



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

# JUNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE PSICOLOGÍA

**“ANÁLISIS DE LA PARTICIPACIÓN DE LOS  
RECEPTORES MUSCARÍNICOS PERIFÉRICOS,  
DEL RECEPTOR M1 Y DE LA CORTEZA  
PREFRONTAL DORSOLATERAL EN LAS  
PROPIEDADES DISCRIMINATIVAS DE LA  
ESCOPOLAMINA”**

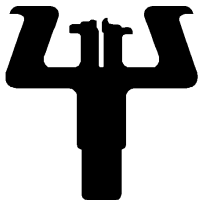
# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**LICENCIADA EN PSICOLOGÍA**  
P R E S E N T A :  
ALEJANDRA DE LA CONCEPCIÓN AGUAYO DEL CASTILLO

DIRECTOR DE TESIS: DR. CÉSAR CASASOLA CASTRO

REVISOR DE TESIS: DR. HUGO SÁNCHEZ CASTILLO

SINODALES: DR. OSCAR ZAMORA AREVALO  
DR. EDUARDO CALIXTO GONZÁLEZ  
DR. OCTAVIO GARCÍA GONZÁLEZ



® Facultad  
de Psicología

México, D.F.

Enero 2012.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	1
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>2. ANTECEDENTES</b>	4
<b>2.1. Acetilcolina y memoria</b>	4
<b>2.2. Discriminación de estímulos y generalización</b>	11
2.2.1. Modelos de discriminación	13
2.2.2. Neuroanatomía y discriminación	15
2.2.3. Corteza prefrontal dorsolateral y discriminación de estímulos	16
<b>2.3. Discriminación de drogas</b>	18
2.3.1. Historia y aplicaciones	18
2.3.2. Modelos animales en discriminación de drogas	20
2.3.3. Fármacos como estímulos discriminativos	21
2.3.4. Discriminación de escopolamina	21
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	24
<b>4. OBJETIVOS</b>	25
<b>4.1. Objetivos generales</b>	25
<b>4.2. Objetivos específicos</b>	25
<b>4.3. Hipótesis generales</b>	25
<b>5. MÉTODO</b>	26
<b>5.1. Sujetos</b>	26
<b>5.2. Instrumentos y materiales</b>	27
<b>5.3. Fármacos</b>	27
<b>5.4. Procedimientos</b>	28
<b>5.5. Análisis de datos</b>	32
<b>6. RESULTADOS</b>	34
<b>6.1. Adquisición de la discriminación de escopolamina</b>	34
<b>6.2. Generalización con escopolamina</b>	35
<b>6.3. Generalización con metilescopolamina y pirenzepina</b>	36
<b>6.4. Lesión en la corteza prefrontal dorsolateral</b>	38
<b>6.5. Verificación histológica</b>	41
<b>7. DISCUSIÓN</b>	43
<b>8. CONCLUSIONES</b>	50
<b>9. REFERENCIAS</b>	51

## Resumen

Una amplia cantidad de investigación ha demostrado que la administración de agentes farmacológicos anticolinérgicos produce potentes efectos amnésicos. Sin embargo, diversas especies de mamíferos son capaces de adquirir respuestas de asociación, discriminación y generalización empleando la administración de antagonistas colinérgicos como estímulo discriminativo. No obstante, no está claro si en el mecanismo a través del cual estos fármacos ejercen el control de estímulos participan los receptores colinérgicos periféricos, si hay una participación diferencial de los distintos tipos de receptores o que sistemas cerebrales participan en este proceso. Por lo cual los objetivos del presente estudio fueron estudiar la participación de los receptores muscarínicos periféricos, analizar la participación del receptor muscarínico  $M_1$  y evaluar la participación de la corteza prefrontal dorsolateral en las propiedades discriminativas del antagonista muscarínico escopolamina. Se utilizaron 37 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso al inicio de los experimentos de 250-300 g, las cuales fueron entrenadas a discriminar entre la administración de escopolamina (1.0 mg/kg) y de solución salina (1.0 ml/kg), empleando para ello una tarea operante con dos palancas. Una vez que los animales alcanzaron el criterio de adquisición se obtuvieron curvas de generalización, para lo cual los sujetos fueron asignados aleatoriamente a 5 grupos con las siguientes condiciones: 1) escopolamina (0.0, 0.056, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg), 2) metilescopolamina (mismas dosis), la cual no cruza la barrera hematoencefálica, 3) antagonista muscarínico selectivo del receptor  $M_1$  pirenzepina (0.0, 0.056, 0.091, 0.16, 0.31, 1.0 y 3.0 mg/kg), 4) grupo con lesión electrolítica en corteza prefrontal dorsolateral y 5) grupo con lesión falsa (sham).

Los resultados corroboran que los sujetos son capaces de discriminar la administración de escopolamina y generalizar su respuesta ante distintas dosis de ella. No obstante, las curvas de generalización muestran que los sujetos no fueron capaces de generalizar su respuesta ante la administración de metilescopolamina ni de pirenzepina, por lo cual los datos sugieren que las propiedades discriminativas de la escopolamina se procesan a nivel del SNC y que el receptor  $M_1$  no participa en ello. Por su parte, la lesión de la corteza prefrontal dorsolateral no produjo diferencias estadísticamente significativas en la curva de generalización con respecto al grupo sin lesión, lo cual sugiere que la corteza prefrontal dorsolateral no participa en el control de estímulos ejercido por la escopolamina.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los seres vivos se enfrentan constantemente a una gran diversidad de cambios en el medio ambiente, por ejemplo, cambios climáticos, de temperatura, luminosidad, en la disponibilidad y ubicación de recursos como alimento, pareja, resguardo e incluso de amenazas provenientes de depredadores, etc. A lo largo de la evolución, se han desarrollado diferentes habilidades en distintas especies las cuales les permiten responder adecuadamente a los cambios en el medio ambiente, con el fin de aumentar la probabilidad de sobrevivencia, de reproducción y de conservación de la especie, lo cual ha derivado en una amplia gama de características adaptativas que involucran desde la organización molecular y celular hasta los procesos neurocognoscitivos o procesos superiores.

La necesidad de interactuar con las fluctuaciones y variaciones ambientales exige que el organismo sea capaz de adquirir y almacenar nueva información, con el fin de utilizarla posteriormente para modificar y reorganizar su conducta de acuerdo a las demandas o situaciones ambientales determinadas, en este contexto se destacan claramente los procesos de aprendizaje y memoria.

El aprendizaje, es el proceso para adquirir nueva información del medio ambiente, mientras que la memoria es el proceso necesario para almacenar y evocar dicha información (Squire, 1987). El aprendizaje se puede definir como la modificación relativamente permanente de la conducta dependiente de la experiencia (Dudai, 1995).

En busca de un sustrato biológico de los procesos de memoria se ha descrito la relación entre diferentes sistemas cerebrales y distintos tipos de memoria, como el lóbulo temporal medial y el diencefalo con la memoria declarativa (Carlson, 2006), los ganglios basales y la memoria de procedimiento, el cerebelo y la amígdala con el condicionamiento clásico, las vías reflejas con el aprendizaje no asociativo (Squire y Zola, 1996), o bien la corteza frontal en su porción dorsolateral con la memoria de trabajo (Squire, 1987). Muchas de estas estructuras reciben proyecciones colinérgicas desde núcleos del cerebro basal

anterior o de interneuronas colinérgicas. Empleando herramientas farmacológicas, como el uso de agonistas y antagonistas de los receptores de acetilcolina (particularmente muscarínicos), se ha demostrado que la participación de este sistema de neurotransmisión es indispensable en el proceso de distintos tipos de memoria (Hasselmo, 1999). Resulta anticuada la idea de que la actividad de dichas áreas este restringida a un solo proceso mnémico.

