepinas no tenían efectos cognitivos de mayor relevancia. Ahora en cambio, se sabe con claridad, que el uso de benzodiazepinas, puede tener un impacto evidente en la cognición humana, siendo los efectos más comunes e importantes, la sedación, la disminución en la capacidad de atención y los problemas de memoria (Buffet-Jerrott, 2003).

En el caso particular de la sedación inducida por la administración de benzodiazepinas, no fue considerada en un principio un efecto indeseado pues ayudaba a mantener en calma a pacientes previo a una intervención quirúrgica, por lo que fue hasta el tratamiento clínico por medio de su uso diario para tratar la ansiedad, que su aparición se consideró contraproducente e indeseable (Buffett-Jerrott, et al, 2002). A partir de ello, diversos reportes, tanto de observadores como de los propios participantes, han referido de forma subjetiva que la administración de benzodiazepinas induce niveles elevados de sedación, mientras que la medición objetiva ha podido corroborar una disminución en la ejecución de tareas de velocidad psicomotora y de procesamiento cognitivo posterior a la administración de benzodiazepinas (Buffett- Jerrott, et al, 2002).

En lo que al efecto de las benzodiazepinas sobre los componentes atencionales se refiere, diversos estudios demuestran que la velocidad y precisión durante la ejecución de tareas de atención presentaron una evidente disminución y deterioro en sujetos tratados con diazepam (Weingartner, 1993; Vidailhet, 1994; 1996; Coull, 1995). Resultados similares se han reportado para las benzodiazepinas triazolam (Carter, 1998; Weingartner, 1992), alprazolam (Weingartner, 1995) y oxazepam (Buffett-Jerrott, 2002).

Tanto los efectos de sedación como los problemas de atención han sido asociados en más de alguna ocasión con el efecto amnésico producido por las benzodiazepinas (Buffet-Jerrott, 2003), algunos estudios en los que se ha empleado análisis de covariancia han

señalado una relación entre la sedación y el efecto negativo inducido por benzodiazepinas en diferentes tareas de memoria (Buffet-Jerrott, 2003; Bishop, 1995). Aunque dificultades importantes para separar el efecto sedante del amnésico son frecuentemente asociadas a características propias del instrumento empleado, ya que en ocasiones este no mide estrictamente sedación y presenta un evidente y amplio componente de memoria, lo que puede vincular innecesariamente a ambos procesos (Buffett-Jerrott, 2002).

Por su parte, los problemas atencionales inducidos por la administración de benzodiazepinas, tienden a ser confundidos con dificultades psicomotoras, las cuales podrían influir a su vez en la ejecución de tareas que evalúan los procesos de consolidación, recuperación y evocación de la información (Curran, 1993). A diferencia de lo ocurrido con la sedación, diversos análisis han demostrado la inexistencia de intervención alguna por parte de los impedimentos atencivos sobre aquellos relacionados con memoria (Buffett-Jerrott et al., 1998).

Adicionalmente, una consideración de suma importancia en relación con el tratamiento con benzodiazepinas es que la administración prolongada de este tipo de compuestos produce tolerancia, dependencia y síndrome de abstinencia. El síndrome de abstinencia se constituye por un conjunto de síntomas y signos que resultan de la suspensión súbita en la administración de una droga. Para las benzodiazepinas, la abstinencia se caracteriza por irritabilidad, ansiedad, temblor, cambios sensoriales e incluso alucinaciones o una gran variedad de patrones convulsivos, usualmente generalizados (Lader, 1994; Doble y Martin, 1996). El efecto del síndrome de abstinencia sobre los procesos cognoscitivos no ha sido suficientemente explorado, por lo cual en el presente estudio también se analizará el efecto del síndrome de abstinencia a benzodiazepinas sobre un proceso de memoria derivado del aprendizaje asociativo (discriminación de estímulos colinérgicos).

## **2.4. Efectos de las benzodiazepinas sobre la memoria**

El efecto amnésico de las benzodiazepinas ha sido ampliamente estudiado (Buffett-Jerrott, 2002). La razón obedece a varios motivos, primero que el uso regular de las benzodiazepinas puede derivar en un deterioro tal de la memoria que afecte la vida diaria del consumidor. Segundo, a que los efectos amnésicos de las benzodiazepinas son similares a los síntomas de la amnesia orgánica, por lo que el estudio de los efectos de dichos fármacos ha estado orientado a entender mejor los mecanismos neurofisiológicos que subyacen a las amnesias (Gonheim, 1990). A lo anterior hay que agregar las ventajas metodológicas y técnicas del uso de las benzodiazepinas en el desarrollo de procedimientos más precisos y exactos, como es la facilidad que ofrece a investigadores obtener grupos comparables, pudiendo fungir los participantes del grupo experimental como sus propios controles (Gonheim, 1990). Adicionalmente, el empleo de herramientas farmacológicas (como en su caso las benzodiazepinas) en el estudio de la memoria es de suma utilidad para determinar si estos compuestos afectan diferencialmente los distintos sistemas y procesos de memoria propuestos por los diversos teóricos, si estos sistemas son distintos entre sí teóricamente, o si constituyen en sí procesos de la misma función cognitiva, sólo empíricamente separables (Gonheim, 1990; Buffett-Jerrott, 2002). La evidencia experimental específica sobre el efecto de las benzodiazepinas en la memoria será referida en el siguiente apartado, una vez descritas las características, procesos y sistemas de memoria que se han derivado de su estudio neurocientífico.

### **3. MEMORIA**

#### **3.1. Definición de la memoria**

Desde su origen, el estudio y análisis de la memoria ha sido motivo de tres disciplinas principales: la filosofía, la psicología y más recientemente la biología. Pero ha sido, sin duda alguna, la convergencia de la psicología y la neurobiología lo que ha conducido a una nueva dimensión de conocimiento acerca del aprendizaje, la memoria y los mecanismos que subyacen a su funcionamiento (Squire, 2009). Actualmente se sabe de la existencia de distintos sistemas de memoria, de la participación de diferentes estructuras cerebrales que llevan a cabo funciones específicas, de la codificación de la memoria en células nerviosas particulares, así como de su dependencia de cambios en la fuerza de sus interconexiones (Squire y Kandel, 2009).

Según Baddeley en su publicación: *Memoria humana: teoría y práctica*, la memoria humana es un sistema para el almacenamiento y la recuperación de información, misma que es obtenida mediante los sentidos (Baddeley, 1999).

La memoria es un proceso cognoscitivo, el cual se encarga de codificar, almacenar, organizar y recuperar información, dicho almacenamiento de la información comprende desde fracciones de segundos hasta una vida entera y desde diminutos almacenes de información hasta el sistema de memoria a largo plazo, que parece exceder ampliamente en capacidad y flexibilidad al mayor ordenador disponible (Baddeley, 2000).

Debido a que el aprendizaje y la memoria son procesos interdependientes Bermúdez y Prado (2001) definen a ambos procesos como propiedades del sistema nervioso que permiten adquirir, retener y evocar diferentes tipos de información. Esto faculta a los organismos para tomar ventaja de las experiencias previas, con el fin de resolver los

problemas actuales que impone el medio ambiente, por ejemplo, reconocer estímulos familiares, predecir eventos, regresar a lugares específicos y evaluar las consecuencias de diversas conductas.

Un sistema de memoria se define por sus mecanismos de adquisición, retención y evocación, los cuales se rigen por reglas de operación únicas. Es decir, dos o más sistemas son caracterizados por reglas de operación fundamentalmente diferentes (Bermúdez y Prado, 2001). Sin embargo, también se propone que hay un sólo sistema de memoria en el que existen múltiples procesos de operación o múltiples formas de acceder a su contenido (Squire, 2004).

De acuerdo a la literatura en el campo de las neurociencias, la memoria es el proceso que permite codificar, almacenar y recuperar información y que cuenta con procesos constitutivos habitualmente secuenciales, siendo estos, la adquisición (registro/codificación), la consolidación, la retención (almacenamiento) y la recuperación de la información (evocación). La *codificación* se refiere al impacto del estímulo sobre el sistema nervioso y a la formación de una representación en la memoria del mismo. La codificación es un proceso que consiste en la conversión de un estímulo sensorial a una forma que pueda ser situada en la memoria, para posteriormente ser adquirido o aprendido y representa la primera fase del procesamiento mnemónico. La *consolidación* es el proceso de formación en un registro mediante lo recién adquirido y aprendido, este es el paso de la memoria a corto plazo (MCP) a la memoria a largo plazo (MLP). Es además una etapa intermedia, en la que una porción de recuerdo que perdura de manera permanente se forma a través de una reorganización gradual en información que puede ser almacenada o retenida. La consolidación y almacenamiento ocurren preponderantemente en el hipocampo, en el lóbulo temporal medial, o bien en la neocorteza, donde la nueva

información se mantiene; este proceso ha sido asociado tanto con la síntesis de proteínas como con los cambios estructurales de los circuitos neuronales en dichas áreas. La *retención* consiste en que la representación de la información esté disponible posteriormente. Finalmente, la *recuperación* hace referencia al proceso de evocar la información que previamente se almacenó, implica extraer información proveniente del almacenamiento para ser evocada o recordada, siendo esta la última fase de la memoria y completando así el proceso íntegro (Rains, 2001; Ghoneim, 2004).

### **3.2. Historia del estudio científico de la memoria**

Con la introducción de la noción de sílabas sin sentido estandarizadas como componentes en evaluaciones homogéneas, por parte del psicólogo Ebbinghaus en 1885, se inició el estudio objetivo y cuantitativo de la memoria. La principal contribución de Ebbinghaus consistió en la determinación de tres fases experimentales para el estudio de la memoria: fase de codificación (presentación del material al sujeto), intervalo de retención y finalmente la fase de recuperación de lo previamente codificado (Ghoneim, 2004).

Apenas un lustro después el psicólogo William James, introdujo una importante distinción, dividiendo la memoria en dos tipos: la memoria primaria y la memoria secundaria (1980, citado en Baddeley, 2000). La primera, a corto plazo, dura de segundos a minutos y es esencialmente una extensión del presente, a diferencia de la MLP, cuya duración puede alcanzar semanas, meses o perdurar hasta el final de la vida, involucrando así, la búsqueda en el pasado (Squire, 2009).

A principios del siglo veinte, como consecuencia del éxito de los estudios de Ebbinghaus en memoria humana, e inspirado por la idea de Darwin que sustentaba la evolución de las capacidades mentales humanas a partir de las mismas en animales menos complejos, el

fisiólogo Iván Pavlov y el psicólogo Edward Thorndike, desarrollaron modelos animales para el estudio del aprendizaje. Trabajando de manera independiente cada uno descubrió un método experimental distinto para estudiar y explicar la conducta: Pavlov logró el descubrimiento del condicionamiento clásico, mientras que Thorndike describe el aprendizaje por ensayo y error y establece la ley del efecto, base para el desarrollo del condicionamiento instrumental, conocido más popularmente como condicionamiento operante (Squire, 2009). En el condicionamiento clásico, el animal aprende a asociar dos eventos, asociación que se traduce en la emisión de una respuesta ante la presentación de solamente uno de los dos eventos; en el condicionamiento instrumental el animal aprende la asociación entre respuestas y sus consecuencias, lo cual modifica de manera gradual la conducta del organismo (Squire, 2009). Este tipo de estudio, devino en una tradición empírica a la que se llamó conductismo, que terminó por cambiar el rumbo del estudio de la memoria. El conductismo, liderado por Watson, quien argumentaba que la conducta podía ser estudiada con el mismo rigor que cualquier ciencia natural. A mediados del siglo XX, el psicólogo Bartlett, demostró que la memoria es sorprendentemente frágil y susceptible a la distorsión (Squire, 2009).

En 1957 el trabajo de Brenda Milner (Scoville y Milner, 1957) y el estudio del paciente H.M., permitieron identificar la importancia del lóbulo temporal medio y especialmente del hipocampo en la formación de nuevas memorias. Estos estudios sentaron la base para distinguir con fundamentos neurocientíficos a diferentes tipos de memoria, este es el caso de la memoria declarativa y la memoria para habilidades motoras (de procedimiento).

Una década después, en los albores de los sesenta, Atkinson y Shiffrin publican un vasto artículo en el que describía sistemas de memoria basados en la temporalidad de la información. Atkinson y Shiffrin, describen entonces a la memoria sensorial, la MCP y la

MLP. La MCP recibe información de los registros sensoriales (visual, auditivo, etc.) y mediante una evaluación continua determina cuáles de los contenidos son transferidos a la MLP, o se pierden por el ingreso de nueva información. La MLP es vista como un almacén permanente en el que la información se mantendría de manera indefinida o sería sujeta a una eliminación autónoma (Atkinson y Shiffrin, 1968; 1971; Ghoneim, 2004).

En la década de 1970, la profundización y delimitación de los términos siguió con la distinción propuesta por Tulving para diferenciar dos tipos de memoria a largo plazo: la memoria episódica, aquella que registra eventos (momentos y lugares) particulares que una persona ha experimentado a lo largo de su vida y la memoria semántica, encargada de registrar los hechos o conocimientos generales que una persona ha aprendido a lo largo de su vida (Tulving, 1972). La recuperación episódica se acompaña de la autoconciencia. La memoria semántica, en cambio, se caracteriza por la ausencia de dicho tipo de conciencia, así, mientras en la memoria episódica la reconstrucción de un recuerdo viene acompañado de elementos emotivos y cognitivos, entre otros, en la semántica no existe sensación alguna de *revivir* la experiencia, puesto que no existe una referencia que permita asociar el recuerdo con la experiencia previa (Tulving, 1972). Tulving incorporó posteriormente un tercer sistema: memoria de procedimiento, sistema que comprende la memoria relacionada a los fenómenos perceptuales, motores y cognitivos.

Schacter, un alumno de Tulving, desarrolló una dicotomía más para el concepto de memoria a largo plazo, distinguiendo la memoria explícita de la implícita, refiriendo la primera a la recolección intencional y consciente de experiencias previas, y la segunda a cambios en la conducta producto de experiencias previas en evaluaciones que no requieren de ninguna recolección intencional o consciente (Schacter, 1992).

Hacia 1974, Baddeley y Hitch propusieron un concepto alternativo al de memoria a corto plazo, introduciendo el término *memoria de trabajo*, formada por tres componentes capaces tanto del almacenamiento como de la manipulación de la información: un bucle fonológico, responsable de la manipulación de información basada en el lenguaje, una agenda visoespacial, para el mantenimiento de información visual y espacial, así como para la creación y manipulación de imágenes visuales, y por último, un ejecutivo central para el control de la atención (Baddeley, 1999). Esta propuesta fue posteriormente descartada, por la inconsistencia prevaleciente entre una gran cantidad de información y la composición teórica del sistema (Ghoneim, 2004). Razón por la que posteriormente Baddeley sugirió un cuarto componente, al que llamó buffer episódico, asumiendo que actúa como un sistema de almacenamiento temporal capaz de retener información de los subsistemas que componían la memoria de trabajo, para posteriormente integrarla y vincularla con la memoria a largo plazo (Baddeley, 1999). Dicho buffer episódico estaría controlado por un ejecutivo central, el cual hace uso de la consciencia para recuperar la información (Baddeley, 1999).

Es a finales de la década de los setenta, que el neurobiólogo Eric Kandel, inicia la investigación de los mecanismos moleculares de la memoria. Dichas investigaciones permitieron comprender mejor el papel de la sinapsis durante el aprendizaje y la memoria a través del trabajo experimental en un modelo invertebrado, el molusco marino *Aplysia* y del trabajo con ratones (Ghoneim, 2004). La *Aplysia* presenta una importante ventaja de estudio experimental, mientras que el cerebro humano se estima esta constituido por cien mil millones de neuronas, el sistema nervioso central de la *Aplysia*, tiene aproximadamente veinte mil neuronas. Además, otra gran ventaja de la *Aplysia*, es el que la mayoría de sus pocas neuronas son distinguibles y pueden ser identificables como células únicas entre un

animal y otro, en parte por la gran magnitud de sus dimensiones (algunas llegan a medir un milímetro de diámetro), lo que permite su reconocimiento incluso prescindiendo de microscopio alguno. De esta forma se puede establecer un correlato entre la actividad conductual y la actividad neuronal individual y sistémica, lo que permitió establecer la participación de células específicas involucradas en conductas simples, sus conexiones y sus comportamiento en el circuito neuronal que le subyace al aprendizaje del animal (Squire, 2009). La *Aplysia*, a pesar de ser un organismo simple, tiene la capacidad para desarrollar diversos tipos de aprendizaje, así como el uso de memoria a corto y largo plazo. De esta manera, la *Aplysia* es capaz de presentar habituación (por ejemplo, la habilidad para aprender a ignorar un estímulo benigno que resulta trivial y carente de información), sensibilización (por ejemplo, una mayor respuesta de miedo en el que los animales aprenden a modificar su conducta cuando un estímulo supone una amenaza o riesgo potencial), así como la capacidad para aprender asociaciones correspondientes tanto al condicionamiento clásico como operante (Squire, 2009). En resumen, lo que Kandel demostró en la *Aplysia*, fue que ante la presencia de estímulos con características específicas ocurrían determinados cambios químicos en la sinapsis, resultando estos cambios en la base de la memoria a corto plazo, mientras que la asociación entre estímulos causaron cambios neuroquímicos y funcionales tanto en células presinápticas como postsinápticas, lo que resultó ser la base de la memoria a largo plazo (Ghoneim, 2004).

Como bien ilustran el desarrollo y progreso hasta ahora descritos, la memoria como objeto de estudio ha visto sometida su evolución a perspectivas y paradigmas de diferentes líneas teóricas y prácticas, tal ha sido el caso del conductismo, el cognoscitivismo, la biología y a fechas más recientes, la biología molecular. Cada forma de acercamiento ha aportado importantes avances en diferentes niveles, dependiendo de variables tan cambiantes, como

el desarrollo científico y técnico, el momento histórico en que se emprende un estudio o bien la tendencia de la ciencia en ese momento particular.

### **3.3. Clasificación de la memoria**

La memoria humana es entonces clasificable en sistemas y procesos, entendiendo por sistemas los tipos de memoria que son discriminables entre sí por sus características diferenciales, el tipo de información, las distintas estructuras y sistemas cerebrales asociados a su funcionamiento y funciones conductuales específicas sobre las que interviene. Los procesos, en cambio, son los elementos por los que la memoria está constituida y cuyo preciso funcionamiento es primordial para la correcta ejecución de la función cognoscitiva. De esta manera, la memoria se clasifica en sistemas según parámetros temporales (a corto y largo plazo), niveles de consciencia (explícita e implícita) y contenidos (eventos y hechos).

Una de las primeras clasificaciones de la memoria (Atkinson y Shiffrin, 1968; 1971) se basa en la temporalidad del almacenamiento de la información, esta clasificación contempla a la memoria sensorial, la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo. La memoria sensorial comprende breves impresiones sensoriales que permanecen posteriores a la extinción de un estímulo, este proceso ocurre de manera automática, sin control voluntario alguno. La memoria a corto plazo, por su parte, es un proceso con una capacidad pequeña de almacenamiento y de duración breve, en este proceso el individuo atiende de manera activa a estímulos (Murdock, 1971), a diferencia de la memoria a largo plazo la cual tiene una capacidad y duración ilimitada.

Las características de los dos tipos principales de almacenamiento con base en parámetros temporales (MCP y MLP), se describe en el siguiente esquema (ver tabla 1).

<b>MEMORIA</b>	
<b>MEMORIA A CORTO PLAZO (MCP)</b>	<b>MEMORIA A LARGO PLAZO (MLP)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Almacenamiento temporal</li> <li>• Capacidad limitada</li> <li>• Decaimiento extremadamente rápido</li> <li>• Representaciones auditivas, verbales y lingüísticas</li> <li>• La información se presenta en un formato muy superficial</li> <li>• No requiere cambios anatómicos o nueva síntesis de proteínas para ser retenida</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Almacenamiento permanente</li> <li>• Capacidad ilimitada</li> <li>• Rango más lento de olvido</li> <li>• Formas semánticas, visuales y temporales de almacenamiento</li> <li>• Información se almacena en términos de significancia individual</li> <li>• Requiere cambios estructurales y nueva síntesis de proteínas en el cerebro</li> </ul>

**Tabla 1.** Características de memoria a corto y largo plazo (Atkinson y Shiffrin, 1968; Feldman, 2002; Gazzaniga, 2002; Dudai, 2004).

La MLP es a su vez dividida en distintos sistemas de memoria, como ya se mencionó en función del tipo de información, los procesos, la función de la memoria y las estructuras o sistemas cerebrales que le subyacen. La principal división que se ha propuesto de la MLP es la que la subdivide en la memoria explícita o declarativa y la memoria implícita o no-declarativa, ambos tipos son distinguibles entre sí y ampliamente estudiados (Gonheim, 1990; Squire, 2004).

En los seres humanos la división entre memoria explícita e implícita se basa en parte en el carácter consciente o inconsciente del proceso y en la participación de la experiencia previa como un facilitador para la evocación de la información. Así pues, se hace uso de la memoria explícita cuando el participante está plenamente consciente de que su memoria está siendo evaluada, razón por la que debe procurar recordar la experiencia previa sin facilitación alguna posible. Caso contrario es el de la memoria implícita, en la cual el sujeto

es inconsciente del proceso de memoria, de la evaluación a la que está siendo sometido y puede valerse de la facilitación que la experiencia previa supone.

El nivel de consciencia que se tenga al evocar un recuerdo, determina por lo tanto si el tipo de memoria del que se está haciendo uso es explícita o implícita. Estas dos divisiones tienen también un importante número de características que son contrapuestas mediante el siguiente diagrama (ver tabla 2).

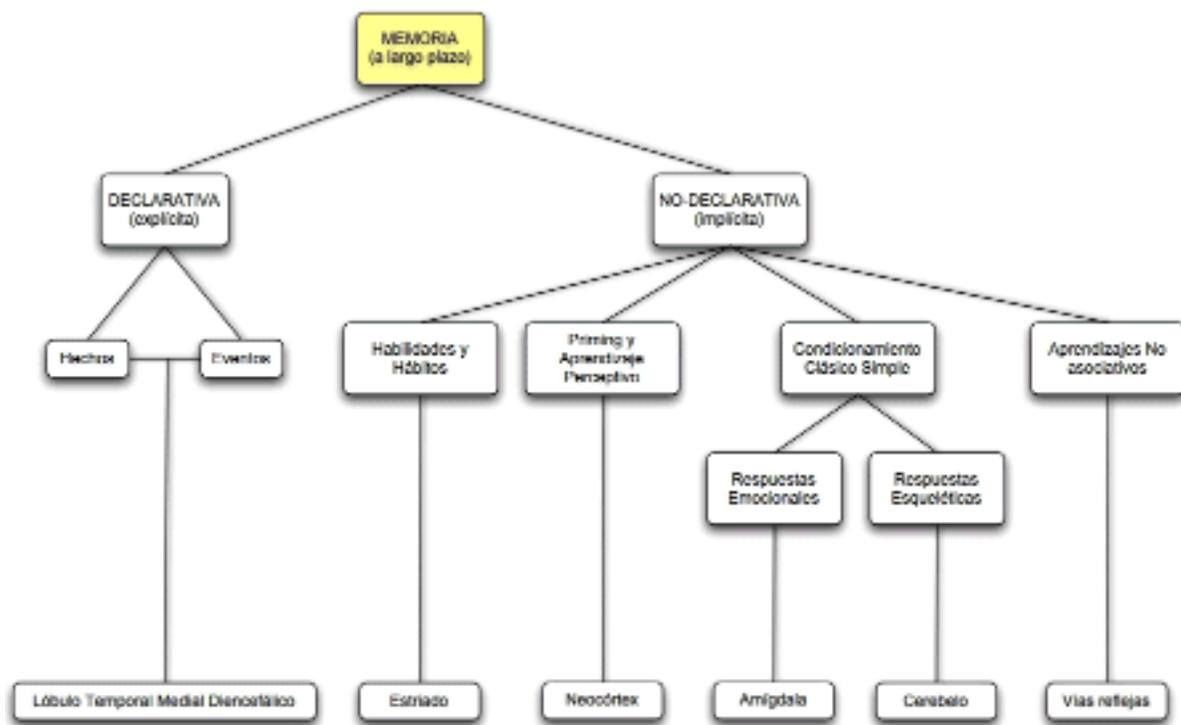
<b>MEMORIA A LARGO PLAZO</b>	
<b>Explícita</b>	<b>Implícita</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consciente, autónoma.</li> <li>• Involucra recolección de la información.</li> <li>• La información se evoca del pasado.</li> <li>• El hipocampo y el lóbulo temporal medial son estructuras cerebrales esenciales.</li> <li>• Evaluada generalmente a través de tareas de recuperación, recuperación con claves y reconocimiento.</li> <li>• Las evaluaciones son “intencionales”: se le indica al sujeto que atienda cuidadosamente al material presentado en virtud de una evaluación subsecuente de lo que recuerda de éste.</li> <li>• Se le pide a los sujetos que evoquen y reconozcan información previa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inconsciente, automática.</li> <li>• Potencia el procesamiento de un estímulo que fue presentado con antelación.</li> <li>• Ausencia de recuperación de información sobre ocurrencia posterior.</li> <li>• Diferentes formas dependen de diferentes regiones cerebrales, tales como: neocórtex, estriado, cerebelo, amígdala...</li> <li>• Evaluada por lo general con completamiento de palabras, asociaciones limitadas y tareas de asociación libre.</li> <li>• Las evaluaciones son “incidentales”, al sujeto NO se le informa sobre el test subsecuente que evaluará lo que atiende en el primero.</li> <li>• A los sujetos NO se les pide recordar, se les pide evocar y responder con la primera palabra que les venga a la mente.</li> </ul>

**Tabla 2.** Diferencias entre la memoria explícita e implícita (Tulving, 1985; Squire, 1991; Gardiner, 2000; Aschcraft, 2001; Nader, 2003).

La memoria como función es un proceso distribuido, en el que intervienen diferentes estructuras cerebrales y en el que un número igual de regiones y estructuras cerebrales se

ven involucradas en múltiples sistemas (Ghoneim, 2004). Así como la clasificación de la memoria puede elaborarse según la temporalidad de la información o los procesos involucrados, una taxonomía más amplia debe incluir los componentes neurobiológicos de la misma. La clasificación de los sistemas de memoria a largo plazo que actualmente se refiere mayormente en la literatura neurocientífica considera una organización de los diferentes tipos de memoria con base en los procesos, contenidos o tipo de información procesada, la función, así como las estructuras cerebrales que le subyacen. Esta clasificación de la memoria se muestra en el siguiente diagrama (Figura 1).

### Sistemas de memoria a largo plazo



**Figura 1.** Taxonomía de la memoria a largo plazo (MLP) en los mamíferos y las estructuras cerebrales asociadas (adaptado de Squire, 2004).

### **3.4. Historia del estudio farmacológico de la memoria**

A diferencia de lo que podría pensarse sobre el origen que la investigación con drogas tiene en la memoria, sus inicios preceden incluso al estudio sistematizado de la memoria iniciado por Ebbinghaus. La noción del efecto que las drogas tienen sobre la memoria, empezó en 1799, cuando Sir Humphrey Davy describió el efecto del óxido nitroso en la memoria (Ghoneim, 2004). Durante muchos años, el estudio de memoria con drogas, concernió de manera casi exclusiva al óxido nitroso, hasta que en 1848, John Snow reportó amnesia asociada a la inhalación de éter dietílico (Ghoneim, 2004).

Pero no fue sino hasta 1925, que Davidson reportó la primera investigación experimental controlada de una droga en la memoria y la cognición, usando óxido nitroso y acetileno (Ghoneim, 2004). Ambos químicos impedían la memoria, sin embargo dicho impedimento fue posteriormente relacionado a la dificultad de la tarea empleada para evaluar la función y a la alta concentración de la droga administrada (Ghoneim, 2004). Los estudios con óxido nitroso se extendieron hasta la década de los cincuenta, logrando una mayor claridad y precisión con relación al efecto que la droga tenía sobre la memoria; el óxido nitroso producía amnesia temporal, mediante el impedimento de la habilidad para almacenar información nueva y así reducir la interferencia de la información aprendida previamente a la administración de la droga.

A partir de entonces, las investigaciones con drogas hicieron especial énfasis en el método de administración de la droga y en la dosis, lo que condujo a los anesthesiólogos a realizar las contribuciones más importantes mediante reportes clínicos. Específicamente Dundee, Hardy y Wakely en la década de los sesenta, describieron las propiedades amnésicas de diferentes medicamentos, identificando a las benzodiazepinas y la escopolamina como

agentes farmacológicos causantes de diferentes tipos de amnesia, lo que llevó posteriormente a ambas drogas a ser las más investigadas por su relación con la memoria (Curran, 2000).

Con el resurgimiento de los estudios orientados hacia el aspecto psicológico y teórico de la memoria, mismo que suscita una larga serie de investigaciones elaboradas por varios autores, se evalúan los efectos de benzodiazepinas, escopolamina, opioides, propranolol, concentraciones subanestésicas de óxido nitroso, ketamina, marihuana y cafeína entre otras drogas (Ghoneim, 2004). Estos y otros estudios aportaron un análisis detallado de los efectos que tales drogas tienen sobre la memoria y de evidencia convergente a los constructos teóricos de la memoria.

Por otro lado, las evaluaciones con anestésicos ofrecieron además de una significancia clínica y una relevancia teórica importantes, una herramienta útil para la distinción entre la memoria implícita y explícita, lo que reorientó en su momento la investigación del rol de la consciencia en la memoria (Curran, 2000).

En la actualidad el uso tanto de benzodiazepinas como del antagonista colinérgico escopolamina en estudios de memoria es recurrente. Como ya se ha mencionado, las características amnésicas de ambos fármacos, han permitido conocer con mayor precisión los fundamentos neuroquímicos que subyacen al funcionamiento de la memoria, a la aparición de los fenómenos amnésicos, así como el establecer relaciones entre el comportamiento farmacológico y fisiológico de estos dos compuestos en el sistema nervioso humano, y las alteraciones en la memoria y los distintos tipos de amnesia, lo que podría ayudar a entender mejor a la amnesia orgánica o bien, el funcionamiento de los elementos y sistemas constitutivos de la memoria.

### **3.5. Memoria y benzodiazepinas**

Las referencias experimentales sobre el efecto de las benzodiazepinas en la memoria son amplias y abarcan el análisis sobre distintos sistemas de memoria. En torno a la memoria sensorial la cual, como ya se mencionó, ocurre de manera automática y sin control voluntario alguno, según la revisión efectuada por Ghoneim y Mewald en 1990, no ha existido un interés en la evaluación del papel de las benzodiazepinas sobre este tipo de memoria (Ghoneim, 1990).

Sobre la memoria a corto plazo, la mayoría de estudios que han evaluado el efecto de las benzodiazepinas en este tipo de memoria, han encontrado que esta no se ve afectada en comparación con grupos control o tratados con un placebo, como lo demuestran los trabajos desarrollados por Curran y colaboradores en 1987 y posteriormente en 1996, habiendo utilizado oxazepam y lorazepam en el primero, y diazepam en el segundo (citados en: Buffett-Jerrott, 2002). El primero de los estudios incluso mostró una mejora en la capacidad de los participantes para recordar las palabras que le habían sido mostradas al final de la lista (Buffett-Jerrott, 2002).

En cuanto a la memoria a largo plazo, si bien mucha de la investigación sugiere que se ve afectada por la administración de benzodiazepinas, los estudios han indicado de manera consistente que las benzodiazepinas solamente tiene repercusiones sobre el almacenamiento de nueva información, la cual es adquirida posterior a la administración de la droga, fenómeno que se ha referido como amnesia anterógrada (Buffett-Jerrott, 2002). Según lo descrito, la información presentada posteriormente a la administración del fármaco no puede ser almacenada y recuperada, incluso después al aclaramiento farmacológico de la

droga en el organismo (Curran, 1986). De cualquier forma una vez eliminada la droga del cuerpo, no se presenta ningún tipo de amnesia para información nueva (Curran, 1986).