Una habilidad adaptativa fundamental de los mamíferos es la capacidad de diferenciar estímulos exteroceptivos e interoceptivos y organizar la conducta a partir de la selección de respuestas adecuadas ante estos estímulos. La farmacología conductual ha utilizado un paradigma experimental en el cual se entrena a un organismo a discriminar entre la administración de dos o más fármacos o entre la administración de un fármaco y su ausencia. Este procedimiento denominado "*discriminación de drogas*" permite investigar las propiedades como estímulo discriminativo de diversos fármacos. Una amplia cantidad de investigación ha demostrado que diversas especies, entre ellas roedores, primates y humanos, son capaces de adquirir respuestas de asociación, discriminación y generalización ante la administración de agentes antimuscarínicos como la escopolamina (Overton, 1977; Jung y cols., 1987b; Kelley y Porter, 1997; Casasola y cols., 2007).

No obstante de que el paradigma de discriminación de drogas con antagonistas muscarínicos se ha empleado por varios años, los mecanismos neurofisiológicos involucrados en la discriminación de este tipo de fármacos no están suficientemente analizados ni determinados. Por lo cual, en el presente estudio se analizó si durante la discriminación de escopolamina en ratas están involucrados los receptores muscarínicos periféricos, si el antagonismo específico del receptor muscarínico tipo  $M_1$  es suficiente para reproducir el control de estímulos de la escopolamina y si la integridad de la corteza prefrontal dorsolateral es indispensable para discriminar la administración de escopolamina. Para lo cual se emplearon curvas de generalización como medida cuantitativa del control de estímulos ejercido por la escopolamina.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Acetilcolina y memoria**

A partir de numerosos estudios con pacientes humanos y manipulaciones experimentales con animales no humanos, se han descrito distintos tipos de memoria, cada uno de los tipos de memoria se diferencian en función de la naturaleza de la información, el tipo de procesamiento, del tiempo de su almacenamiento, de sus bases neuroanatómicas, etc. Por ejemplo, Atkinson y Shiffrin propusieron el modelo multimodal en 1968, en el cual hay distintas formas de memoria (sensorial, corto y largo plazo), en relación al tiempo de almacenamiento de la información. Una diferenciación entre tipos de memoria más reciente y ampliamente aceptada es la que distingue a la memoria declarativa y la memoria no declarativa, en ella se considera el tipo de información procesada y almacenada, sus bases neuroanatómicas y la capacidad de recordar conscientemente hechos y eventos o la recuperación no consciente de capacidades aprendidas (Rains, 2006; Squire y Zola, 1996).

En 1974, Baddeley describió la memoria de trabajo como un tipo de memoria a corto plazo necesaria para resolver tareas que involucran el recuerdo de información útil para realizar el siguiente ensayo inmediato, es un tipo de memoria funcional que comprende dos elementos fundamentales, el espacio de trabajo y la función ejecutiva. El primero consta de un almacén temporal general, varios sistemas especializados de almacenamiento temporal y procesos aplicados a ellos en un momento determinado, mientras que el segundo se encarga de la coordinación de contenidos y procesos para el tránsito de los mismos en el espacio de trabajo (Baddeley y Hitch, 1974; Rains, 2006).

Respecto a los estudios realizados con pacientes humanos en 1957, William Scoville y Brenda Milner reportaron el caso clínico del paciente HM, a quien como tratamiento para la epilepsia, se le realizó la extracción bilateral de un área restringida al lóbulo temporal medial. Después de la intervención quirúrgica el paciente mostró una severa incapacidad para formar nuevas memorias relacionadas a hechos y eventos, pero no para el aprendizaje de nuevas habilidades motoras (Scoville y Milner, 1957). Los estudios con el

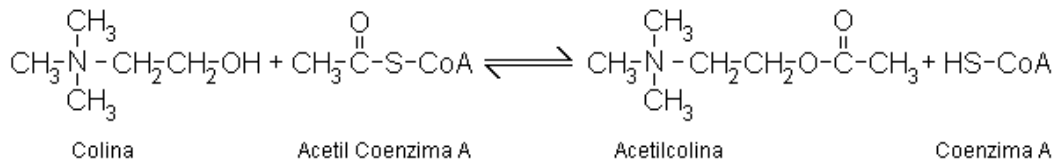
paciente HM resultaron en una clara evidencia de la existencia de dos tipos de memoria, una dependiente del lóbulo temporal medio (memoria declarativa) y otra independiente de esta estructura (no declarativa). La memoria no declarativa incluye varias habilidades motoras y preceptuales, hábitos, aprendizaje emocional, como habituación, sensibilización y condicionamiento clásico y operante (Squire y Kandel, 2000). Se describieron análogos para ambos tipos de memoria en modelos animales, denominados memoria explícita e implícita, respectivamente (Olton y Papas, 1979).

Diversos estudios han descrito sustratos neurobiológicos de los procesos asociados a distintos tipos de memoria, se ha correlacionado la actividad de diferentes estructuras con distintos tipos de memoria, como el lóbulo temporal medial (especialmente la formación hipocámpal: subículo, giro dentado y cuerno de Ammón) y el diencefalo con la memoria declarativa (Carlson, 2006; Squire y Zola, 1996; Hasselmo, 2006), los ganglios basales, particularmente el núcleo estriado, con la memoria procedimental, el cerebelo y la amígdala con el condicionamiento clásico, las vías reflejas con el aprendizaje no asociativo (Squire y Zola, 1996) y algunas áreas de la corteza frontal, tal es el caso de la porción dorsolateral, con la memoria de trabajo (Squire, 1987). Todas las estructuras cerebrales anteriores reciben proyecciones colinérgicas desde el cerebro basal anterior, regiones pontomesencefálicas o presentan actividad colinérgica local a través de interneuronas. Desde el punto de vista neurobiológico, se ha reportado que la acetilcolina está implicada en diversos procesos cognitivos como el alertamiento, el aprendizaje asociativo y la memoria (Squire, 1987; Hasselmo, 2006).

La acetilcolina (ACh) es el primer neurotransmisor descrito, a partir de entonces y durante décadas, ha recibido la atención de distintos grupos de investigación debido a su importancia en cuanto a su distribución y los procesos fisiológicos y conductuales en los que está implicado. La ACh resulta como producto del metabolismo de la colina y la acetil-coenzima A, un producto mitocondrial, el proceso es llevado a cabo por la enzima colin-acetiltransferasa, la cual cataliza la transferencia del ión acetato de la coenzima A, a la colina (figura 1). En tanto la inactivación ocurre principalmente tras la degradación por la enzima acetilcolinesterasa resultando colina y acetato (Feldman y cols., 1997).



Síntesis



Degradación

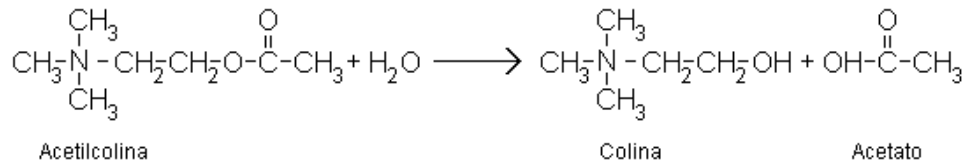


Fig. 1. Vía metabólica de síntesis (arriba) y degradación (abajo) de acetilcolina.