El tipo de MLP más estudiado en relación a las benzodiazepinas es la memoria explícita. En este sentido, los paradigmas más utilizados para estudiar memoria explícita, son las tareas de recuperación libre de la información, recuperación mediante claves de la información y de memoria de reconocimiento. El método más común es presentar a los participantes una lista de palabras, posterior a la administración de benzodiazepinas, para evaluar inmediatamente después el número de palabras que son capaces de recordar de la lista, sin ayuda alguna de claves que le faciliten la recuperación de la información. A esta tarea se le conoce como de recuperación libre de la información. De manera consistente con este procedimiento, Legrand et al. (1995), encontraron que dosis clínicas tanto de diazepam (0.3mg/kg) como de lorazepam (0.038 mg/kg), disminuyeron la habilidad para recordar listas de palabras en sujetos tratados con tales fármacos a diferencia de los sujetos que fueron tratados con un placebo. Un estudio posterior de Weingartner et al. (1998), demuestra una marcada disminución en la memoria de sujetos tratados con triazolam (0.03 mg/kg) en comparación con el grupo placebo.

La investigación en el campo distingue dos subdivisiones de la memoria explícita; la memoria semántica y la episódica. La diferencia entre ambos subtipos, como se mencionó anteriormente, consiste en que mientras la memoria semántica puede prescindir de un contexto particular como referencia, la memoria episódica es la que se activa por la presencia de una secuencia de ocurrencias (Curran, 1991; Hommer, 1991). Entre ambas, la memoria episódica es la que más ha sido estudiada, para lo cual se han empleado tareas como recuperación y reconocimiento de palabras, historias e imágenes. En todos estos paradigmas se ha mostrado un deterioro consistente en la ejecución de los participantes ante

la administración de benzodiazepinas (Fluck, 1998). Para la evaluación de la memoria semántica, frecuentemente se solicita a los participantes que generen listas de palabras que pertenezcan a una sola categoría semántica (p.e. mamíferos), a diferencia de lo que ocurre con la memoria episódica, las benzodiazepinas han demostrado consistentemente, no afectar a este tipo de memoria (Fluck, 1998). Adicionalmente, a través de una tarea de recuperación de información sobre la videoproyección de una película, se ha registrado una relación directamente proporcional entre los efectos amnésicos de las benzodiazepinas loracepam y oxacepam y la velocidad de absorción de estos fármacos (Buffett-Jerrott et al., 1998).

En lo que a la memoria implícita respecta, los estudios indican que benzodiazepinas como el diazepam y el oxacepam no producen cambios en este tipo de memoria en comparación con sujetos tratados con un placebo (Curran, 1993). Sin embargo, no es el caso del loracepam, benzodiazepina que demostró efectos negativos durante la realización de diferentes tareas de memoria implícita (Brown, 1989; Sellal, 1992; Bishop, 1996). En relación a lo anterior, en un estudio emprendido por Curran y Gorenstein en 1993, se comparó de manera directa los efectos del oxacepam con los del loracepam en una tarea de priming, la cual corresponde a la memoria implícita. Los resultados indicaron que mientras el loracepam impedía el priming, el oxacepam no lo hacía. De acuerdo a los autores, las posibles razones por las que una benzodiazepina impide el priming mientras que la otra no, podrían deberse a una distribución o una población cortical diferente entre los receptores para el oxacepam y para el loracepam (Curran y Gorenstein, 1993).

La investigación más reciente ha propuesto dos diferentes tipos de priming en los paradigmas encargados de evaluar memoria implícita: el priming perceptual y el conceptual (Tulving, 1990). El priming perceptual es el más estudiado y ocurre cuando la exposición a

determinados estímulos facilita la habilidad de un participante para identificar posteriormente los mismos estímulos, con la simultánea presentación de claves perceptuales relevantes del estímulo (Tulving, 1990; Bishop, 1998). En contraste, el priming conceptual ocurre cuando al sujeto se le presenta una clave que está conceptualmente relacionada a un estímulo previamente codificado (Tulving, 1990). Se ha sugerido que el priming conceptual estaría basado en el sistema de memoria semántica, lo que implicaría conocimiento, mientras el perceptual está basado en el sistema de representación perceptual, aquel que implica la estructura y forma del estímulo (Tulving, 1990). Los estudios con priming conceptual son tan pocos que es difícil hablar sobre la injerencia de las benzodiazepinas en este proceso, aunque los pocos estudios elaborados, han sido de tipo comparativo y evidencian de manera consistente un deterioro en el priming perceptual debido a la administración de benzodiazepinas, mismo que no se presenta en el priming de tipo conceptual (Thompson, 1999). Un ejemplo representativo de este tipo de estudios, es el realizado por Thompson et al. (1999), en el que se compararon los efectos de la benzodiazepina loracepam tanto en una tarea conceptual (asociación de palabras) como en una tarea perceptual (identificación de palabras). Los resultados de dicho estudio indicaron que el priming perceptual, a diferencia del conceptual, resultó impedido por el loracepam en comparación al grupo control.

En resumen, la memoria implícita se ve afectada por la presencia de benzodiazepinas, si esta es evaluada durante el pico de concentración de la benzodiazepina en plasma y los trabajos hasta ahora publicados, sugieren que la alteración en la memoria implícita inducida por benzodiazepinas, es específica para procesos perceptuales en contraposición a lo ocurrido con los conceptuales. Dado que las principales benzodiazepinas han demostrado afectar el priming de una manera tiempo dependiente y alterar la habilidad para completar

diversas tareas, los efectos de la administración de benzodiazepinas tienen serias implicaciones para los individuos que desarrollan actividades y funciones precisas (Tulving, 1990).

Adicionalmente, diversos estudios han analizado si los efectos amnésicos inducidos por benzodiazepinas son consecuencia de los otros efectos farmacológicos de la droga, ya que como se mencionó anteriormente, las benzodiazepinas son capaces de producir un incremento significativo en la sedación, una disminución en la velocidad psicomotora, así como un decremento en las habilidades atencionales. Estudios como los elaborados por Buffett-Jerrott y Stewart en 1996 y 1998, señalan que cuando los resultados de la ejecución en tareas que miden atención y sedación son tratados como covariaciones de los efectos amnésicos de las benzodiazepinas, los niveles de significancia, si bien se ven reducidos, siguen siendo significativos o al menos, marginalmente significativos. Adicionalmente un gran número de estudios indica que el uso de flumazenil (antagonista a los receptores benzodiazepínicos), revierte los efectos sedativos y atencionales de las benzodiazepinas, al tiempo que los efectos sobre la memoria permanecen intactos (Buffett-Jerrott, 2002). Si bien es cierto, se desconocen las causas por las que un antagonista a receptores benzodiazepínicos falla en el bloqueo del efecto amnésico más no en los sedativo y atento, una posible explicación, puede ser que la acción del flumazenil sobre los niveles de sedación y atención sean producto de la ocupación de una población de receptores con una configuración diferente a aquella que produce el efecto amnésico (Buffett-Jerrott, 2002). Una explicación alternativa es que diferentes proporciones de receptores requieran ser ocupadas para producir la gran variedad de efectos cognitivos que las benzodiazepinas son capaces de generar (Hommer, 1993). Probablemente los efectos atencionales y sedativos requieran de un porcentaje de ocupación de receptores más alto, en tanto los

efectos amnésicos ocurran en virtud de una porcentaje más bajo. De ahí que una concentración determinada de flumazenil pueda resultar suficiente para bloquear la inatención o sedación inducida por benzodiazepinas, pero insuficiente para bloquear por completo los efectos amnésicos (Curran, 1991).

## **4. DISCRIMINACIÓN DE DROGAS.**

### **4.1. Discriminación de drogas y control de estímulos.**

El paradigma de discriminación de drogas es un procedimiento operante en el cual, a través del aprendizaje, el organismo establece una asociación entre un estímulo, en este caso una droga, y una respuesta conductual específica, para posteriormente adquirir la habilidad de emitir respuestas diferenciales ante la droga de entrenamiento y una condición farmacológica distinta. Se afirma que un sujeto discrimina entre dos estímulos, si emite conductas diferentes ante la presencia de éstos estímulos (Picker y Negus en van Haaren, 1993). El procedimiento de discriminación de drogas consiste esencialmente en la detección y discriminación de estímulos farmacológicos, en el cual, los sujetos son entrenados para emitir respuestas diferenciales ante distintas condiciones farmacológicas, ya sea entre distintas drogas, entre una droga específica y la condición de ausencia de la misma (comúnmente el vehículo de la droga, p.e. solución salina) o ante la administración de diferentes dosis de la misma droga (Glennon, 1991). En el procedimiento de discriminación de drogas, la condición farmacológica se convierte en un estímulo discriminativo y se establece un control de estímulos sobre la conducta. El fenómeno de control de estímulos consiste básicamente en que al manifestarse un cambio en los estímulos presentados a un organismo, éste produce a su vez una modificación en su conducta (Picker y Negus en van Haaren, 1993), en el caso de la discriminación de drogas, el control de estímulos es farmacológico.

El control discriminativo empleando drogas como estímulo, fue inicialmente demostrado por Girden y Culler en 1937. Estos autores emplearon un paradigma de condicionamiento de respuestas, en el cual entrenaron perros a flexionar la pata trasera derecha ante la

presencia de una campana como estímulo bajo condición de ausencia de droga y a flexionar la pata izquierda al ser parcialmente inmovilizados por curare crudo. Las presentaciones de la campana solamente elicitaron respuestas condicionadas apropiadas por los animales hacia la condición de evaluación de la droga (Schuster y Blaster en Thompson y Dews, 1977). De esta manera, la habilidad de una droga para servir como estímulo discriminativo puede ser considerada un efecto farmacológico de la droga, razón por la que es posible medir la capacidad de una droga para producir este efecto. En 1972, Overton denominó esta propiedad de las drogas como *discriminabilidad*. Adicionalmente, la potencia y la eficacia farmacológica de las drogas, son dos propiedades que influyen de manera directa sobre la discriminabilidad de las drogas. Tanto la potencia como la eficacia son determinadas por la concentración de la droga. En lo que a potencia se refiere, una droga puede ser más potente en virtud de sus efectos de estímulo que otra, por lo que requeriría en ese caso, de una dosis más baja para ejercer un control de estímulos comparable. Un buen ejemplo para ilustrar lo anterior podría resultar de la comparación entre heroína (diacetilmorfina) y morfina. La primera es de tres a cuatro veces más potente que la segunda, porque traspasa la barrera hematoencefálica más rápidamente, sin embargo ambas son igualmente eficaces al momento de producir analgesia cuando se usan en dosis óptimas (Schuster y Blaster en Thompson y Dews, 1977).

Por su parte, la velocidad de adquisición en una tarea de discriminación de drogas de este tipo, indica el grado de discriminabilidad de la droga de entrenamiento, probablemente en una fuerte escala ordinal. De igual manera, esta información indica cuál de las dos condiciones, tiene efectos discriminables más fuertes y el grado en el que la fuerza de los efectos discriminables de una droga excede a los de la otra (Overton, 1986).

Las drogas pueden servir entonces como estímulos en el sentido psicológico, así como en procedimientos de condicionamiento operante, pueden actuar como reforzadores positivos o negativos, estímulos discriminativos e incluso como castigos (van Haaren, 1993). Los estudios con drogas como estímulos interoceptivos han demostrado ampliamente que pueden abarcar todas las características funcionales normalmente asociadas a los dominios de los estímulos de carácter exteroceptivo (van Haaren, 1993). Posterior a un entrenamiento apropiado, los efectos de las drogas pueden servir como estímulo discriminativo, que a su vez le indican al sujeto cuándo y cómo puede obtener reforzador. Demostrando una conducta asociada específica, los sujetos entrenados para ello, pueden indicar su habilidad para detectar e identificar las drogas, denotando con esto una relación funcional efectiva entre la droga y su conducta. La evidencia de este paradigma sugiere, que es la relación funcional, mas no la naturaleza de la respuesta, el determinante crucial de los resultados en este tipo de experimentos farmacológicos conductuales (van Haaren, 1993). La fuerza o suma de los efectos discriminables parecen variar según la dosis y entre una droga y otra (Overton, 1986).

Los primeros experimentos de discriminación de drogas se llevaron a cabo en laberintos con forma T. Usando tal metodología, Overton obtuvo éxito, demostrando principios básicos considerados ahora ampliamente aplicables en el campo. La introducción posterior de métodos de condicionamiento empleando ambientes operantes como las cajas de Skinner, resultó acompañada por la disminución en el uso de los laberintos, lo que a su vez se tradujo en ganancias en la eficiencia del procedimiento, así como en una mayor sensibilidad en términos farmacológicos (van Haaren, 1993). Eventualmente, el aparato más comúnmente empleado para la realización de estudios con discriminación de drogas es

la caja operante de dos palancas, sin embargo, otro tipo de procedimientos evaluativos, incluyendo la caja de tres palancas, están siendo utilizados también (Glennon, et al. 1991).

En la actualidad existen diversos métodos conductuales a través de los cuales se puede estudiar y cuantificar el grado de discriminabilidad de las drogas durante el procedimiento de discriminación de drogas. A continuación se expondrá brevemente los métodos principales (Overton, et al. 1986):

- **Entrenamiento Droga contra Droga:** el método de entrenamiento Droga A vs. Droga B involucra los siguientes pasos: 1.- demostrar que tanto las Drogas A como B producen efectos discriminables, al exponer que la discriminación de ambas contra la condición No Droga (vehículo) puede ser aprendido. 2.- Entrenar varios grupos de sujetos para discriminar A vs. B usando diferentes dosis de A o B en cada grupo. 3.- Identificar el par particular de drogas y dosis que no pueden ser discriminadas la una de la otra dentro de un período razonable de tiempo.
- **Evaluaciones de sustitución posteriores al entrenamiento Droga contra No Droga:** este método involucra los siguientes pasos: 1.- Entrenar a los sujetos a discriminar la Droga A contra la condición de No Droga, hasta establecer un control discriminativo casi perfecto. 2.- Evaluar a los sujetos con varias dosis de nuevas drogas: B, C, D, E y F. 3.- Identificar drogas (B, C, D) que imiten los efectos discriminables de A lo suficientemente bien, de manera que puedan producir casi el 100% de las respuestas de la droga A en una dosis que no interrumpa abruptamente la conducta en la tarea de discriminación de drogas. 4.- Para las drogas que imiten por completo las dosis altas de la Droga A, obtener estimados de la potencia relativa, mediante la determinación de las dosis de cada droga que son requeridas para producir un porcentaje intermedio de elecciones por la Droga A.

- **Entrenamiento Droga contra No Droga:** este tipo de entrenamiento puede ofrecer información acerca del gradiente de discriminación de la droga de entrenamiento, si se cumple el siguiente procedimiento: 1.- Entrenar a los sujetos sobre todos y cada uno de los aspectos de la tarea, excepto la discriminación de drogas, por ejemplo, moldear al animal a presionar las palancas o entrenar al sujeto a que reconozca la finalización del programa de reforzamiento. 2.- Entrenar a los sujetos a discriminar la condición de Droga de la condición de No Droga. 3.- Computar un índice que refleje la velocidad de adquisición de la respuesta discriminatoria (índice de discriminación).

La discriminación de drogas es un procedimiento sensible para evaluar los efectos de las drogas como estímulos interoceptivos y analizar el control de estímulos que pueden ejercer las drogas sobre la conducta de organismos. El control discriminativo de las drogas se ha demostrado en varias especies, con la mayoría de drogas psicoactivas y en diferentes tareas de discriminación (Schuster y Blaster en Thompson y Dews, 1977). No obstante, como en el caso de las manipulaciones ambientales, las drogas pueden también alterar de manera directa el control de estímulos sobre la conducta. En una dosis lo suficientemente alta, cualquier droga puede, en última instancia, interrumpir el control de estímulos sobre la conducta impidiendo la habilidad del sujeto para responder, mientras algunas drogas pueden ser capaces de alterar las habilidades sensoriales o de procesamiento de manera selectiva (Picker y Negus en van Haaren, 1993).

#### **4.2. Generalización de estímulos.**

El control de estímulos está estrechamente relacionado a la generalización de estímulos. La generalización de estímulos es un proceso en el cual el organismo responde de forma similar a estímulos, o dimensiones del estímulo, semejantes al estímulo discriminativo.

Durante un proceso de generalización el organismo presenta un gradiente de distribución de sus respuestas ante una escala de valores del estímulo discriminativo o de una de sus propiedades. Una función en la que se relaciona diversos grados de control del estímulo con diversos valores de los estímulos de la prueba a lo largo de una cierta dimensión se llama gradiente de generalización (Schuster y Blaster en Thompson y Dews, 1977). Con una droga como estímulo, las pruebas de generalización pueden realizarse a lo largo de una dimensión cuantitativa (dosis) y de una cualitativa (diferentes drogas). En la generalización de estímulos con la misma droga, normalmente se emplean dosis crecientes o decrecientes con respecto a la dosis de entrenamiento de la droga, de esta forma se obtiene un gradiente de generalización, el cual es una curva que normalmente puede ajustarse a una función matemática (p.e. sigmóide o logística). El gradiente de generalización como prueba, presenta grandes ventajas ya que permite evaluar la discriminabilidad del estímulo, la sensibilidad del organismo ante el estímulo discriminativo y se presenta como una herramienta de mayor precisión para evaluar el proceso de discriminación de estímulos. Por estas razones y debido a que en el presente estudio se evalúa el efecto de una benzodiacepina sobre la discriminación de escopolamina, se emplearán pruebas de generalización con escopolamina para el análisis.

Adicionalmente, es propicio también hacer una distinción entre la discriminación de drogas y el aprendizaje dependiente de estado. Los procedimientos empleados para estudiar uno y otro fenómeno son diferentes porque el análisis de la dependencia de estado busca demostrar déficits o cambios conductuales que sólo ocurren o dependen del estado del organismo producido por la administración de drogas. En contraste, la discriminación de drogas demuestra cómo los organismos son capaces de detectar y diferenciar un estado

farmacológico para producir una conducta que es apropiada para contingencias ambientales prevaletentes de reforzamiento (van Haaren, 1993).

Finalmente, el paradigma de discriminación de drogas por sí mismo, no puede ser utilizado para caracterizar un nuevo agente farmacológico. De cualquier manera, el paradigma puede utilizarse para investigar una amplia variedad de aspectos farmacológicos relativos a las propiedades que las drogas contienen como estímulos (Glennon, 1991). Estos aspectos incluyen, por ejemplo, momento de aparición y duración de la acción, mecanismo de acción, similitud del efecto con otros agentes, relación entre la estructura y la actividad, actividad de los metabolitos, e identificación y desarrollo de potenciales antagonistas, o bien, el procedimiento ha sido empleado adicionalmente para investigar los procesos de tolerancia y síndrome de abstinencia a drogas (Glennon, 1991).

#### **4.3. Discriminación de drogas con escopolamina.**

La escopolamina es un alcaloide de origen en la familia de las solanáceas y es también conocida como hioscina ya que una de sus plantas de origen es la *Hyoscyamus niger*. La escopolamina es un antagonista competitivo e inespecífico de los receptores colinérgicos muscarínicos periféricos y centrales, ya que cruza con facilidad la barrera hematoencefálica. A nivel periférico, al igual que la atropina, actúa sobre las terminaciones parasimpáticas postganglionares, bloqueando los efectos parasimpaticomiméticos muscarínicos, induciendo por ejemplo: dilatación de las pupilas, contracción de los vasos sanguíneos, visión borrosa, reducción de las secreciones salival y estomacal, etc. No obstante, la escopolamina es de 3 a 10 veces más potente que la atropina en sus efectos sobre sistema nervioso central. Al ser la escopolamina un antagonista de tipo competitivo, su efecto depende de la proporción entre las concentraciones del neurotransmisor y del

propio antagonista. La desactivación de la escopolamina es un proceso lento ya que también contiene un grupo éster en su estructura bioquímica; para el hombre, la hidrólisis de ésteres es poco importante y la mayor parte de los alcaloides naturales aparecen inalterados en la orina (Meyers et al., 1980).

Adicionalmente, los compuestos que son capaces de bloquear la neurotransmisión colinérgica e inactivar a los receptores muscarínicos, son potentes agentes amnésicos (Bermúdez y Prado, 2001; Kandel et al., 2001) y se ha reportado que los antagonistas muscarínicos pueden alterar el aprendizaje y la memoria durante la ejecución en tareas de discriminación. Por ejemplo, en la discriminación de secuencias de sonido (Kudoh et al., 2004), en una tarea de discriminación temporal (Hata, Okaichi, 2004) o en la discriminación visual en el laberinto de agua de Morris (Robinson et al., 2004). No obstante, en el procedimiento de discriminación de drogas, la propia administración de la droga y el estado farmacológico asociado, se convierten en el estímulo discriminativo, de tal forma que los sujetos son capaces de aprender y memorizar la relación entre la presencia de la droga y una respuesta condicionada. En el caso de la escopolamina, ésta ha sido exitosamente empleada como estímulo discriminativo en el procedimiento de discriminación de drogas (Jung et al., 1988; Kelley et al., 1995). En dicho procedimiento, la escopolamina adquiere control de estímulos sobre respuestas operantes y los animales entrenados a discriminar la administración de escopolamina son capaces de generalizar sus respuestas ante dosis diferentes de escopolamina o ante otras drogas que comparten mecanismos farmacológicos comunes (Kelley y Porter, 1997; Casasola et al., 2007). La discriminación de drogas con escopolamina parece ser un proceso de origen central, ya que la administración intraventricular de escopolamina, reproduce el control de estímulos, aún

cuando la discriminación fue adquirida bajo la administración sistémica del compuesto (Jung et al., 1987).

Actualmente, la información sobre los mecanismo y circuitos neuronales que le subyacen a la discriminación de drogas colinérgicas es muy limitada (Casasola et al., 2007). Por lo cual diversas interrogantes surgen en relación a la escopolamina como estímulo en el aprendizaje discriminativo, tal es el caso de; los mecanismos neurofisiológicos que le subyacen, las estructuras cerebrales relacionadas y su interacción con diferentes drogas mediante mecanismos de acción relacionados a otros sistemas de neurotransmisión, como por ejemplo, las benzodiazepinas.

## 5. JUSTIFICACIÓN

Las benzodiazepinas se ubican entre los psicofármacos de mayor producción, prescripción y consumo. Su espectro farmacoterapéutico incluye el tratamiento de los trastornos de la ansiedad, el estrés, el insomnio, la epilepsia, el síndrome de abstinencia a alcohol, etc. A pesar de que son compuestos con una alta tolerancia y con un margen amplio de seguridad, presentan algunos efectos adversos, entre estos, sedación, síndrome de abstinencia y alteraciones en la atención y la memoria. Hasta el momento no se ha investigado de forma exhaustiva el efecto de las benzodiazepinas sobre los procesos de discriminación y generalización de estímulos. Específicamente no se han analizado las consecuencias, tanto a corto como a largo plazo, del uso de benzodiazepinas sobre los componentes mnémicos asociados a la discriminación de estímulos farmacológicos colinérgicos. Tampoco se ha evaluado el efecto del síndrome de abstinencia que producen las benzodiazepinas sobre la discriminación de estímulos farmacológicos. Por su parte, la discriminación de drogas con antagonistas muscarínicos resulta un modelo interesante para evaluar los efectos amnésicos de las benzodiazepinas debido a la relación entre el sistema colinérgico y la memoria. Por lo cual, el presente trabajo permite analizar de forma cuantitativa, el efecto de la administración de la benzodiazepina diazepam sobre la capacidad de los organismos para recuperar información sobre la discriminación y generalización de drogas anticolinérgicas previamente aprendidas. Adicionalmente, el presente trabajo permite explorar la interacción entre el sistema GABAérgico y colinérgico en un proceso de aprendizaje asociativo y su memoria. Finalmente, este estudio permite conocer mejor los efectos adversos de las benzodiazepinas sobre procesos cognoscitivos.

## **6. OBJETIVO GENERAL**

Analizar en ratas el efecto de la administración aguda de diazepam, su efecto a largo plazo (90 días) y el efecto de la abstinencia a diazepam, sobre la discriminación y generalización de estímulos con el antagonista muscarínico escopolamina.

### **6.1. Objetivos específicos**

1. Establecer, a través del procedimiento de discriminación de drogas con dos palancas, la adquisición de la discriminación del antagonista muscarínico escopolamina en un grupo de ratas.
2. Establecer, a través del procedimiento de discriminación de drogas con dos palancas, el gradiente de generalización con diferentes dosis decrecientes de escopolamina en un grupo de ratas.
3. Analizar el efecto de la administración sistémica de la benzodiazepina diazepam sobre la recuperación de información durante la generalización de diferentes dosis de escopolamina.
4. Analizar el efecto posterior a 90 días de la administración sistémica de diazepam sobre la recuperación de información durante la generalización de diferentes dosis de escopolamina.
5. Analizar la capacidad de las ratas para recuperar información sobre la generalización de diferentes dosis de escopolamina bajo condiciones de abstinencia a diazepam.
6. Discutir los efectos adversos de las benzodiazepinas sobre la memoria durante la discriminación y generalización de estímulos con drogas anticolinérgicas.

## **7. MÉTODO**

### **7.1. Sujetos**

Los sujetos fueron ratas macho de la cepa Wistar, ingenuas experimentalmente, con un peso entre 250-300g a su llegada al laboratorio. Las ratas fueron proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Psicología de la UNAM y se mantuvieron en cajas de alojamiento individual, con acceso libre al agua y bajo un ciclo luz-oscuridad 12-12 (las luces se encendían a las 07:00 horas y se apagaban a las 19:00 horas). Después de un periodo de habituación de 7 días, las ratas fueron sujetas a un programa de privación de alimento, cuidando que su peso corporal no descendiera por debajo del 85 % relativo a su edad.

A lo largo del estudio se realizaron todos los esfuerzos para evitar cualquier lesión, daño o sufrimiento a los animales, al mismo tiempo se observaron y respetaron las normas de uso y cuidado de animales de laboratorio (título séptimo de la Ley General de Salud respecto a la Investigación en Salud, México).

### **7.2. Aparatos**

Se utilizaron cajas estándar de condicionamiento operante (Lafayette Instruments Co. USA) con medidas idénticas de 28 x 22 x 28 cms. cada una. En el panel frontal de cada caja se ubicaron dos palancas retráctiles (situadas 5.0 cm. arriba del piso) colocadas equidistantemente a ambos lados del dispensador de líquidos, este último liberaba a su vez, 0.5 ml de solución sucrosa como reforzador. Todas las cajas contaron con equipo de ventilación, con ruido blanco y se encontraron dentro de compartimientos sonoamortiguados. Tanto los eventos experimentales (luces y tonos), como las respuestas emitidas, fueron controlados y registrados durante el desarrollo de cada sesión experimental, a través de una interfase (Med Associates Inc. Georgia, VT. USA) y una PC.

### **7.3. Fármacos**

Se empleó el antagonista muscarínico competitivo inespecífico escopolamina hidrobromuro (Tocris Bioscience Ellisville, Missouri, EUA). El cual fue diluido en solución salina al 0.9% como vehículo, hasta lograr la dosis deseada para cada etapa experimental (ver procedimientos). Las dosis fueron administradas intraperitonealmente (i.p.) en un volumen de 1.0 ml/kg, veinte minutos antes del inicio de la sesión experimental correspondiente.

Se empleó la benzodiacepina diazepam (Valium 10® solución inyectable de 10mg/2ml, adquiridas a través de una donación por el Instituto Nacional de Psiquiatría, México), el cual es un agonista alostérico positivo GABA<sub>A</sub>. El diazepam fue diluido en solución salina (0.9%) hasta alcanzar la dosis deseada para cada fase experimental (ver procedimientos, etapa 3) y fue administrado i.p. en un volumen de 1.0 ml/kg, 30 minutos antes del inicio de la sesión experimental correspondiente.

### **7.4. Procedimiento**

Posterior al periodo de habituación de 7 días y durante el resto del estudio, las ratas fueron sujetas a un programa de privación de alimento, cuidando que su peso corporal no descendiera por debajo del 85 % relativo a su edad, para ello se restringió la ingesta a 5.0 g de alimento por cada 100 g de su peso corporal. Posteriormente, los sujetos fueron sometidos a las siguientes fases experimentales.

#### **Etapa 1: Moldeamiento.**

Los animales fueron entrenados a presionar cada una de las dos palancas (izquierda y derecha) de la caja operante para obtener aproximadamente 0.5 ml de sucrosa a 0.8M como reforzador. El moldeamiento se llevó a cabo por medio del método de aproximaciones sucesivas a cada palanca, inicialmente con un programa de razón fija 1 y posteriormente se

incremento la razón de forma progresiva (RF 3, 5, 8 y 10). Una vez que los sujetos alcanzaron una RF10 en ambas palancas se procedió al entrenamiento en discriminación.

### **Etapa 2: Entrenamiento en el procedimiento de Discriminación de Drogas.**

Las sesiones de entrenamiento en discriminación se condujeron de forma diaria, una por día y 6 días a la semana. 20 minutos antes del inicio de cada sesión a cada sujeto se le administró (i.p.) escopolamina (1.0 mg/kg) o el vehículo (solución salina al 0.9%), ambos en un volumen de 1.0 ml/kg. La administración de droga o vehículo para cada sesión se determinó de acuerdo a una secuencia semialeatoria (Colpeart y Koek, 1995). De acuerdo a un programa de RF10, las respuestas a una palanca produjeron la entrega del reforzador cuando la escopolamina fue administrada, mientras que las respuestas a la palanca opuesta fueron reforzadas cuando el vehículo fue administrado. La posición (izquierda o derecha) de la palanca asociada a la droga, fue contrabalanceada a fin de evitar sesgos por lateralidad de los sujetos. Cada sesión de entrenamiento concluyó cuando el sujeto obtuvo 60 reforzadores o a los 20 minutos después del inicio de la sesión, siendo más frecuente lo primero.

En cada sesión se registró la distribución de las respuestas antes del primer reforzador. Para completar el entrenamiento en discriminación, cada sujeto debió alcanzar los siguientes dos criterios de adquisición: 1) el porcentaje de respuestas asociadas a la palanca correcta antes del primer reforzador debió ser igual o mayor al 83% (no más de 2 respuestas en la palanca incorrecta) durante 10 sesiones consecutivas (5 bajo la condición de escopolamina y 5 bajo la condición salina) y 2) que el sujeto obtuviera al menos 40 reforzadores por sesión.

### **Etapa 3: Asignación de grupos.**

Una vez que los sujetos alcanzaron los criterios de adquisición en discriminación, fueron asignados aleatoriamente a uno de los siguientes grupos experimentales:

- 1) Grupo control (n=11).** Este grupo no recibió administración de diazepam ni fue expuesto a una abstinencia a la benzodiazepina. En este grupo se realizaron pruebas de generalización con dosis semilogarítmicas de escopolamina (0.0, 0.0564, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg, i.p.). Cada dosis de escopolamina fue administrada de forma aleatoria, 20 minutos antes de iniciar cada sesión y en sesiones independientes.
- 2) Grupo con administración de diazepam (n=11),** en el cual se administró diazepam (1.0 mg/kg, i.p.) 30 minutos antes del inicio de cada una de las 6 pruebas de generalización con escopolamina, estas últimas de acuerdo a las condiciones anteriores.
- 3) Grupo con abstinencia a diazepam (n=8).** Este grupo recibió un pretratamiento (con el fin de inducir abstinencia) en el cual se administró diariamente una dosis de 7.0 mg/kg de diazepam (i.p) durante 10 días consecutivos. 24 hrs. después de haber administrado la última dosis de diazepam se realizaron las 6 sesiones prueba de generalización con escopolamina en condiciones idénticas a los grupos anteriores.

#### **Etapa 4: Pruebas de generalización.**

Para el grupo con administración aguda de diazepam y el grupo control, las pruebas de generalización con escopolamina iniciaron inmediatamente después de que los sujetos alcanzaron los criterios de adquisición en discriminación. Para el grupo con abstinencia a diazepam, las pruebas de generalización iniciaron a los 11 días, 24 hrs. después de terminar el pretratamiento con diazepam.

Con el fin de obtener las curvas de generalización de escopolamina, se realizaron 6 sesiones prueba de generalización, para lo cual 20 minutos antes de iniciar cada sesión se administró

de forma aleatoria una de seis diferentes dosis de escopolamina (0.0, 0.0564, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg, i.p.).