La acetilcolina actúa a través de dos clases principales de receptores sinápticos, los receptores nicotínicos y los receptores muscarínicos (figura 2), distinguidos funcionalmente y denominados según los alcaloides exógenos que interactúan de forma agonista con ellos: la nicotina y la muscarina. Se encuentran ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central y periférico, en músculo esquelético, liso, cardíaco, en glándulas endócrinas y exócrinas, en el mesencéfalo, en el sistema límbico, en corteza, entre otras áreas. El receptor ionotrópico denominado “nicotínico” a su vez se clasifica en diferentes subtipos de acuerdo a las subunidades que le conforman: alfa, beta, gama, delta y épsilon. Por su parte, para el receptor metabotrópico llamado “muscarínico” se ha descrito 5 subtipos (M<sub>1</sub> al M<sub>5</sub>), organizados en dos familias según su perfil farmacológico e interacción con el metabolismo de la célula: los M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub> y M<sub>5</sub> están asociados principalmente a una proteína G<sub>q</sub> que activa la enzima fosfolipasa C, generando al segundo mensajero diacilglicerol y posteriormente al inositol trifosfato, aumentando los niveles de calcio (Ca<sup>2+</sup>) intracelular y en consecuencia la probabilidad de activación de proteincinasa C (PKC); se ha reportado que también pueden estimular a la enzima fosfolipasa A2 y D. En tanto los receptores M<sub>2</sub> y M<sub>4</sub> se acoplan principalmente a una proteína G<sub>i</sub>, inhibidora de la enzima Adenilato-ciclasa, disminuyendo los niveles de AMPc, o bien acoplados a proteína G<sub>o</sub> modulando la actividad de canales dependientes de voltaje para Ca<sup>2+</sup> (von Bohlen und Halbach y Dermietzel, 2006; Wess y cols., 2007).

La distribución de los subtipos del receptor muscarínico en el sistema nervioso central (SNC) y tejidos periféricos no es uniforme, sino que algunas estructuras especializadas como el hipocampo y la corteza cerebral presentan diferente densidad de los distintos receptores. En términos concretos y de acuerdo a los resultados obtenidos por Caulfield en 1993, quien utilizó técnicas para cuantificar la expresión de ARNm o anticuerpos para los subtipos de dicho receptor, en el hipocampo se expresan los 5 subtipos de receptores. Sin embargo, la concentración de M<sub>1</sub> es significativamente mayor con respecto a los otros 4 subtipos, mientras que en la corteza cerebral se encontraron principalmente receptores M<sub>1</sub>, aunque también se observaron M<sub>3</sub> y M<sub>4</sub>. Por su parte, en el estriado la población de receptores es prioritariamente M<sub>4</sub> y en segundo término M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>. En cuanto a los tejidos periféricos, el receptor M<sub>2</sub> se encuentra principalmente en el corazón, aunque también se expresa en tejido pulmonar en donde se reporta mayor densidad de M<sub>4</sub> y en menor concentración M<sub>3</sub>, en las glándulas exócrinas es abundante el M<sub>3</sub> y significativamente menor el M<sub>1</sub> (Klinkenberg y Blokland, 2010). En el caso particular del receptor M<sub>1</sub> en la corteza, se observa mayor población en las capas I a III con respecto a las capas IV a VI (Bogdanovic y cols., 1993).

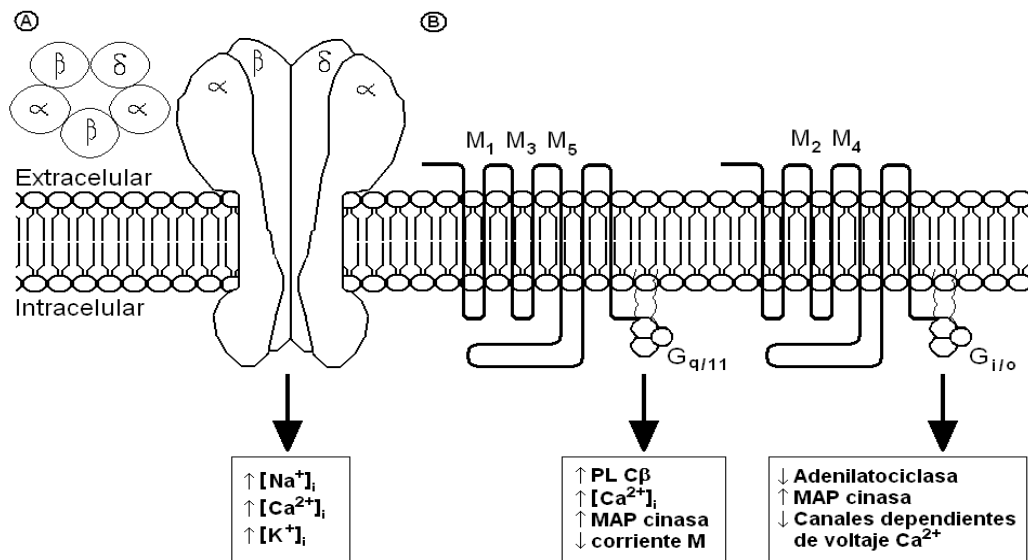


Fig. 2. En A (izquierda), se muestra la estructura heteropentamérica de un receptor nicotínico, se observan cuatro de sus cinco subunidades en sus porciones intra, extracelular y segmentos transmembranales. En B (derecha), se muestra un esquema que representa a los subtipos del receptor muscarínico y algunos de los mecanismos intracelulares asociados a su activación (basado en von Bohlen und Halbach y Dermietzel, 2006; Wess y cols., 2007). Los cuadros indican las modificaciones con el citoplasma que inician procesos metabólicos.

El sistema colinérgico está distribuido por todo el SNC a través de distintas vías (Mesulam y cols., 1983; Rosenzweig y Leiman, 1992; Woolf, 1991), en la figura 3 se representan los principales núcleos colinérgicos y sus principales proyecciones en el sistema nervioso central de roedores.

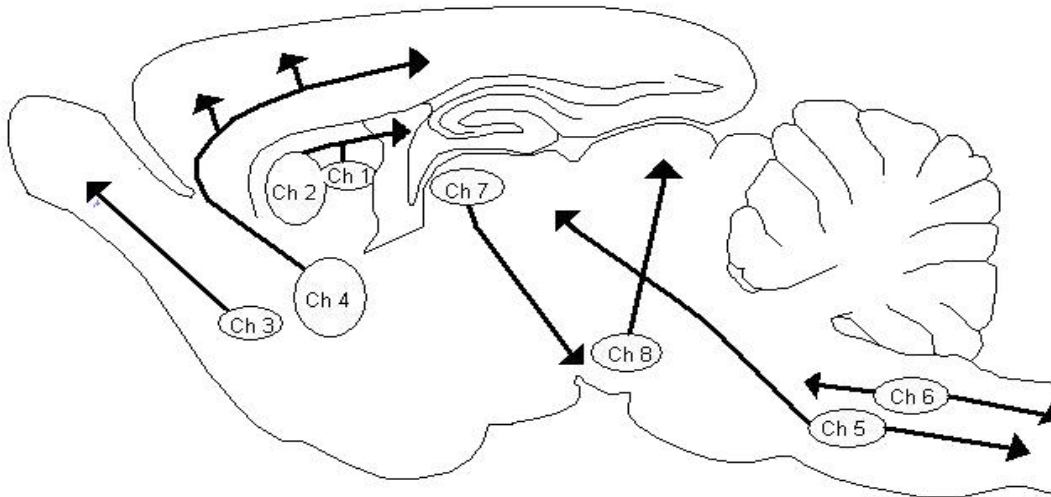


Fig. 3. Esquema de los núcleos colinérgicos y sus proyecciones en el cerebro de rata. Ch1: Núcleo del septum medial, Ch2: Banda diagonal de Broca, Ch3: Banda horizontal de Broca, Ch4: Núcleo Basal magnocelular, Ch5 y Ch6: Núcleos tegmentales, Ch7: Habénula y Ch8 Núcleo parabigeminal (adaptado de von Bohlen und Halbach y Dermietzel, 2006; Mesulam y cols., 1983 y Woolf, 1991).

De acuerdo a la literatura referente tanto a casos clínicos, como a condiciones experimentales, se pueden establecer dos vías colinérgicas muy importantes para los procesos de memoria, especialmente para la memoria explícita: 1) Núcleo Basal Magnocelular y sus proyecciones al sistema límbico (núcleo accumbens, amígdala, formación hipocampal, corteza del cíngulo) y corteza (Carlson, 2006; Kandel y cols., 1991) y 2) el sistema emergente del complejo formado por la Banda Diagonal de Broca y el Núcleo del Septum Medial que inervan al sistema límbico, principalmente a la formación hipocampal (Meeter y cols., 2004).

La escopolamina (l-hioscina), es un alcaloide extraído principalmente de la raíz del beleño (*hyoscyamus niger*), una planta de la familia de las solanáceas (Brailowsky, 1998). Es un antagonista colinérgico, con una  $pK_a=7.2$  (pH en el cual el 50% de la droga esta ionizada), que se une al mismo sitio diana del neurotransmisor en los receptores muscarínicos (Lüllmann y cols., 2000), actúa a nivel periférico inhibiendo la actividad del sistema parasimpático en

consiguiente disminuye la secreción de glándulas lacrimales, produce midriasis, bronquiodilatación, incrementa la frecuencia cardíaca y produce decremento de la motilidad en el tracto gastrointestinal. Sus efectos centrales son utilizados como referencia al inducir deterioro cognitivo en humanos y animales no humanos (Klinkenberg y Blokland, 2010), por ejemplo, se ha descrito que su administración produce pérdida de la memoria reciente (amnesia anterógrada), deterioro al ejecutar tareas de reconocimiento de objetos (Winters y cols., 2008), alteración en la retención de información en ratas entrenadas en tareas de discriminación (Squire, 1987), disminución en la ejecución de roedores en la tarea de evitación pasiva y memoria espacial a largo y corto plazo en el laberinto de Morris (Lee y cols., 2009) y deterioro de la memoria viso-espacial, pero no la discriminación viso-espacial en perros (Araujo y cols., 2004), entre otros.

Los efectos centrales y efectos conductuales ejercidos por los agonistas muscarínicos oxotremorina o arecolina, son bloqueados por la escopolamina pero no por la metilescopolamina (Jung y cols., 1987a). Adicionalmente el equipo de trabajo de Molchan (1992) refieren el trabajo de Sunderland, en el cual se reporta que los pacientes con demencia tipo Alzheimer son más sensibles a los efectos de la escopolamina, e incluso que la administración de este fármaco resulta una herramienta muy útil como modelo para la investigación acerca de la enfermedad neurodegenerativa de Alzheimer (Molchan y cols., 1992).

La metilescopolamina [(-) metil bromuro de escopolamina], es un derivado de la escopolamina y a su vez un análogo de esta, que presenta el mismo mecanismo de acción en cuanto a su selectividad. Es utilizada en la clínica para el tratamiento de espasmos musculares (Dai y Baun, 1993). A su estructura química se le añade un grupo metilo (figura 4) dificultando que la molécula cruce barrera hematoencefálica (Hoff y cols., 2010), por lo tanto produce efectos similares a los de la escopolamina en la periferia, pero no a nivel central. Por ejemplo Peele y Baron en 1988, evaluaron la adquisición de ratas entrenadas a resolver un laberinto radial bajo los efectos de la escopolamina, observando deterioro en la ejecución de los sujetos, utilizando la misma tarea, tales efectos no se presentaron tras la administración de

metilescopolamina (Peele y Baron, 1988). En un estudio realizado por Kirkby y colaboradores (1995) con ratas entrenadas en una tarea de igualación a la muestra (de posición) con demora para evaluar memoria de trabajo, la escopolamina produjo decremento en el porcentaje de respuestas correctas dependientes de la dosis y de las demoras, estos efectos no se observaron tras la administración de metilescopolamina. No obstante existe evidencia de que la metilescopolamina puede alterar funciones cognitivas como memoria de trabajo (Herremans y cols., 1995).

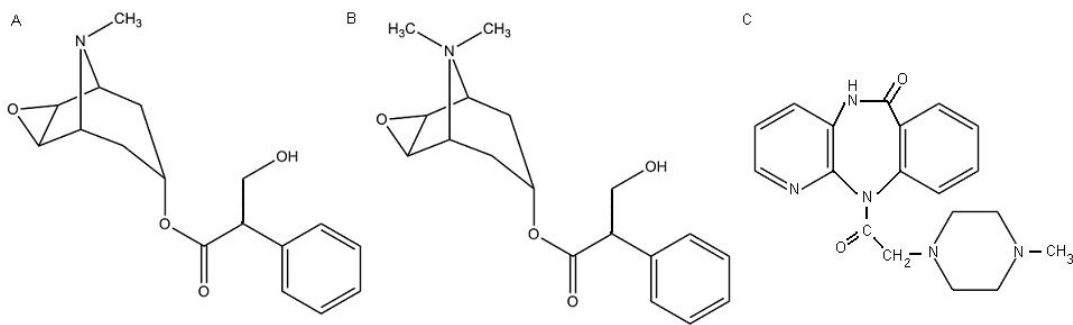


Fig. 4. Se presenta en A, la estructura de la molécula de escopolamina; en B, la metilescopolamina y en C, la de pirenzepina.

Por otra parte, el receptor  $M_1$  está claramente implicado en procesos de aprendizaje y memoria, no solo por la importante densidad de este receptor presente en hipocampo y corteza; la evidencia experimental indica que antagonistas selectivos a los receptores  $M_1$  como la pirenzepina (Fig. 4), producen efectos sobre la memoria semejantes a los observados con escopolamina (Mishima y cols., 2001). La pirenzepina deteriora la ejecución de los sujetos en la tarea de no igualación a la muestra (de posición) con demora (Aura y cols., 1997), en memoria de trabajo (Sala y cols., 1991; Messer y cols., 1987) y en memoria representativa (Messer y cols., 1990). En tanto que los antagonistas selectivos a los receptores  $M_2$  (ej. AFDX-116) mejoran la retención espacial en animales de laboratorio (Packard y cols., 1990). Adicionalmente, hay referencias del uso de agonistas al receptor  $M_1$  como terapia farmacológica para pacientes con demencia tipo Alzheimer (Conn y cols., 2009).

La pirenzepina se une a preferentemente a receptores  $M_1$ , sin embargo presenta diferentes grados de afinidad por los otros subtipos del receptor, con

un perfil de unión  $M_1 > M_3$ ,  $M_4$ ,  $M_5 > M_2$  (Buckley y cols. 1989). La pirenzepina actúa a nivel central y periférico, sin embargo no cruza fácilmente barrera hematoencefálica (Jung y cols., 1987b).

## **2.2. Discriminación de estímulos y generalización**

Como se mencionó anteriormente, todos los organismos están inmersos en un medio ambiente variable y constantemente cambiante, en el cual es indispensable identificar las características ambientales favorables o perjudiciales con el fin de aumentar la probabilidad de supervivencia, desarrollo y reproducción, para ello, los organismos deben ser capaces de detectar y discriminar estímulos y responder diferencialmente ante ellos.

Los animales poseen la habilidad para diferenciar las características particulares en determinadas dimensiones de los estímulos, integrar la información ambiental (exteroceptiva o interoceptiva) y conducirse de manera adaptativa organizando su conducta a través de la selección de respuestas adecuadas ante estas diferencias. De esta forma encontramos que el reforzamiento diferencial entre estímulos es fundamental para la amplia diversidad, versatilidad y capacidad adaptativa de la conducta aprendida. En este contexto el sujeto aprende y recuerda la relación entre estímulos, un estímulo y una respuesta, dos respuestas, un estímulo y una consecuencia, una respuesta y una consecuencia, etc.