Cada sesión prueba de generalización, terminó sin reforzamiento una vez que el sujeto emitió 10 respuestas en cualquiera de ambas palancas. Con el fin de evitar la extinción de las respuestas de los sujetos, cada sesión prueba de generalización fue intercalada entre dos sesiones de entrenamiento en discriminación, cuidando que en estas sesiones intermedias se mantuvieran los criterios de adquisición descritos en la fase de entrenamiento (Etapa 2).

#### **Etapa 5: Evaluación a los 90 días.**

Adicionalmente, el grupo con administración de diazepam (grupo 2) y el grupo control, fueron sujetos a una segunda serie de pruebas de generalización a los 90 días de haber concluido la primera serie. Lo anterior para evaluar el efecto de la benzodiacepina a largo plazo sobre la generalización de escopolamina. Durante esta segunda fase de generalización se emplearon las mismas dosis de escopolamina en las mismas condiciones que las pruebas anteriores y durante los 90 días entre ambas pruebas los sujetos no recibieron entrenamiento conductual o farmacológico de ningún tipo.

#### **Etapa 6: Evaluación fisiológica de la abstinencia.**

Con el fin de evaluar la respuesta de abstinencia a diazepam, una vez que los sujetos de este grupo concluyeron las pruebas de generalización, fueron enviados al Departamento de Neurobiología del Instituto Nacional de Psiquiatría, con el fin de analizar la existencia de hiperexcitabilidad neuronal, lo anterior a través de la técnica electrofisiológica de registro de potenciales poblacionales en rebanadas de hipocampo (ver Casasola et al., 2004).

### **7.5. Análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron el número de respuestas emitidas en cada una de las dos

palancas de la tarea operante, el número total de respuestas, el número de reforzadores obtenidos, el tiempo al primer reforzador y el tiempo total de duración de la sesión.

La relación entre el número de respuestas totales y el tiempo total (en segundos) de la sesión determinó la tasa de respuestas (TR), mientras que la proporción entre las respuestas en la palanca correcta y la palanca incorrecta, en función de la administración de droga o no droga (salina), determinó el índice de discriminación (ID). Este índice se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$ID = rpD / (rpD + rpS) \dots\dots\dots [1]$$

Donde ID es el índice de discriminación, *rpD* es el número de respuestas en la palanca asociada a droga y *rpS* es el número de respuestas en la palanca opuesta (salina). Un valor igual o cercano a 1.0 indica una correcta discriminación a la palanca asociada a escopolamina, mientras que un valor igual o cercano a 0.0 muestra una discriminación correcta a la palanca asociada a salina.

El valor del ID se empleó para elaborar las curvas de generalización, las cuales fueron ajustadas a través de la siguiente ecuación logística de 4 parámetros:

$$f = y0 + a / (1 + (x/x0)^b) \dots\dots\dots [2]$$

Donde *y0* es el valor mínimo de respuesta, *a* es la respuesta máxima, *b* es el valor asociado a la pendiente de la curva, *x0* es la concentración de escopolamina que redujo la respuesta al 50% de su valor máximo y *x* es la concentración de escopolamina (graficada en una escala logarítmica).

En los casos en los que la curva no se ajustó a una función logística, los valores fueron ajustados a través de una regresión lineal (graficada en escala logarítmica). Para ello se utilizó la siguiente ecuación:

$$f = y0 + a * x \dots\dots\dots [3]$$

Donde  $y_0$  es el valor estimado de  $y$  cuando  $x = 0$ ,  $x$  es la concentración de escopolamina y  $a$  es el valor de la pendiente de la curva.

El valor de la pendiente, a partir del análisis de la regresión lineal, fue empleado para comparar las diferencias estadísticas entre los grupos para las distintas condiciones. Se empleó el valor de la pendiente obtenido de la regresión lineal, debido a que las curvas de generalización con diazepam posterior a 90 días y con abstinencia a diazepam no se ajustaron a la función logística.

La tasa de respuestas (TR) se obtuvo a partir del número de respuestas sobre segundos para cada sesión. Para el análisis estadístico de la TR y el ID se obtuvieron los promedios por grupo y condición.

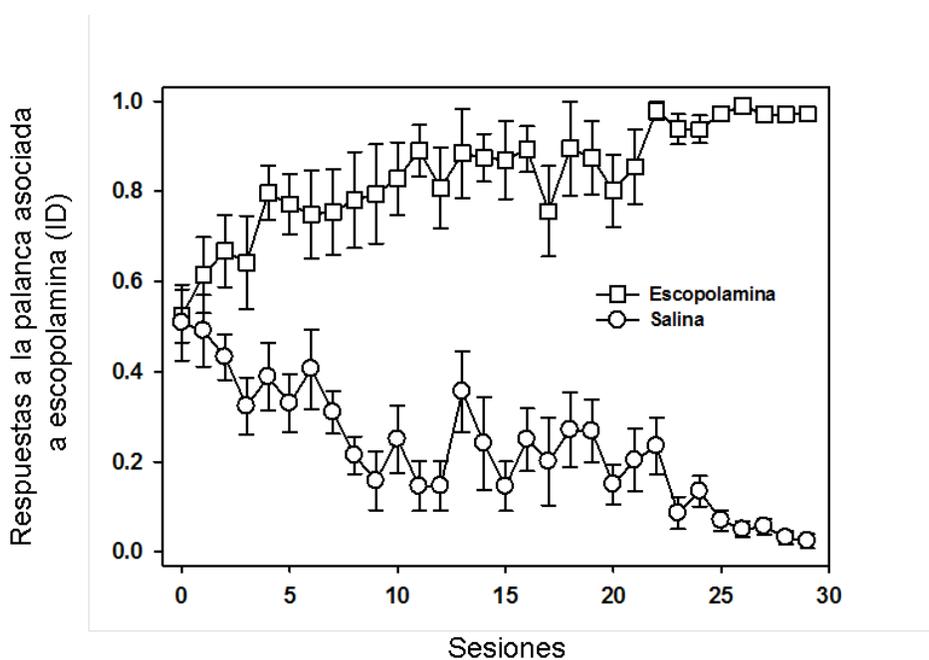
Para conocer las diferencias entre grupos en las distintas condiciones experimentales, los resultados obtenidos fueron analizados mediante una  $t$  de Student para grupos independientes (no pareada). Para analizar las diferencias en la TR entre grupos y sesiones se empleó un Análisis de Varianza (ANOVA) para grupos independientes, cuando se obtuvieron diferencias significativas se procedió a hacer un análisis de comparaciones múltiples, con pruebas *post hoc* (Tukey-Kramer). Para ambos procesos estadísticos se consideró un nivel de significancia con una  $p$  igual o menor a 0.5.

En el presente trabajo los resultados se expresan en medias y error estándar de la media (S.E.M.).

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Adquisición del control de estímulos con escopolamina.

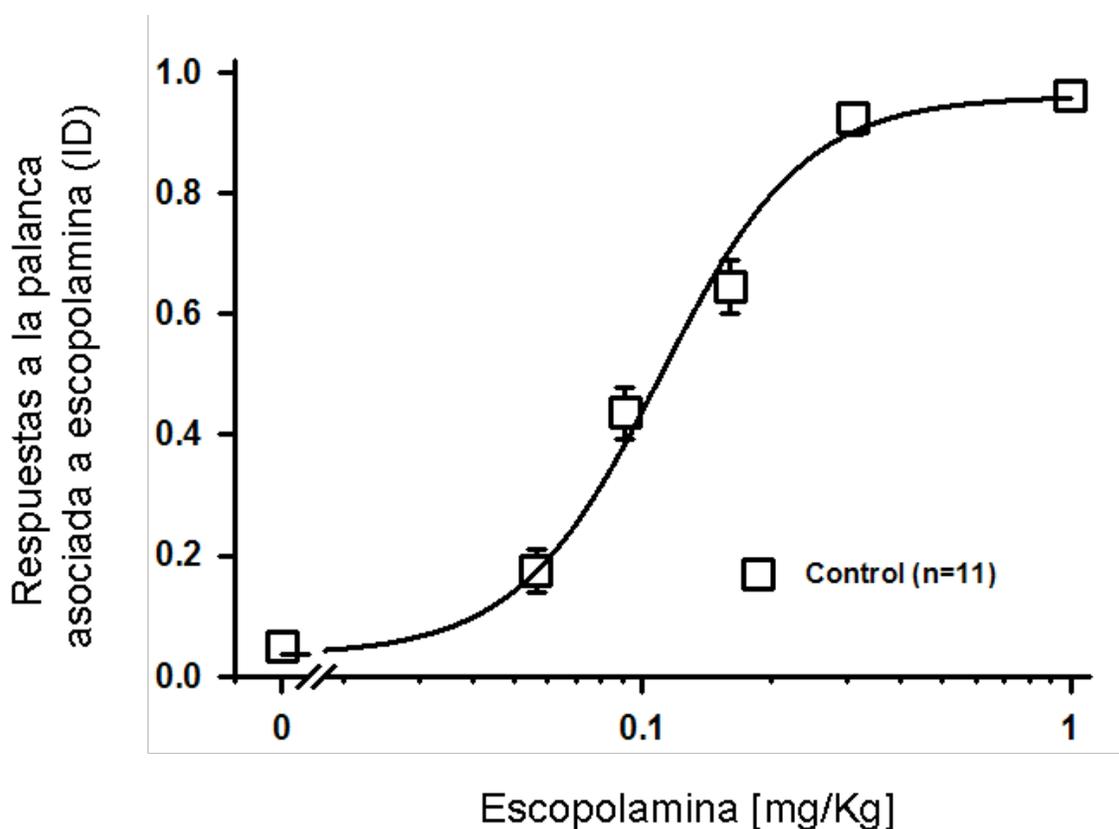
En la fase de entrenamiento, la presión (RF10) en una de las palancas y la consiguiente entrega de reforzador se asociaron con la administración de escopolamina, mientras que la respuesta en la palanca contraria, se asoció con la administración del vehículo. Los 30 sujetos que se incluyeron en el presente estudio aprendieron la tarea y alcanzaron los criterios de adquisición (ver apartado 7.4. procedimientos, etapa 2) en aproximadamente 40-60 sesiones de entrenamiento. La siguiente gráfica representativa (figura 1), muestra el índice de discriminación (ID) promedio durante la fase de adquisición. Al inicio de la gráfica se observa una respuesta aleatoria a la posición de las palancas, mientras que al final del entrenamiento se observa una diferenciación de las respuestas y una disminución en la varianza de los datos; estas últimas sesiones corresponden con los criterios de adquisición.



**Figura 1.** Curvas representativas de adquisición de la discriminación entre la administración de escopolamina (1.0 mg/kg i.p) y la administración de salina (0.9%), ambos en un volumen de 1.0 ml/kg. Los valores representan la media  $\pm$  S.E.M.

## 8.2. Generalización con escopolamina.

Una vez que los sujetos alcanzaron los criterios de adquisición se realizaron las pruebas de generalización (ver apartado 7.4.), para lo cual se administraron dosis decrecientes de escopolamina (0.0, 0.0564, 0.91, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg). Los resultados obtenidos en el grupo control demuestran que los sujetos fueron perfectamente capaces de generalizar su respuesta ante las distintas dosis de escopolamina. La figura 2 muestra el gradiente de generalización para el grupo control, se puede observar que la distribución de las respuestas es dosis dependiente y se ajusta a una curva sigmoide, con un valor mínimo de  $0.04 \pm 0.01$ , un valor máximo de  $0.96 \pm 0.0$  y un valor de la pendiente de  $0.779 \pm 0.08$ .



**Figura 2.** Curva de generalización control (n=11) para las diferentes dosis de escopolamina. Los datos muestran las respuestas (ID) a las diferentes dosis de escopolamina, apreciándose una relación dosis dependiente. Valor mínimo ( $E_{min}$ ):  $0.04 \pm 0.01$ , máximo ( $E_{máx}$ ):  $0.96 \pm 0.0$  y un valor de la pendiente:  $0.77 \pm 0.09$ . Medias  $\pm$  S.E.M.

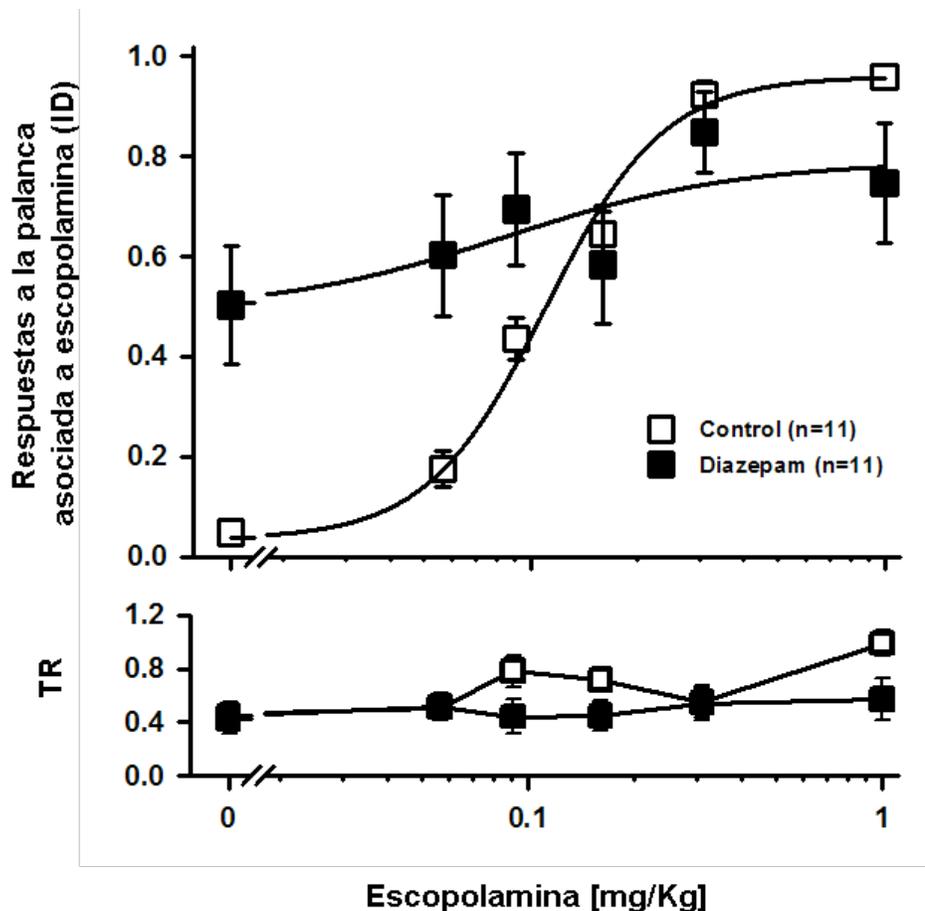
### 8.3. Diazepam y generalización con escopolamina.

Con el fin de evaluar el efecto de la benzodiacepina sobre la discriminación de escopolamina, en un grupo independiente (n=11) se administró diazepam (1.0 mg/kg) 30 minutos antes del inicio de cada sesión prueba de generalización con las diferentes dosis de escopolamina. Posteriormente, se obtuvo la curva de generalización, la cual fue comparada con la curva respectiva del grupo control (figura 2).

Los resultados muestran que la administración de diazepam interrumpe el proceso de discriminación y altera de forma significativa la curva de generalización con escopolamina.

En la figura 3, se presentan los gradientes de generalización para el grupo control y para el grupo con diazepam. Se presenta el ID para cada sesión con las diferentes dosis de escopolamina, los resultados fueron ajustados a una curva sigmóide. Como puede observarse en esta gráfica y más adelante en el cuadro de comparación estadística (tabla 1), el valor mínimo de la curva para el grupo de diazepam fue de  $0.50 \pm 0.11$ , el cual presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control (t-Student=  $3.83_{[20]}$ ,  $p < 0.001$ ), mientras que el valor máximo de la curva correspondiente al grupo con diazepam ( $0.74 \pm 0.11$ ) no presentó diferencias significativas con respecto al control (t-Student=  $-1.7_{[20]}$ ,  $p = 0.09$ ), no obstante se observa una fuerte tendencia estadística en la disminución de este valor. Con respecto a la pendiente de la curva, el grupo con diazepam muestra un valor de pendiente de  $0.18 \pm 0.13$ , dicho valor difiere significativamente con respecto al grupo control (t-Student=  $-3.61_{[20]}$ ,  $p < 0.001$ ).