Consideramos que un estímulo es todo aquel fenómeno que desencadena una reacción funcional en el organismo, los estímulos pueden adoptar una gran variedad de formas, luz, sonido, calor, presión, moléculas solubles, etc.; las cuales a su vez varían continuamente, según sus características particulares (Thompson, 1975), lo que les confiere la cualidad de ser distinguibles, en el sentido de ser variaciones ambientales perceptibles y de ser eficaces para provocar cambios fisiológicos o conductuales en el organismo (Barry, 1974).

En relación al aprendizaje circunscrito a las propiedades de un sólo estímulo, es decir aprendizaje no relacional, se encuentran los fenómenos de habituación y sensibilización. El primero se refiere a la disminución de la respuesta ante un estímulo particular constante y repetitivo, que aporta información trivial para la

adaptación, mientras que la sensibilización es la habilidad para aumentar la magnitud en la respuesta ante un estímulo perjudicial (Dudai, 1995; Squire y Kandel 2000). Por otra parte el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante o instrumental son ejemplos de aprendizaje asociativo, donde el sujeto aprende la relación entre dos estímulos y la relación entre un estímulo y su conducta respectivamente (Squire y Kandel 2000).

El condicionamiento clásico descrito por Iván Pavlov a principios del siglo veinte, consiste en presentarle a un organismo un estímulo (estímulo incondicionado, EI), el cual evoca una determinada respuesta (respuesta incondicionada, RI), posteriormente se presenta repetidamente y de manera contigua al EI, un estímulo que no provoca la RI por sí mismo (estímulo neutro, EN). Una vez establecido un proceso de asociación entre el EI y el EN, el EN es capaz, por sí mismo, de evocar la respuesta incondicionada, en este momento al EN se le denomina estímulo condicional o condicionado (EC) y a la respuesta producida por este se le denomina respuesta condicionada (RC).

El condicionamiento operante cuyo origen se remonta a los estudios de Edward Thorndike, se refiere al fenómeno que tiene lugar cuando la probabilidad o intensidad de una respuesta conductual espontánea, es alterada por sus consecuencias; si una conducta determinada tiene consecuencias favorables (reforzadoras), aumentará la probabilidad de que el organismo vuelva a presentar dicha conducta, en tanto si las consecuencias son desagradables la probabilidad de presentar la conducta disminuirá (castigo).

Analizando los procesos implicados en estos fenómenos, se puede describir que el estímulo debe estar dado en dimensiones que el organismo sea capaz de percibir, debe poseer relevancia ambiental y producir la respuesta. Bajo estas características el estímulo es susceptible a procesos de discriminación.

Se describe al proceso de discriminación de estímulos como el hecho de que los sujetos pueden aprender a restringir el rango de características del estímulo ante el cual responder, resultando en respuestas diferentes ante dos o más estímulos (Domjan, 2010). En estricto sentido un organismo es capaz de emitir respuestas diferenciales ante distintos estímulos, ya sean éstas respuestas

reflejas o instrumentales, sin embargo desde la perspectiva del condicionamiento operante un estímulo discriminativo se puede definir como la señal que un sujeto ha asociado con determinado reforzamiento (estímulo discriminativo positivo,  $E^D$ ) o con la ausencia del reforzamiento (estímulo discriminativo negativo,  $E^A$ ) y por consiguiente se reconoce que el estímulo a adquirido control sobre la conducta del sujeto (Marx, 1976). Por ejemplo, sí se entrena a un sujeto en una tarea operante bajo un programa de reforzamiento de razón fija 1, en el que se le da el reforzador al sujeto sí presiona la palanca cada vez que se presenta una luz roja, mientras que si se le presenta una luz azul, aún si el sujeto presiona la palanca no obtendrá el reforzador; entonces la luz roja es el  $E^D$ , en tanto que la luz azul es el  $E^A$ , optimizando su conducta se reducirá la probabilidad de que el sujeto responda ante la luz azul, manteniendo alta la probabilidad de responder ante la luz roja.

No obstante otros estímulos con algunas variaciones respecto al estímulo original (estímulos de prueba) son efectivos para producir la respuesta previamente aprendida, es decir, el organismo responde de manera similar a dos o más estímulos que comparten propiedades o características parecidas, a este fenómeno se le conoce como generalización (Domjan, 2010). Si los cambios en una misma dimensión del estímulo de prueba se presentan de manera gradual, la respuesta correspondiente también se verá afectada de manera gradual en amplitud o frecuencia, obteniendo un gradiente de generalización que disminuye conforme incrementa la diferencia entre los estímulos de prueba con respecto al  $E^D$ . Un gradiente de generalización aporta información acerca de cuánto debe modificarse un estímulo para que se dé un cambio en la conducta y del grado de control que tiene un estímulo sobre la conducta. Al mismo tiempo el gradiente de generalización es una función cuantitativa que puede emplearse para evaluar la capacidad de discriminación del organismo.

### **2.2.1. Modelos de discriminación**

Existen diferentes procedimientos experimentales para estudiar el aprendizaje de discriminación de estímulos, estos procedimientos han sido muy útiles al



analizar los mecanismos que subyacen al aprendizaje asociativo, para evaluar las habilidades individuales para percibir diferencias entre estímulos, para estudiar los procesos sensoriales y preceptuales, así como para desarrollar manipulaciones experimentales en los estímulos y el reforzamiento. En un trabajo realizado por Jenkins y Harrison en 1960 en palomas, se evaluaron las respuestas ante una luz y un tono (1000 Hz) como estímulos discriminativos, en este estudio se reportó que la luz ejerce mayor control sobre la conducta que el tono (Domjan, 2010). Lo anterior es un claro ejemplo de lo dicho por Sherrington acerca de un estímulo adecuado: “un sistema receptor dado será mucho más sensitivo a un tipo de estímulos que a otros” (Thompson, 1975). Aunque él se refería a un sistema sensorial, es claro que en el contexto de las demandas que cada organismo enfrente en su medio determina la probabilidad de que atienda prioritariamente una dimensión de los estímulos sobre otra, por lo tanto determinados estímulos pueden ejercer un control intenso sobre la conducta de un organismo y pobre o ningún control sobre la conducta de otro organismo. No se le preguntaría a un topo nariz estrellada, en cuál tipo de tierra prefiere cavar, por el color.

Los investigadores han estudiado los fenómenos de discriminación y generalización de estímulos valiéndose de diversas especies (ej. tiburones, palomas, ratas y monos), tipos de estímulos y tareas. En 2010 Gardiner y Atema, reportaron que la presentación diferencial del olor de calamar en cada una de las narinas de tiburón (*Mustelus canis*), modificó la dirección de nado del animal en busca de alimento (Gardiner y Atema, 2010). En 1956 Guttman y Kalish, entrenaron a cuatro grupos de palomas a responder a una tecla tras la presentación de un estímulo con una longitud de onda determinada para cada grupo (530, 550, 580 o 600 nm, respectivamente) y observaron que el gradiente de generalización para cada grupo se distribuía de forma semejante. El gradiente presentó una función ascendente conforme la longitud de onda del estímulo de prueba se acercaba a la del estímulo de entrenamiento ( $E^D$ ) de discriminación, llegando al máximo de respuesta al presentarse la longitud de onda igual a la del  $E^D$  y decreciendo conforme la longitud de onda del estímulo de prueba excedió a la del estímulo de entrenamiento (Domjan, 2010). En un experimento Gloski y colaboradores entrenaron ratas en un laberinto acuático

para estudiar discriminación espacial y discriminación de señales no espaciales, ambos grupos aprendieron a resolver la tarea valiéndose de las señales disponibles (Gloski y cols., 1995). No solo estímulos simples son susceptibles de ser discriminados, también lo son estímulos complejos como secuencias de sonido (Kudoh y cols., 2004), patrones visuales como lo muestran Harder y colaboradores al entrenar a monos (Harder y cols., 1998), el número de elementos en un conjunto visual (Emmerton y Renner, 2006), estímulos interoceptivos como hambre y saciedad (Schechter, 1990), intensidad de dolor (Hill y cols., 1952), así como el efecto producido en el organismo como consecuencia a la administración de un fármaco, procedimiento denominado como discriminación de drogas (Barry, 1974; Overton, 1977; Colpaert y Koek, 1995).