Es notable que en la curva para el grupo con diazepam el valor de ID para las dosis bajas es cercano a 0.5, lo cual ubica la respuesta en niveles azarosos (ver figura 3).



**Figura 3.** Curvas de generalización (superior) y tasas de respuesta (inferior) para el grupo control (cuadros abiertos, n=11) y para el grupo con diazepam (1.0mg/kg) (cuadros cerrados, n=11). Se muestra (superior) el ID y el ajuste sigmoideal de ambas curvas, abajo la TR (respuestas/segundos). Medias  $\pm$  S.E.M.

El resumen de los resultados obtenidos puede observarse en la Tabla 1, en donde se detalla el análisis estadístico para ambos grupos.

	CONTROL (n=11)	DIAZEPAM (n=11)	$T_{[G.L.]} = (t\text{-Student})$
Emin	$0.048 \pm 0.0180$	$0.502 \pm 0.1171$	$3.836_{[20]}, p= 0.0010$
Emáx	$0.960 \pm 0.0180$	$0.746 \pm 0.1196$	$-1.765_{[20]}, p= 0.0926$
Pendiente	$0.773 \pm 0.0913$	$0.182 \pm 0.1359$	$-3.610_{[20]}, p= 0.0009$

**Tabla 1.** Comparación estadística entre el grupo control y el grupo con administración de diazepam. Emin: valor mínimo de la curva, Emáx: valor máximo de la curva y pendiente de la curva.

Con respecto a la comparación de la tasa de respuestas (TR) entre ambos grupos, aunque el ANOVA mostró diferencias significativas ( $F=2.304_{[131/20.049]}, p=0.013$ ), las comparaciones

múltiples (Tukey-Kramer) para cada una de las dosis de escopolamina no demostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

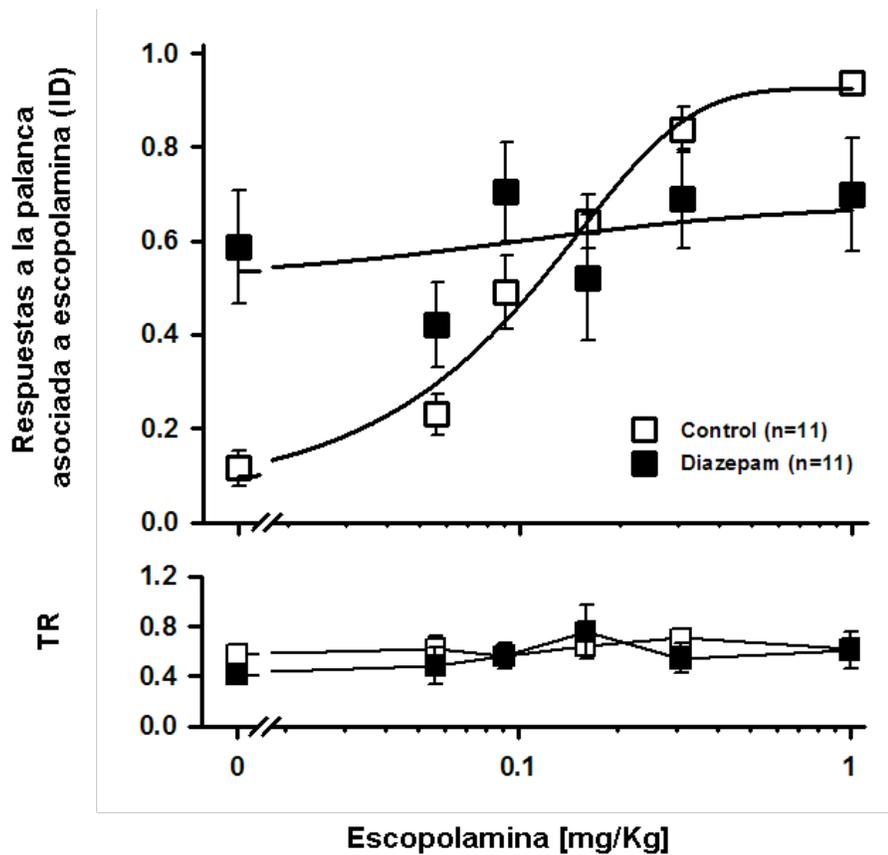
#### **8.4. Efectos a largo plazo del diazepam.**

Con el fin de evaluar el efecto a largo plazo de la administración previa de diazepam sobre la discriminación y generalización de escopolamina, 90 días después de concluidas las primeras pruebas de generalización, tanto el grupo con diazepam como el grupo control, fueron sujetos a una segunda serie de pruebas de generalización con las mismas dosis de escopolamina. Durante esta segunda evaluación el grupo con administración previa de diazepam estuvo libre de la benzodiacepina.

Los resultados obtenidos muestran que después de 90 días, el grupo control preserva la capacidad de discriminar y generalizar su respuesta ante las distintas dosis de escopolamina., mientras que el grupo con diazepam presentó una disminución significativa en su capacidad para generalizar su respuesta a las distintas dosis de escopolamina, incluso habiendo transcurrido 90 días de la última administración de la benzodiacepina.

La figura 4 muestra las curvas de generalización para ambos grupos. Comparado con el grupo control, el grupo con administración previa de diazepam, presentó diferencias estadísticamente significativas en el valor mínimo de la curva de generalización que fue de  $0.58 \pm 0.12$  (t-Student=3.74<sub>[20]</sub>, p= 0.001) y en la pendiente de la curva, cuyo valor fue de  $0.15 \pm 0.13$  (t-Student= -3.25<sub>[20]</sub>, p= 0.002). Sólo el valor máximo de la curva ( $0.69 \pm 0.12$ ) no presentó diferencias significativas con el grupo control (t-Student= -1.94<sub>[20]</sub>, p= 0.06).

Los cambios en los parámetros de la curva del grupo con diazepam, producen un aplanamiento significativo de la función, lo cual indica aleatoriedad en la respuesta de los sujetos y confirma la ausencia del control de estímulos (ver parte superior de la Gráfica 4).



**Figura 4.** Curvas de generalización a los 90 días después del tratamiento con diazepam (1.0 mg/kg) (cuadros cerrados, n=11) y a los 90 días para el grupo control (cuadros abiertos, n=11). El gráfico inferior muestra la tasa de respuestas (TR) para ambos grupos. Medias  $\pm$  S.E.M.

El resumen de los resultados obtenidos de esta fase se puede observar en la Tabla 2, en donde se detalla el análisis estadístico para ambos grupos.

	CONTROL (90d)	DIAZEPAM (90d)	$T_{[G.L.]} = (t\text{-Student})$
E <sub>min</sub>	0.115 $\pm$ 0.0373	0.586 $\pm$ 0.1200	3.746 <sub>[20]</sub> , p= 0.0012
E <sub>máx</sub>	0.936 $\pm$ 0.0204	0.699 $\pm$ 0.1201	-1.948 <sub>[20]</sub> , p= 0.0655
Pendiente	0.687 $\pm$ 0.0901	0.155 $\pm$ 0.1365	-3.253 <sub>[20]</sub> , p= 0.0020

**Tabla 2.** Comparación estadística entre el grupo control y el grupo con administración de diazepam 90 días después de la exposición a la benzodiazepina. E<sub>min</sub>: valor mínimo de la curva, E<sub>máx</sub>: valor máximo de la curva y pendiente de la curva. Medias  $\pm$  S.E.M.

En las pruebas de generalización 90 días después de la administración de diazepam, la comparación estadística (ANOVA) de la tasa de respuesta (TR) para cada una de las

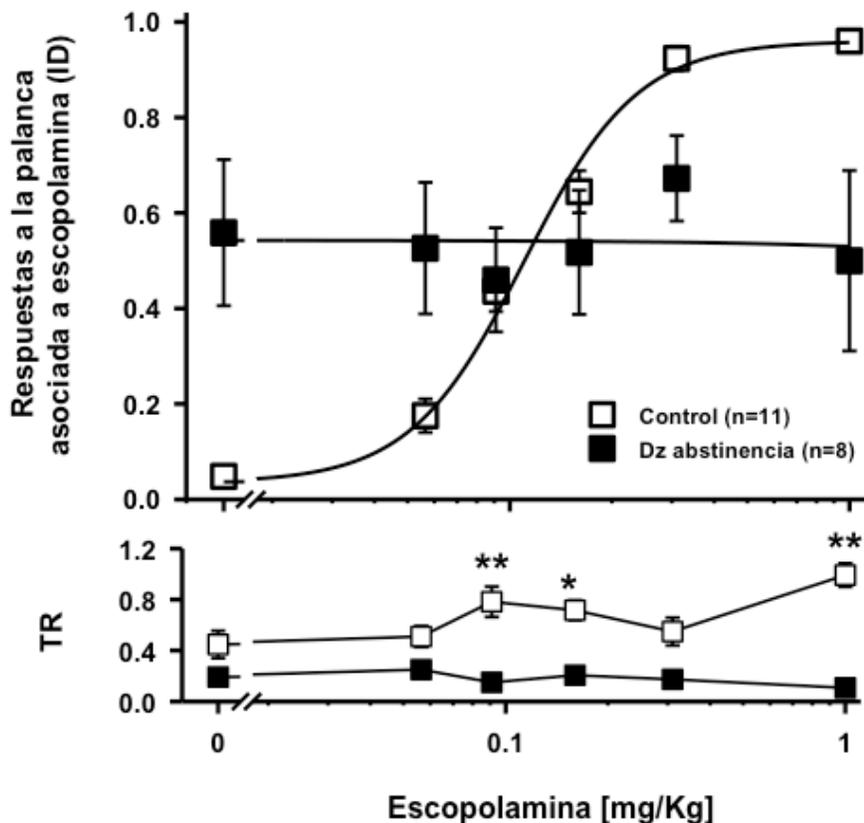
sesiones con las distintas dosis de escopolamina, no mostró diferencias significativas ( $F=0.658_{[131/18.063]}$ ,  $p=0.77$ ) entre el grupo control y el grupo con administración previa de diazepam.

### **8.5. Abstinencia a diazepam y generalización.**

De forma adicional al análisis del efecto inmediato y a largo plazo del diazepam sobre la discriminación y generalización de escopolamina, en el presente trabajo se evaluó el efecto del retiro abrupto y de la consecuente abstinencia a diazepam. Para ello, a un grupo independiente ( $n=8$ ) previamente entrenado a discriminar escopolamina, se le administró diazepam (7.0 mg/kg, i.p.) durante 10 días consecutivos, 24 horas después de la última administración de diazepam, se realizó una nueva serie de pruebas de generalización con las dosis de escopolamina previamente descritas. Los resultados obtenidos en este experimento muestran que el retiro súbito de la administración de diazepam produce cambios drásticos en la conducta de los sujetos. Esta alteración en la conducta, se ve descrita en la evidencia, por la aparición súbita de debilidad, temblores recurrentes, conductas repetitivas de acicalamiento, así como hiperactividad desorganizada.

En la parte superior de la Figura 5, se puede observar los resultados del grupo con retiro de la administración de diazepam y la comparación con el grupo control. El grupo con el retiro súbito del diazepam no presentó un gradiente de generalización en sus respuestas, en lugar de ello, su ejecución se ajusta a una recta con una pendiente negativa ( $-0.01 \pm 0.16$ ), la cual presenta una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la pendiente del grupo control ( $t\text{-Student}= 4.52_{[17]}$ ,  $p< 0.001$ ). De igual forma, el valor máximo ( $0.5 \pm 0.18$ ) y el valor mínimo ( $0.5 \pm 0.15$ ) de la curva del grupo con retiro de diazepam, presentan

diferencias estadísticamente significativas con respecto al valor máximo (t-Student= -2.86<sub>[17]</sub>, p= 0.01) y mínimo (t-Student= 3.90<sub>[17]</sub>, p= 0.001) de la curva del grupo control. Notablemente, las respuestas del grupo con retiro súbito del diazepam se ubican en niveles totalmente azarosos con valores de ID iguales a 0.5. No obstante, las tasas de respuesta (TR) en el grupo con retiro súbito de diazepam, a diferencia de los grupos experimentales anteriores, presentaron valores significativamente diferentes a los valores del grupo control (ver Gráfica 5, inferior y estadística más adelante).



**Figura 5.** Curvas de generalización del grupo con retiro súbito de diazepam (7.0 mg/kg, 10 días) (cuadros cerrados, n=8) y del grupo control (cuadros abiertos, n=11). El gráfico inferior muestra la tasa de respuestas (TR) para ambos grupos. Medias ± S.E.M.

El resumen estadístico de los resultados obtenidos entre el grupo con suspensión de la administración de diazepam y el grupo control, se puede observar en la Tabla 3, en donde se detallan los valores estadístico para ambos grupos.

	CONTROL	ABSTINENCIA-DZ	$T_{[G.L.]} = (t\text{-Student})$
E <sub>min</sub>	0.048 ± 0.0180	0.558 ± 0.1530	3.903 <sub>[17]</sub> , p= 0.0011
E <sub>máx</sub>	0.960 ± 0.0180	0.500 ± 0.1890	-2.860 <sub>[17]</sub> , p= 0.0108
Pendiente	0.773 ± 0.0913	-0.013 ± 0.1616	4.522 <sub>[17]</sub> , p= 0.0003

**Tabla 3.** Comparación estadística entre el grupo control (n=11) y el grupo con abstinencia a diazepam (n=8). E<sub>min</sub>: valor mínimo de la curva, E<sub>máx</sub>: valor máximo de la curva y pendiente de la curva. Medias ± S.E.M.

Como se mencionó anteriormente, la comparación estadística (ANOVA) de las tasas de respuesta (TR) para las sesiones de generalización con las distintas dosis de escopolamina entre el grupo control y el grupo con retiro súbito de la administración de diazepam, demostró diferencias significativas ( $F=11.811_{[113/15.985]}$ ,  $p<0.001$ ) entre los resultados. Las comparaciones múltiples (Tukey-Kramer) confirmaron diferencias estadísticas para la tasa de respuestas entre grupos en las dosis de escopolamina de 0.091 ( $p<0.001$ ), 0.16 ( $p<0.01$ ) y 1.0 ( $p<0.001$ ) mg/kg.

## 9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al solucionar un problema de discriminación entre dos o más, opciones el sujeto aprende a relacionar correctamente una respuesta con señales relevantes, al mismo tiempo que su respuesta se vuelve independiente de señales irrelevantes (Restle, 1955). Este proceso asociativo le confiere al organismo habilidades de adaptación biológica que contribuyen directamente en su capacidad de obtener valores útiles del medio ambiente e incrementar la probabilidad de su sobrevivencia. Las ventajas evolutivas de la capacidad para discriminar estímulos y responder adecuadamente a ellos, seguramente han determinado que este proceso este ampliamente presente en el desarrollo de la especie, desde etapas muy tempranas en el desarrollo filogenético de los organismos (Davidson et al., 2011), así como desde etapas muy tempranas en el desarrollo ontogenético del propio ser humano (Colombo et al., 1990).