### **2.2.2. Neuroanatomía y discriminación**

Discriminar un estímulo depende de que el sujeto sea capaz de detectar y diferenciar los cambios ambientales, procesar la información necesaria (exteroceptiva o interoceptiva) y responder adecuadamente. Para ello el organismo debe contar con un sistema nervioso capaz de llevar a cabo los procesos necesarios que requiere esta tarea cognoscitiva, lo cual incluye por lo menos tres divisiones fundamentales, una sensorial (aférente), centros de procesamiento e integración y mecanismos para responder (eferentes). Ésta es la misma organización que se presenta en la mayor parte de los animales. El conocer los sistemas neurobiológicos que subyacen a la discriminación de estímulos permite conocer mejor los mecanismos del proceso e incluso detectar las causas de posibles alteraciones o deficiencias que puedan presentarse durante el proceso.

Diferentes procesos neurobiológicos requieren necesariamente la integridad de sus circuitos neuronales, que comprenden estructuras, conexiones y sistemas de neurotransmisión, la discriminación de estímulos no es la excepción. En general, la investigación neurocientífica sobre los mecanismos neurales vinculados al proceso de discriminación de estímulos incluye el sistema sensorial que corresponde con la naturaleza del estímulo, ya sea éste mecánico, lumínico, auditivo, químico o incluso farmacológico, adicionalmente

incluye la participación de cortezas de asociación y de sistemas cerebrales específicos. Por ejemplo, al discriminar estímulos auditivos como tonos o secuencias de sonidos son indispensables las aferencias sensoriales auditivas y a la propia corteza auditiva (Kudoh y cols., 2004; Porter y cols., 2010), o bien, se ha encontrado una correlación entre una importante actividad neurofisiológica en la corteza visual primaria durante la discriminación visual (Mok y cols., 2009; Waterston y Pack, 2010). En un estudio realizado por el equipo de investigación de Barnes, se encontró que las células de la corteza periforme anterior responden específicamente durante la discriminación de olores (Barnes y cols., 2008). Particularmente, algunos estudios han señalado la participación de estructuras cerebrales cuya relevancia en procesos cognoscitivos es clásica, por ejemplo la participación del hipocampo de ratas ha sido implicada en procesos de discriminación espacial (Golski y cols., 1995) y aprendizaje discriminativo (Olds y cols., 1990; Teng y cols., 2000). De igual forma la corteza prefrontal también ha sido asociada con procesos de discriminación de estímulos (Fuster, 1999).

### **2.2.3. Corteza prefrontal dorsolateral y discriminación de estímulos**

Generalmente se distinguen tres regiones de la corteza frontal, la corteza motora primaria, la corteza promotora y la corteza prefrontal. A su vez la corteza prefrontal se puede subdividir anatómicamente en tres grandes regiones: dorsolateral, inferior u orbital y regiones mediales (figura 5). La distinción entre estas tres regiones se basa mayormente en las características citoarquitectónicas (Banich y Compton, 2011; Kolb y Whishaw, 2006). Por otra parte la corteza prefrontal se distingue también con base en su conectividad anatómica y especialización funcional, la región prefrontal recibe proyecciones del núcleo dorsolateral del tálamo, dichas conexiones se preservan en distintas especies de mamíferos (Kringelbach y Rolls, 2004; Zald, 2007).

Funcionalmente, las zona orbital ha sido relacionada con conducta emocional, las regiones mediales con juicios, toma de decisiones y detección de errores, mientras que la corteza dorsolateral (la más desarrollada en el ser humano) está asociada a procesos de atención, memoria y organización temporal de la conducta; indispensable para funciones subordinadas como la integración

temporal y memoria de trabajo (Banich y Compton, 2011; Fuster, 2001). La corteza prefrontal dorsolateral se ubica en las áreas 8, 9, 45 y 46 de Brodmann, incluye las porciones medial y superior del giro frontal en la superficie lateral del lóbulo frontal (Barbas, 2000; Callicott y cols., 2000; Koenigs y Grafman, 2009). Recibe aferencias de la porción parvocelular del núcleo dorsomedial del tálamo (Aou y cols., 1983), de la corteza sensorial y presenta densa interconexión con el área premotora, fibras frontales de los ojos y la corteza parietal lateral; así mismo mantiene pobre conectividad con el hipocampo (Barbas, 2000).

Entre los sistemas de neurotransmisión presentes en la corteza prefrontal dorsolateral predominan el sistema dopaminérgico, noradrenérgico y colinérgico (Arnsten y Goldman-Rakic, 1984; Cavada y cols., 1995; Glausier y cols., 2008). En cuanto a la acetilcolina y particularmente a los receptores muscarínicos, se encuentra principalmente el subtipo M<sub>1</sub> (Klinkenberg y Blokland, 2010). Diversos estudios han correlacionado padecimientos como esquizofrenia y depresión con la disfunción o pérdida de densidad celular en esta área (Callicott y cols., 2000; Cotter y cols., 2002).

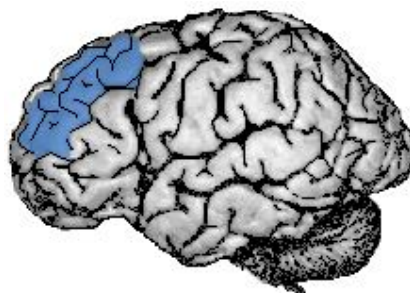


Fig. 5. Se representa la corteza prefrontal dorsolateral en el humano (basado en Koenigs y Grafman, 2009).

Adicionalmente, la corteza prefrontal dorsolateral está implicada en cognición, funciones ejecutivas, memoria viso-espacial (Funahashi y cols., 1989), memoria de trabajo (Friedman y Goldman-Rakic, 1994; Koenigs y Grafman, 2009) y se ha relacionado con el procesamiento sensorial (Aou y cols., 1983). Células en la corteza frontal dorsolateral presentan actividad ante diferentes características de estímulos visuales, así como ante la posición (Carlson y cols., 1990) y procesos de discriminación de estímulos principalmente visuales (Ono y cols., 1984; Corbetta y cols., 1991). Aunque la mayor parte de la

investigación respecto a la corteza frontal dorsolateral se realiza en simios y monos se ha reportado que en roedores se mantienen las mismas conexiones tálamo-corticales y su relevancia en tareas cognoscitivas (Crowne y Pathria, 1982; Glausier y cols., 2008).

## **2.3. Discriminación de Drogas**

### **2.3.1. Historia y aplicaciones**

El interés científico por estudiar los efectos de las drogas sobre procesos perceptuales se remonta formalmente a la primera mitad del siglo XIX, en donde fisiólogos europeos se fascinaron por los efectos disociativos producidos por las drogas. En 1930 se presentó el primer reporte de un tipo de amnesia reversible por drogas y en 1937, Girden y Culler, hicieron la primera demostración experimental de aprendizaje dependiente de estado, proponiendo un modelo en músculo estriado que fue incluido en los libros de texto contemporáneos. Posteriormente se diseñaron experimentos para estudiar el fenómeno de aprendizaje dependiente de estado. Hebb, Overton y Sachs en las décadas de 1950 y 1960, publicaron modelos que predijeron que las drogas podrían controlar directamente la recuperación de la memoria sin que interviniera la acción de los estímulos producidos por las drogas. Trabajos realizados por Belleville, Barry, Harris y Balster, entre otros, mostraron que las drogas generan estímulos capaces de ejercer control sobre la conducta (para una revisión ver: Overton y cols., 1999).