La discriminación de estímulos implica un proceso de aprendizaje que produce cambios relativamente estables en la conducta, siendo la memoria el cambio físico en el organismo que permite que la conducta perdure. La memoria es esencial para la experiencia humana: considerando la experiencia como una continuación del pasado más reciente o bien del remoto, así como una proyección hacia el futuro. La memoria es también un mecanismo de importante referencia en el avance evolutivo. Mecanismo que ha ayudado de manera significativa a mejorar la adaptación del individuo al medio, dada su capacidad única para almacenar experiencias (Prado, 2006). En el presente estudio se analizó el efecto del diazepam, uno de los psicofármacos más empleados en la farmacología contemporánea, sobre la memoria para discriminar estímulos farmacológicos, no sólo del efecto inmediato generado por la administración del diazepam, sino también su efecto a largo plazo y el

efecto de su abstinencia posterior a su administración continua por 10 días. Adicionalmente, el proceso asociativo estudiado en el presente trabajo involucra la capacidad para relacionar correctamente respuestas específicas con la administración de un antagonista colinérgico muscarínico, la escopolamina, hasta el momento no se había estudiado el efecto del diazepam sobre la discriminación de estímulos farmacológicos anticolinérgicos. Lo anterior involucra al menos dos sistemas neuroquímicos, el colinérgico y el GABAérgico, y su interacción en procesos de aprendizaje y memoria en mamíferos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que los sujetos, en este caso roedores, son capaces de asociar la administración sistémica de un antagonista colinérgico muscarínico, la escopolamina, con respuestas conductuales específicas, aún cuando en la literatura neurocientífica la escopolamina ha sido clásicamente referida como un potente agente farmacológico que interrumpe la formación de la memoria. Las curvas de adquisición (gráfica 1) demuestran que los sujetos son capaces de aprender a discriminar la presencia del fármaco de la administración de su vehículo (salina), por lo que en el presente estudio se replica la capacidad de la escopolamina para fungir como un estímulo discriminativo (Overton, 1977; Kelley y Porter, 1997), capaz de ejercer un control asociativo de la conducta (Barry, 1974) y de ser generalizado en un gradiente de respuestas (figura 2) en función de la dosis administrada (Jung et al., 1988; Casasola et al., 2007).

Es particularmente interesante la demostración de que el aprendizaje asociativo y la respuesta de discriminación perduran por periodos prolongados, en este caso el grupo control logró conservar, por un periodo de 90 días, un gradiente de generalización prácticamente indistinto al gradiente presentado inmediatamente después del proceso de aprendizaje (figura 4). Lo anterior señala un sistema de memoria a largo plazo involucrado en el proceso (Casasola et al., 2007).

En relación al efecto del diazepam sobre la capacidad de discriminación y generalización de estímulos, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que una vez que los sujetos habían adquirido la discriminación de estímulos, la administración de diazepam disminuye significativamente su capacidad para responder correctamente, alterando de forma evidente el control de estímulos ejercido por la escopolamina (ver figura 3). Este efecto es congruente con una amplia cantidad de estudios que señalan un efecto amnésico de las benzodiazepinas (Buffett-Jerrott, 2002; Gonheim, 1990; Curran, 1991; 1986). El efecto negativo del diazepam sobre la generalización de escopolamina se distingue mayormente en dosis menores a la dosis de entrenamiento (figura 3), las diferencias estadísticamente significativas en la pendiente de la curva de generalización y el valor mínimo de la curva demuestran este efecto (tabla 1), la respuesta del grupo con diazepam a la dosis de 1.0 mg/kg de escopolamina, no presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, aunque se observa una fuerte tendencia estadística ( $p= 0.09$ ). Los datos anteriores sugieren que el efecto del diazepam es mayor sobre la capacidad de los sujetos para discriminar cambios o diferencias en las propiedades del estímulo discriminativo. Este efecto definitivamente altera la capacidad de los sujetos para distribuir su conducta de acuerdo a un gradiente normal de generalización.

Es particularmente notable que el efecto negativo de la benzodiazepina es persistente por un periodo de tiempo prolongado. En el presente estudio se observó (figura 4) que la administración de diazepam puede modificar negativamente la ejecución de los sujetos incluso mucho tiempo después de la última administración de la benzodiazepina. Se ha mencionado que una vez eliminada la droga (benzodiazepina) del cuerpo, no se presenta ningún tipo de amnesia para información nueva (Curran, 1986). Sin embargo, de acuerdo a las observaciones en el experimento a largo plazo del presente trabajo, no ocurre así para

recuperar información asociativa que fue adquirida previamente; el efecto del diazepam sobre la capacidad de discriminación adquirida con anterioridad es aún notable después de 90 días.

Se ha referido que el efecto amnésico de las benzodiazepinas puede ser el resultado de los efectos sedantes y la disminución en la actividad motora que producen estos compuestos (ver Mintzer y Griffiths, 2003<sup>a</sup>; Buffet-Jerrott, 2003). En el caso de la administración de estímulos farmacológicos o de cualquier otro tipo de estímulos utilizados para el control de la conducta, el sujeto debe detectar la presencia del estímulo, procesar la información de manera que asocie el estímulo a la respuesta, y por último, debe emitir la respuesta normalmente de naturaleza motora o con implicaciones motoras. Consecuentemente, el control de estímulos por la conducta, incluye componentes sensoriales, de procesamiento y motores. Estos componentes pueden manipularse de manera independiente para alterar el control de estímulos de la conducta (Picker y Negus en van Haaren, 1993). Los resultados que se presentan en el presente estudio, como consecuencia de la administración inmediata y a largo plazo de diazepam (figura 3 y 4), no se relacionan con cambios sobre la capacidad motora, sensoriomotora o el nivel de motivación de los sujetos, ya que el análisis estadístico de las TR del grupo con diazepam (1.0 mg/kg) y su comparación con el grupo sin administración de la benzodiazepina (grupo control) no demostró cambios o diferencias significativas entre ambos grupos. Lo anterior sugiere que los cambios en la conducta de los sujetos con administración de diazepam, ocurren a niveles del procesamiento de la información y no sobre procesos motores, motivacionales o sensoriomotores. Esta consideración es consistente con la literatura que refiere un efecto específico de las benzodiazepinas sobre la memoria (Buffett-Jerrott y Stewart, 2002).

No obstante este no es el caso para los resultados que se obtuvieron posterior a la suspensión súbita de la administración de diazepam (7.0 mg/kg, i.p., 10 días). Los resultados obtenidos en los sujetos a quienes les fue suspendida la administración de diazepam, muestran una respuesta totalmente azarosa ante el estímulo discriminativo y las variaciones en la magnitud (concentración) del estímulo, pero los resultados se asocian a una disminución en los valores de la tasa de respuestas, en donde por lo menos 3 de las sesiones prueba de generalización (dosis 0.091, 0.16 y 1.0 de escopolamina) presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control que no recibió la benzodiacepina. La disminución general en la tasa de respuestas refiere un efecto desorganizador de la suspensión de la benzodiacepina sobre la conducta de los animales. Como ya se mencionó, se ha referido que la abstinencia a diazepam genera un elevado nivel de ansiedad, irritabilidad, alteraciones perceptuales, temblor, patrones convulsivos y síntomas autonómicos (File, 1990; Lader, 1994; Martijena et al., 1996), los cuales duran comúnmente entre 5 y 15 días (Owen y Tyrer, 1983). A pesar que en el presente estudio se intento minimizar los efectos no cognoscitivos de la abstinencia a diazepam, considerando para ello un periodo de administración del diazepam (10 días) menor a lo empleado habitualmente en otros estudios para inducir la abstinencia (p.e. 21 días en Martijena et al., 1996), la disminución significativa en la tasa de respuestas del grupo con suspensión de diazepam no permite distinguir efectos motores, de irritabilidad, ansiogénicos o cognoscitivos como causantes de los cambios conductuales. No obstante, a pesar de que los cambios en los resultados de los sujetos durante las pruebas de generalización no se pueden atribuir a procesos propiamente amnésicos o de una alteración en la recuperación de la información previamente adquirida, la alteración conductual en los sujetos con interrupción súbita del diazepam es por si misma importante y demuestra la relevancia en la suspensión

del tratamiento con este tipo de psicofármacos en el desempeño conductual de diversas tareas. Si bien en el presente estudio la tarea sustantiva consistió en la discriminación de estímulos y la consecuencia de la tarea residió en la obtención o no de un reforzador, podemos sospechar los resultados de la suspensión súbita de las benzodiacepinas cuando la consecuencia del desempeño conductual sea de mayor relevancia (p.e. seguridad del individuo o evitación de consecuencias aversivas). Convendría incluir pruebas de ansiedad, motoras y atentivas o una instrumentación más específica (Fluck, 1998; Buffett-Jerrott, 2002), para evaluar diferencialmente los diversos efectos de la abstinencia a las benzodiacepinas sobre el desempeño de tareas conductuales.

Adicionalmente, la interacción entre diversos sistemas neuroquímicos es un proceso habitual en la fisiología del sistema nervioso. El presente trabajo incursiona en el análisis de la interacción entre dos sistemas de neurotransmisión, el colinérgico y el GABAérgico. Algunos estudios han referido evidencia al respecto, por ejemplo, la evidencia de una mejoría en la amnesia inducida por escopolamina con el agonista inverso del receptor sensible a las benzodiacepinas, las beta-carbolinas, sugiere un control GABAérgico sobre la neurotransmisión colinérgica (Prabhakar et al., 2007). Por su parte, Mc Namara y Skelton (1992), sugirieron una relación funcional entre los sistemas colinérgico y benzodiacepínico, reportando que la escopolamina induce un impedimento en el aprendizaje dependiente de lugar, como resultado del incremento en la actividad benzodiacepínica/GABAérgica, incluso involucrando este efecto en trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo.

Finalmente, resta mucho por analizar sobre los principios neurofisiológico y conductuales de la discriminación de estímulos, sus mecanismos neuroquímicos y la interacción con la acción de diferentes psicofármacos que modifican la conducta.

## **9.1. Conclusiones.**

1. Los resultados del presente estudio corroboran que las ratas son capaces de discriminar la administración del antagonista muscarínico la escopolamina y generalizar su respuesta ante distintas dosis decrecientes de este antagonista.
2. La administración de la benzodiazepina diazepam (1.0 mg/kg, i.p.) produce cambios significativos en la capacidad previamente adquirida por los sujetos para discriminar y generalizar la administración de un estímulo farmacológico antimuscarínico.
3. La administración de la benzodiazepina diazepam (1.0 mg/kg, i.p.) produce cambios significativos a largo plazo (90 días) en la capacidad previamente adquirida por los sujetos para discriminar y generalizar la administración de un estímulo farmacológico antimuscarínico.
4. Independientemente del efecto específico de las benzodiazepinas sobre la memoria, el retiro súbito en la administración de dosis continuas de diazepam (7.0 mg/kg) por un periodo de 10 días, produce cambios generales sobre la organización de la conducta de los sujetos, imposibilitando la ejecución adecuada en una tarea de discriminación de drogas previamente adquirida.
5. El paradigma de discriminación de drogas se presenta como un procedimiento útil para la evaluación conductual del efecto de psicofármacos sobre el aprendizaje asociativo y la memoria.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Ananad, D., Saraf, MK., Prabhakar, S. (2007) Sustained inhibition of brotizolam induced anterograde amnesia by norharmaline and retrograde amnesia by L-glutamic acid in mice. *Behav Brain Res.* 182(1): 12-20.
2. Aschcraft, M. (2001) *Cognition*. New Jersey: Prentice Hall, p.p. 7-12
3. Atkinson, RC. Shiffrin, RM. (1968) Human Memory: A proposed system and its control processes. En Spence, K.W. y Spence, J.T. (Eds.). *The psychology of learning and motivation*. New York: Academic Press.
4. Atkinson RC., Shiffrin RM. (1968) *The psychology of learning and motivation*. New York: Academia Press. 89-105.
5. Atkinson RC., Shiffrin RM. (1971) The control of short term memory. *Scientific American*, 225: 82-90.
6. Baddeley, A. (1999). *Memoria Humana: teoría y práctica*. McGraw-Hill, España.
7. Baddeley, A. (2000). Short-term and working memory. En: E. Tulving y F.I.M. Craik (Eds.). *The Oxford Handbook of Memory*. New York: Oxford University Press. 77-92.
8. Barry, H. III. (1974) Classification of drugs according to their discriminable effects in rats. *Fed Proc.* 33 (7): 1814-1824.
9. Bermúdez, F., Prado, R. (2001) *Memoria: Dónde reside y cómo se forma*. Trillas, México.
10. Bishop KI., Curran HV. (1995) Psychopharmacological analysis of implicit and explicit memory: a study with lorazepam and the benzodiazepine antagonist flumazenil. *Psychopharmacology* 121:267-278.
11. Bishop KI., Curran HV., Lader M. (1996) *Experimental Clinical Psychopharmacology*, 8: 37-42.
12. Bishop KI, Curran HV (1998) An investigation of the effects of benzodiazepine receptor ligands and of scopolamine on conceptual priming. *Psychopharmacology*, 140: 345-353.
13. Brown MW, Brown J, Bowes JB (1989) Absence of priming coupled with substantially preserved recognition in lorazepam-induced amnesia. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 41(3):599-617.
14. Borde, N., Krazem, A., Jaffard, R., Beracochea, D. (1997) Memory deficits following diazepam administration in mice: evidence for retrieval memory impairments. *Psychobiology* 25, 202-209.

15. Buffett-Jerrott SE, Stewart SH, Teehan MD. (1998) A further examination of the time dependent effects of oxazepam and lorazepam on implicit and explicit memory. *Psychopharmacology* 138:344–353.
16. Buffet-Jerrott SE, Stewart SH, Bird S, Teehan MD. (1998) An examination of differences in the time course of oxazepam's effects on implicit vs explicit memory. *Journal of Psychopharmacology*. 12:338-347.
17. Buffett-Jerrott SE, Stewart SH. (2002) Cognitive and Sedative Effects of Benzodiazepine Use. *Current Pharmaceutical Design* 8:45-58.
18. Buffett-Jerrott S, Stewart SH, et al. (2003) Effects of benzodiazepines on explicit memory in a pediatric surgery setting. *Psychopharmacology* 168: 377-386.
19. Cain, DP. (1997) Prior non-spatial pretraining eliminates sensorimotor disturbances and impairments in water maze learning caused by diazepam. *Psychopharmacology* 130 (1997), pp. 313–319.
20. Carter CS, Maddock R, Chaderjian M, Post R (1998) Progressive Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry. 22: 279-292.
21. Casasola C, Mejía-Gervacio S, Cruz-Pérez M, Sánchez-Castillo H, Velázquez Martínez DN (2007) Participation of the dorsal hippocampus in stimulus discrimination with scopolamine. *Brain Research* 1178: 125-131.
22. Casasola, C., Montiel, T., Calixto, E., Brailowsky, S. (2004) Hyperexcitability induced by GABA withdrawal facilitates hippocampal Long-term Potentiation. *Neuroscience*. 126(1): 163-171.
23. Colombo, J., Mitchell, D. W., Coldren, J. T., Atwater, J. D. (1990). Discrimination learning during the first year: Stimulus and positional cues. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 16(1): 98-109.
24. Colpaert FC., Lal H., Niemegeers CJ., Janssen PA. (1975) Investigations on drug produced and subjectively experienced discriminative stimuli. *Life Science* 16: 717-727.
25. Colpaert, F. C., & Koek, W. (1995). Empirical evidence that the state dependence and drug discrimination paradigms can generate different outcomes. *Psychopharmacology*, 3, 272-279.
26. Coull, JT., Frith, CD., Dolan, RJ. (1999) Dissociating neuromodulatory effects of diazepam on episodic memory encoding and executive function. *Psychopharmacology*. 145: 213-222.
27. Coull JT, Sahakian BJ, Middleton HC, Young AH, Park SB, McShane RH, Cowen PJ, Robbins TW. (1995) Differential effects of clonidine, haloperidol, diazepam and

- tryptophan depletion on focused attention and attentional search. *Psychopharmacology (Berl)*, 121: 222-229.
28. Curran HV. (1986) Tranquillizing memories: A review of the effects of benzodiazepines on human memory. *Biological Psychology*, 23: 179-213.
  29. Curran HV. (1991) Benzodiazepines, memory and mood: a review. *Psychopharmacology (Berl)*, 105: 1-8.
  30. Curran HV, Gorenstein C. (1993) Differential effects of lorazepam and oxazepam on priming. *Int Clin Psychopharmacology* 8:37-42.
  31. Curran HV, Gorenstein C, Lader M. (1993) Comparative amnesic and sedative effects of lorazepam and oxazepam in healthy volunteers. *J Psychopharmacology* 7:249-256.
  32. Curran HV. (2000) Psychopharmacological perspectives on memory, *The Oxford Handbook of Memory*. New York OUP. Pp 539-554.
  33. Davidson C, Prados J, Gibson CL, Young AM, Barnes D, Sherlock R, Hutchinson CV. (2011) Shedding light on photosensitive behaviour in brown planaria (*Dugesia Tigrina*). *Perception*. 40(6):743-746.
  34. Davies, M.F., Sasaki, S.E., Carlen, P.L. (1987) Benzodiazepine-induced epileptiform activity in vitro. *Brain Res.* 437, 239-244.
  35. Doble, A., Martin, I. (1996) *The GABAA/benzodiazepine receptor as a target for psychoactive drugs*. Neuroscience Intelligence Unit, Chapman and Hall, New York.
  36. Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annuals Reviews of Psychology*, 55, 51-68.
  37. Ewing-Cobbs, L., Prasad, M., Fletcher, J.M., Levin, H.S., Miner, M.E., Eisenberg, H.M. (1998). Attention after pediatric traumatic brain injury: A multidimensional assessment. *Child Neuropsychology*. 4:35-48.
  38. Feldman, R. (2002). *Psicología con aplicaciones en países de habla hispana*. Mc Graw Hill. México, pp. 230, 232.
  39. File, S.E. (1990). The history of benzodiazepine dependence: a review of animal studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 14, pp. 135-146
  40. Fluck E., File SE., Springett J., Kopelman MD. (1998) Does the sedation resulting from sleep deprivation and lorazepam cause similar cognitive deficits? *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 59: 909-915.