En los 70's se desarrolló un paradigma experimental conocido como el procedimiento de discriminación de drogas, el cual le permitió a la farmacología conductual investigar las propiedades como estímulo discriminativo de distintos fármacos y resolver algunas limitaciones encontradas en el modelo de aprendizaje dependiente de estado, como la necesidad de usar dosis muy altas, e incluso tóxicas, para producirlo (Colpaert, 1999). La principal distinción entre ambos procesos radica en el método experimental, en el aprendizaje dependiente de estado el sujeto aprende hábitos diferentes para cada condición, es decir la presencia de la droga en el organismo es la base para producir una respuesta particular, mientras que en el paradigma de

discriminación de drogas se entrena a un sujeto a través de una serie de sesiones con diferentes condiciones (efectos subjetivos producidos por un fármaco y la ausencia de ellos, o bien entre los efectos de dos o más fármacos, etc.), presentando cambios graduales en la respuesta como resultado del reforzamiento diferencial e implica la capacidad para seleccionar la respuesta entre dos o más alternativas a responder (Barry, 1974). Cuando los sujetos han aprendido la tarea, se presenta la fase de generalización que tiene como objetivo evaluar los cambios graduales de distintas dosis del fármaco de entrenamiento y de otros fármacos (Colpaert y cols., 1976).

En los estudios con discriminación de drogas se han empleado diversos programas de reforzamiento continuos o intermitentes como razón fija, razón variable, intervalo fijo, intervalo variable o combinaciones entre ellos (Young, 2009; McMillan y cols., 2001) y tareas instrumentales como flexión de las patas, presión de barras o palancas, recorrer laberintos en T ó Y, selección en una caja con tres opciones y evitación pasiva, entre otras (Overton, 1971; Schuster y Blaster, 1977).

El procedimiento de discriminación de drogas es útil en la investigación sobre los mecanismos de acción de nuevas drogas, así como en la búsqueda de alternativas farmacológicas en la terapia para distintos padecimientos y es complementario a otros estudios realizados para comparar efectos fisiológicos (ej. presión sanguínea), conductuales (ej. locomoción) y cognitivos (ej. amnesia) (Barry, 1974; Overton y cols., 1999). Al utilizar drogas como estímulo discriminativo se aprovecha que sus efectos son potentes para producir cambios en el organismo, fácilmente percibidos y altamente predecibles, aunque existen dificultades metodológicas como el lento inicio y termino de los efectos debido al tiempo necesario para que la molécula sea absorbida, metabolizada y excretada; así como la relativa incertidumbre acerca de la naturaleza de la estimulación, por ejemplo dos fármacos pueden presentar efectos semejantes a partir de distintos mecanismos de acción (Barry, 1974; Schuster y Blaster, 1977), éstas dificultades se pueden controlar mediante diseños experimentales específicos, como emplear vías de administración de rápida absorción, presentar periodos entre sesiones suficientes para la aclaración del fármaco, modificar la actividad de distintos sistemas de

neurotransmisión con agonistas y antagonistas, usar fármacos selectivos, alterar la conectividad de un circuito con estimulación eléctrica o lesionando estructuras implicadas en la señal producida por el fármaco de entrenamiento, etc.

### **2.3.2. Modelos animales en discriminación de drogas**

En las investigaciones con seres humanos el procedimiento de discriminación de drogas es básicamente igual al utilizado para otras especies, aunque la administración de las drogas se llevan a cabo bajo condiciones de doble ciego y el reforzador suele ser monetario, muchos de estos estudios incluyen cuestionarios sobre los efectos subjetivos (Young, 2009). Por ejemplo Johanson y colaboradores (2006) entrenaron a personas a discriminar entre d-anfetamina, el agonista de la serotonina, la meta clorfenilpiperazina y un placebo, en las pruebas de generalización se evaluaron dos dosis de 3,4-metil **enedioximetafetamina** (MDMA), un fármaco que interactúa con ambos sistemas de neurotransmisión, los autores encontraron que la mitad de los participantes reportaba a los efectos subjetivos del MDMA como similares a los de la d-anfetamina y la otra mitad a los del agente serotoninérgico (Johanson y cols., 2006). Los voluntarios para este estudio presentaban un historial de consumo de drogas de abuso, por lo que los resultados pueden ser cuestionables en el sentido de que dicho consumo previo probablemente produjo modificaciones en el sistema de los participantes en función de las dosis consumidas y su frecuencia. Con base en este tipo variables extrañas es recomendable estudiar los efectos de las drogas en modelos animales con mayor control experimental, aunado a que no todos los fármacos pueden ser administrados a humanos, aun con consentimiento, principalmente por aspectos éticos.

La evidencia aportada por diversos estudios, deja claro que distintas especies son capaces de discriminar y generalizar los efectos producidos por las drogas, tal es el caso de palomas (Witkin y cols., 1980; McMillan y cols., 2001), jerbos (Järbe y Swedberg, 1998), puerco de Guinea (Hudzik y cols., 2003), ratones (Snoddy y Tessel, 1983) y monos (Achat-Mendes y Platt, 2009). Cada uno de estos estudios aporta información diferente y complementaria en la caracterización de las propiedades como estímulo discriminativo de las drogas.

Uno de los modelos más utilizado en los estudios de discriminación de drogas es la rata en distintas cepas: Wistar, Sprague-Dawley y Long Evans (Barry, 1974; Young, 2009).

### **2.3.3. Fármacos como estímulos discriminativos**

La cantidad de fármacos y dosis estudiadas a través del paradigma de discriminación de drogas es extensa, así como los mecanismos de acción neurobiológicos involucrados en el efecto de estos fármacos. En 1976 Weissman, estudió los efectos como estímulo discriminativo de la aspirina en ratas artríticas y normales, describiendo que tanto las ratas con artritis como las normales son capaces de discriminar la administración de la aspirina (Weissman, 1976). Algunos grupos de investigación han realizado numerosos estudios sobre los efectos como estímulo discriminativo de narcóticos, como morfina y fentanilo (Hill y cols., 1952; Colpaert y cols., 1975; McMillan y cols., 2001). También se han estudiado agonistas GABAérgicos (Järbe y Swedberg, 1998; McMillan y cols., 2001), agentes serotoninérgicos (Appel y cols., 1999; Oliver y cols., 2002; Gresch y cols., 2007), o noradrenérgicos (Dekeyne y cols., 2001); estimulantes del sistema nervioso central como cocaína y anfetamina (Witkin y cols., 1980; Cunningham y cols., 2006) y otras drogas de abuso como etanol (Hodge y Cox, 1998), cannabinoides (Järbe y Henriksson, 1974; Lile y cols., 2010), cafeína (Solinas y cols., 2005) y nicotina (Desai y cols., 2003; Wooters y cols., 2008); además de la nicotina se han evaluado las propiedades como estímulo discriminativo de diferentes agonistas y antagonistas colinérgicos como el agonista muscarínico oxotremorina (Jung y cols., 1987), los agonistas selectivos a diferentes subtipos del receptor muscarínico Lu 26-046 y O-Me-THPO (Arnt y cols., 1992) y antagonistas muscarínicos como atropina, ditran y escopolamina (Overton, 1977; Jung y cols., 1987; Kelley y Porter, 1997; Casasola y cols., 2007).