41. Gardiner, J.M., Richardson-Klavehn, A. (2000) Remembering and knowing. In Oxford Handbook of Memory (Ed E. Tulving y F. I. M. Craik) Oxford University Press, pp. 229-244.
42. Gazzaniga, M., Ivry, R., Mangun, G. (2002). Cognitive Neuroscience. The Biology of the Mind. New York: Norton & Company, pp. 96-105.
43. Glennon RA, Järbe TUC, Frankenheim J. (1991) Drug Discrimination: Applications to Drug Abuse Research, NIDA Monograph Series.
44. Gonheim MM., Mewaldt SP. (1990) Benzodiazepines and human memory: a review. *Anesthesiology*, 72: 926-938.
45. Gonheim MM. (2004) Drugs and Human Memory. *Anesthesiology*, 100: 987-1002.
46. Goodman, Gilman A. (2007) Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw Hill. 407-421.
47. Gorissen ME., Eling PA. (1998) Dual task performance after diazepam intake: can resource depletion explain the benzodiazepine-induced amnesia? *Psychopharmacology (Berl)*. 138:354-361.
48. Greenblatt D., Shader RI. (1974) Benzodiazepines in clinical practice. Raven Press.
49. Gunther U., Benson J., Benke D., Fritschy JM., Reyes G., et al. (1995) Benzodiazepine insensitive mice generated by targeted disruption of the gamma 2 subunit gene of gamma-aminobutyric acid type A receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 92: 7749–7753.
50. Hata T, Okaichi H. (2004) Medial prefrontal cortex and precision of temporal discrimination: a lesion, microinjection, and microdialysis study. *Neurosci. Res*. 49:81-89.
51. Haefely W. (1994) Allosteric modulation of the GABA<sub>A</sub>-receptor channel: a mechanism for interaction with a multitude of central nervous system functions, in *The Challenge of Neuropharmacology*. Ediciones Roche, Basel, Suiza. Pp 15-39.
52. Hanson SM, Czajkowski C. (2008) Structural Mechanisms Underlying Benzodiazepine Modulation of the GABA<sub>A</sub> Receptor. *The Journal of Neuroscience*, 28 (13), 3490-3499.
53. Herling S., Shannon HE. (1982) Ro 15-1788 antagonizes the discriminative stimulus effects of diazepam in rats but not similar effects of pentobarbital. *Life Science*. 31:2105- 2122.
54. Hogan JB, Hodges DB Jr, Lelas S, Gilligan PJ, McElroy JF, Lindner MD. (2005) Effects of CRF(1) receptor antagonists and benzodiazepines in the Morris water maze

- and delayed non-matching to position tests. *Psychopharmacology (Berl)*. 178(4): 410-419.
55. Hommer DW. (1991) Benzodiazepines in clinical practice: Risks and benefits. American Psychiatric Press. 113-130.
  56. Hommer DW, Weingartner H, Breier A. (1993) Dissociation of benzodiazepine-induced amnesia from sedation by flumazenil pretreatment. *Psychopharmacology (Berl)*, 112:445-460.
  57. Izaute M., Bacon E. (2006) Effects of the amnesic drug lorazepam on complete and partial information retrieval and monitoring accuracy. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Nov;188(4):472-81.
  58. Johnson DN, Weingartner HJ, Andreason P, Goerge DT. (1995). An effect of triazolam on visual attention and information processing. *Psychopharmacology (Berl)*, 121:145-149.
  59. Jung M, Perio A, Worms P, Biziere K. (1998) Characterization of the scopolamine stimulus in rats. *Psychopharmacology (Berlin)* 95: 195-199.
  60. Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (2001). *Principios de neurociencia*. Cuarta edición, Madrid: McGraw-Hill / Interamericana de España.
  61. Kaplan SA. (1980) Pharmacokinetics of the benzodiazepines: Benzodiazepines today and tomorrow. 47-57. MTP Press, Lancaster. Pp 47-57.
  62. Kash TL., Trudell JR., Harrison NL. (2004) Structural elements involved in activation of the gamma-aminobutyric acid type A (GABAA) receptor. *Biochem Soc Trans*. Jun;32(Pt3): 540-546.
  63. Kelley BM, Porter JH. (1997) The role of muscarinic cholinergic receptors in the discriminative stimulus properties of clozapine in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 57:707-719.
  64. Kelley BM., Porter JH., Varvel SA. (1995). Mianserin as a discriminative stimulus in rats: asymmetrical cross-generalization with scopolamine. *Psychopharmacology (Berlin)* 120: 491-493.
  65. Klein R, Kingstone A, Pontefarct A, In K (1992). *Eyes movements and visual cognition: Scene perception and reading*. New York: Springer-Verlag.
  66. Kudoh M., Seki K., Shibuki K. (2004) Sound sequence discrimination learning is dependent on cholinergic inputs to the rat auditory cortex. *Neurosci Res*. 50:113-123.
  67. Lader, M. (1994) Biological processes in benzodiazepine dependence. *Addiction*. 89: 1413-1418.

68. Legrand F, Vidilhet P, Danion JM, Grangé D, Giersch A, Van Der Linden M, Imbs JL (1995). Time course of the effects of diazepam and lorazepam on perceptual priming and explicit memory. *Psychopharmacology (Berl)*, 118:311-317.
69. Lezak MD. (1995) *Neuropsychological assessment*, 3rd ed. Oxford UK. OUP, 119-125.
70. Macdonald, R.L., Olsen, R.W. (1994) GABAA receptor channels. *Annu. Rev. Neurosci.* 17, 569-602.
71. Marciani, M.G., J. Gotman, F. Anderman and A. Oliver. (1985) Patterns of seizure activation after withdrawal of antiepileptic medication. *Neurology.* 35: 1537-1543.
72. Martijena, I.D., Tapia, M., Molina, V.A. (1996) Altered behavioral and neurochemical response to stress in benzodiazepine-withdrawn rats. *Brain Res.*, 712(2): 239-244.
73. Maubach KA, Martin K, Choudhury HI, Seabrook GR. (2004) Triazolam suppresses the induction of hippocampal long-term potentiation. *Neuroreport.* May 19;15(7): 1145-9.
74. Mc Namara RK., Skelton RW. (1992) Assessment of a cholinergic contribution to chlordiazepoxide-induced deficits of place learning in the Morris water maze. *Pharmacology Biochemistry Behavior.* 41: 529-538.
75. Mehta, A.K. and Ticku, M.K. (1999) An uptake on GABA<sub>A</sub> receptors. *Brain Res. Rev.* 29, pp. 196-217.
76. Meyers, F., Janet, E., Goldfien, A. (1980) *Farmacología Clínica*. México: El Manual Moderno, S.A.
77. Mirsky AF, Anthony BJ, Duncan CC, Ahearn MB, Kellam SG, (1991) Analysis of the elements of attention: a neuropsychological approach *Neuropsychology Review.* 2:109-145.
78. Mintzer MZ, Griffiths RR. (2003a) Triazolam-amphetamine interaction: dissociation of effects on memory versus arousal. *J Psychopharmacol.* Mar;17(1): 17-29.
79. Mintzer, M.Z., Griffiths, R.R. (2003) Lorazepam and scopolamine: A single-dose comparison of effects on human memory and attentional processes. *Exp Clin Psychopharmacol.* 11, 56-72.
80. Mintzer MZ, Kuwabara H, Alexander M, Brasic JR, Ye W, Ernst M, Griffiths RR, Wong DF. (2006) Dose effects of triazolam on brain activity during episodic memory encoding: a PET study. *Psychopharmacology (Berl).* Nov;188(4):445-461.
81. Mohler H, Fritschy JM, Rudolph U. (2002) A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther.* Jan;300(1): 2-8.

82. Munte TF, Gehde E, Johannes S, Seewald M, Heinze HJ. (1996) Effects of alprazolam and bromazepam on visual search and verbal recognition memory in humans: a study with event-related brain potentials. **Neuropsychobiology**. 34(1): 49-56.
83. Murdock BB, (1971) The psychology of learning and motivation. New York: Academic Press. 5: 67-120.
84. Murray JB. (1990) Diazepam (Valium): its dependency liability. *J Psychol*. Nov;124(6): 655-74.
85. Nader, K. (2003). Memory traces unbound. *Trends in neurosciences*, 26, 65-72.
86. Nogueira AM, Pompeia S, Galduroz JC, Bueno OF. (2006) Effects of a benzodiazepine on free recall of semantically related words. *Hum Psychopharmacol*. Jul;21(5):327-336.
87. Olsen, W. R. Avoli, M., (1997) GABA and Epileptogenesis. *Epilepsia*. 38: 399-407.
88. Overton, D.A. (1977) Discriminable effects of antimuscarinics: dose response and substitution test studies. *Pharmacol Biochem Behav*. 6: 659-666.
89. Overton DA., Leonard WR., Merkle DA. (1986) Methods for Measuring the Strength of Discriminable Drug Effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Vol. 10, 251-263.
90. Owen, R.T. Tyrer, P. (1983) Benzodiazepine dependence. A review of the evidence. *Drugs*, 25, pp. 385–398
91. Polc P. (1988) Electrophysiology of benzodiazepine receptor ligands: multiple mechanisms and sites of action. *Progress in Neurobiology*. 31: 349-423.
92. Prabhakar S, Kumar Saraf M, Pandhi P, Snand A. (2007) Bacopa monniera exerts anti-amnesic effect on diazepam-induced anterograde amnesia in mice. *Psychopharmacology*. 1049-8.
93. Prado RA, Quirarte GL (2006) En: De la Fuente R, Álvarez FJ. *Biología de la Mente*. Fondo de Cultura Económica, 245-256.
94. Priest RG, Amrein UVFR, Skreta M (1980) Benzodiazepines today and tomorrow. *Proceedings of the first International Symposium on benzodiazepines in Rio de Janeiro*. MTP Press, Lancaster.
95. Rammsayer TH, Rodewald S, Groh D. (2000) Dopamine-antagonistic, anticholinergic, and GABAergic effects on declarative and procedural memory functions. *Brain Res Cogn Brain Res*. Jan;9(1):61-71

96. Rains, D. (2001). Principles of Human Neuropsychology. Boston: McGraw Hill, pp. 260- 275.
97. Randall. (1961) Pharmacology of chlordiazepoxide (Librium) En Disorders of Nervous System, XXII, Sec. 2 Suppl. Pp.7-10. En Benzodiazepines today and tomorrow. MTP Press, Lancaster.
98. Restle, F. (1955). A theory of discrimination learning. Psychological Review. 62(1): 11-19.
99. Robbins TW, Semple J, Kumar R, Truman MI, Shorter J, Ferraro A, Fox B, McKay G, Matthews K. (1997) Effects of scopolamine on delayed-matching-to-sample and paired associates tests of visual memory and learning in human subjects: comparison with diazepam and implications for dementia. Psychopharmacology (Berl). Nov;134(1): 95-106.
100. Robinson L, Harbaran D, Riedel G. (2004) Visual acuity in the water maze: sensitivity to muscarinic receptor blockade in rats and mice. Behav Brain Res. 151:277-286.
101. Rudolph U, Mohler H. (2004) Analysis of GABA<sub>A</sub> receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44:475-98.
102. Rush, C.R., Baker, R.W. (2001) Zolpidem and triazolam interact differentially with a delay interval on a digit-enter-and-recall task. Hum. Psychopharmacol. 16(2): 147-157.
103. Schacter DL. (1992) Implicit knowledge: New perspectives on unconscious processes. Proc Natl Acad Sci. 89:11113-1.
104. Scoville, W. B., Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. J. Neurol. Neurosurg Psychiat., 20: 11-21.
105. Sellal F, Danion JM, Kauffmann-Muller F, Grage D, Imbs JL, Van Der Linden M, Singer L. (1992) Differential effects of diazepam and lorazepam on repetition priming in healthy volunteers. Psychopharmacology (Berl), 108: 371-379.
106. Sigel E. (2002) Mapping of the benzodiazepine recognition site on GABA (A) receptors. Curr Top Med Chem 2: 833-839.
107. Squire, L., Zola-Morgan, S. (1991). The Medial Temporal Lobe Memory System. Science, 253, 1380-1386.
108. Squire, R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. Neurobiology of Learning and Memory, 82, 171-177.

109. Squire LR, Kandel, ER. (2009) *Memory: from Mind to Molecules*. Roberts and Company, 1: 3-225.
110. Sternbach LH. (1980) *The Benzodiazepine Story: benzodiazepines today and tomorrow*. MTP Press, Lancaster. 3-17.
111. Tan, KR, Baur, R, et al. (2007) Two neighboring residues of loop A of the  $\alpha 1$  subunit point towards the benzodiazepine binding site of GABAA receptors. *FEBS Letters* 581, 4718-4722.
112. Thompson T., Dews PB. (1977) *Advances in behavioral pharmacology Vol. 1*. Academic Press, Inc. 267.
113. Trimble MR. (1983) *Benzodiazepines divided: a multidisciplinary review*. Universidad de Michigan, Wiley. 63-309.
114. Tulving E. (1972) Episodic and semantic memory, *Organization of Memory*. New York, Academic Press. 381-403.
115. Tulving, E. (1985). How many memory systems are there? *American Psychologist*, 40, 385 – 398.
116. Tulving E, Schacter DL. (1990) Priming and human memory systems. *Science*, 247:301-305.
117. Van Haaren F. (1993) *Methods in behavioral pharmacology*. Elsevier Science Publishers, 117-231.
118. Van Zomeren AH, Brouwer WH. (2002) *Clinical neuropsychology of attention*. New York. OUP, 109-115.
119. Vidailhet P, Danion JM, Kauffmann-Muller F, Grangé D, Giersch A, Van Der Linden M. (1994) Lorazepam and diazepam effects on memory acquisition in priming tasks. *Psychopharmacology (Berl)*, 115: 397-406.
120. Vidailhet P, Kazès M, Danion JM, Kauffmann-Muller F, Grangé D. (1996) Effects of lorazepam and diazepam on conscious and automatic memory processes. *Psychopharmacology (Berl)*, 127:63-72.
121. Weingartner HJ, Hommer DW, Lister RG, Thompson K, Wolkowitz O. (1992) Selective effects of triazolam on memory. *Psychopharmacology (Berl)*, 106:341-345.
122. Weingartner HJ, Hommer DW, Breier A (1993) Dissociation of benzodiazepine-induced amnesia from sedation by flumazenil pretreatment. *Psychopharmacology (Berl)*, 112: 455-460.

123. Weingartner HJ, Fleishaker JC, Garzone PD, Chambers JH, Sirocco K. (1995) Comparison of the spectrum of cognitive effects of alprazolam and adinazolam after single doses in healthy subjects. *Psychopharmacology (Berl)*, 120: 169-176.
124. Weingartner HJ, Rawlings R, George DT, Eckardt M. (1998) *Psychopharmacology*, 138:311-317.
125. Wright RD., Ward LM. (1994) Shifts of visual attention: an historical and methodological overview. *Canadian Journal Experimental Psychology*, 48: 151-166.
126. Young R., Glennon RA. (1987) Stimulus properties of benzodiazepines: Correlations with binding affinities, therapeutic potency, and structure activity relationships. *Psychopharmacology* 93:529-533.