### **2.3.4. Discriminación de escopolamina**

Resulta interesante que pese al efecto amnésico producido por la administración de escopolamina y otros antagonistas muscarínicos, durante más de 40 años la investigación en el campo de la discriminación de drogas ha



demostrado que diversas especies son capaces de aprender respuestas de asociación, discriminación y generalización tras la administración de distintos fármacos antimuscarínicos, incluyendo la escopolamina. En 1977 Overton entrenó eficientemente a ratas a discriminar la administración de escopolamina en un laberinto en "T", encontrando generalización completa o parcial con distintas dosis de otros antagonistas muscarínicos como el dieran, la atropina o la benacticina y no con otras drogas como la mecamilamina (un antagonista nicotínico) y el pentobarbital (un agonista GABAérgico). Diez años después, otro grupo de investigación entrenó a ratas a discriminar escopolamina u oxotremorina y posteriormente evaluaron la administración intracerebroventricular de pirenzepina (antagonista selectivo para los receptores M<sub>1</sub>), los resultados de este estudio mostraron que la pirenzepina no fue generalizada por las ratas entrenadas a discriminar escopolamina, ni bloqueó el efecto como estímulo discriminativo de la oxotremorina (Jung y cols., 1987a). En otro estudio realizado por Kelley y Porter, se entrenó a ratas a discriminar escopolamina, posteriormente se evaluó la administración del neuroléptico atípico clozapina y se observó que los sujetos generalizaron su respuesta a la clozapina. Este estudio estaba enfocado al mecanismo de acción de la clozapina como antipsicótico, los autores concluyeron que el bloqueo de los receptores muscarínicos tiene un papel importante en los efectos como estímulo discriminativo de la clozapina (Kelley y Porter, 1997), sin embargo las propiedades como neuroléptico pueden ser independientes de los efectos producidos por el fármaco para el control de estímulos.

Debido a la importancia del hipocampo en procesos cognoscitivos como el aprendizaje, la memoria y la discriminación de estímulos y a que el hipocampo recibe una importante inervación del sistema colinérgico basal anterior y cuenta con una gran cantidad de receptores muscarínicos, en un estudio previo (Casasola y cols., 2007), se analizó la participación del hipocampo dorsal en la discriminación de escopolamina. En este estudio se realizaron lesiones bilaterales en el hipocampo dorsal de ratas previamente entrenadas a discriminar la administración de escopolamina de la administración de solución salina. Posterior a la lesión, se evaluó la respuesta de discriminación y el gradiente de generalización de los sujetos ante diferentes dosis del mismo

fármaco de entrenamiento. Los resultados de este estudio mostraron un deterioro transitorio en la discriminación de escopolamina, la cual se restableció después de pocas sesiones de reentrenamiento, una vez restablecida, la discriminación de escopolamina se mantuvo por periodos prolongados. Estos resultados sugieren que el hipocampo solo tiene una participación parcial e inicial respecto al control sobre la conducta ejercido por la escopolamina, siendo otro sistema cerebral el responsable por el mantenimiento de la discriminación, posiblemente la corteza prefrontal.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Dado que una amplia cantidad de investigación ha demostrado que la administración de agentes anticolinérgicos, particularmente antagonistas muscarínicos, produce potentes efectos amnésicos, resulta interesante que diversas especies sean capaces de adquirir respuestas de asociación, discriminación y generalización de antagonistas de este tipo. No obstante no está claro cuáles son los mecanismos y sistemas cerebrales involucrados en la capacidad de discriminar estos estados farmacológicos y las investigaciones científicas sobre este tema, a pesar de que los primeros estudios de discriminación de drogas colinérgicas tiene muchos años, aun no son concluyentes. Por esta razón el presente estudio se analizó primero si en la discriminación de escopolamina el procesamiento de la señal o de la dimensión del estímulo involucra los mecanismos de acción periféricos de la escopolamina, lo cual se evaluó a partir de la administración de metilescopolamina, un agente que no cruza la barrera hematoencefálica. En segundo lugar, se analizó si durante la discriminación de escopolamina participa el receptor muscarínico tipo  $M_1$ , lo cual se evaluó a través de la administración de pirenzepina, un antagonista con mayor afinidad para este tipo de receptor. Finalmente, debido a que el hipocampo, aún siendo una zona con alta densidad de receptores muscarínicos e implicada en procesos de aprendizaje y memoria de tipo explícito, no parece ser la estructura principal responsable la discriminación de escopolamina, ya que su lesión electrolítica no afecta permanentemente esta capacidad (Casasola y cols., 2007), resulta consecuente analizar la participación de otro sistema neurobiológico de memoria probablemente implicado en dichos efectos, este es el caso de la memoria de trabajo. Por lo cual en el presente estudio también se analizó la participación de la corteza prefrontal dorsolateral en la discriminación de escopolamina previamente aprendida. La corteza prefrontal dorsolateral ha sido asociada con la memoria de trabajo. Adicionalmente, la discriminación de estímulos, es esencial en la vida de los organismos, la adquisición de respuestas diferenciales ante distintos estímulos es un proceso adaptativo que en si mismo merece ser estudiado y analizado.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivos generales:**

Analizar la participación del sistema colinérgico periférico en las propiedades discriminativas de la escopolamina a través del paradigma operante de discriminación de drogas en ratas.

Analizar la participación del receptor muscarínico  $M_1$  y de la corteza prefrontal dorsolateral en las propiedades discriminativas de la escopolamina a través del paradigma operante de discriminación de drogas en ratas.

### **4.2. Objetivos específicos:**

1. Evaluar los procesos de discriminación y generalización con escopolamina, empleando el paradigma operante de discriminación de drogas en ratas.
2. Analizar si la conducta de discriminación de escopolamina se generaliza con su análogo cuaternario con escasa penetración al SNC, la metilescopolamina.
3. Analizar si la conducta de discriminación de escopolamina se generaliza con el antagonista muscarínico selectivo para el receptor  $M_1$ , la pirenzepina.
4. Evaluar, a través de lesiones electrolíticas, si la corteza prefrontal dorsolateral participa en la discriminación y generalización de escopolamina en ratas.
5. Discutir la participación del sistema de memoria asociado al proceso de discriminación de escopolamina.

### **4.3. Hipótesis generales:**

1. Si la escopolamina, en la dosis de 1.0 mg/kg, ejerce control de estímulos sobre la conducta de ratas empleando el paradigma operante de discriminación de drogas, se observará un gradiente de generalización con

diferentes dosis de escopolamina.

2. Si las propiedades como estímulo discriminativo de la escopolamina son procesadas exclusivamente a nivel central, no se observará generalización de la respuesta ante la administración de metilescopolamina.
3. Si los efectos como estímulo discriminativo de la escopolamina dependen del receptor  $M_1$ , se observará generalización de la respuesta ante la administración de pirenzepina.
4. Si la corteza prefrontal dorsolateral participa en la discriminación y generalización de escopolamina, se observará un deterioro de la ejecución de los sujetos como consecuencia a la lesión electrolítica de esta área cerebral.
5. Si la lesión de la corteza prefrontal dorsolateral altera permanentemente la capacidad de las ratas para discriminar la administración de escopolamina, probablemente la memoria de trabajo sea el principal sistema de memoria asociado a la tarea.

## **5. MÉTODO**

### **5.1. Sujetos**

Se utilizaron 35 ratas macho de la cepa Wistar (provenientes del bioterio de la Facultad de Psicología, UNAM) con 2 meses de edad al inicio del experimento. Para el experimento I se utilizaron 17 ratas y 18 para el experimento II. Todos los sujetos iniciaron con acceso libre al agua y alimento hasta que los procedimientos experimentales indicaran lo contrario y fueron mantenidos de manera individual, en cajas (20x29x15 cm) de policarbonato transparente en un cuarto con humedad 70% y temperatura constante ( $21 \pm 1$  °C) y con un ciclo luz-oscuridad de 12-12 h; las luces se encendían a las 7:00 h y se apagaban a las 19:00 h.

A lo largo del estudio se realizaron todos los esfuerzos para evitar cualquier

daño innecesario o sufrimiento a los animales y en todas las fases y procedimientos del estudio se 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).

## **5.2. Instrumentos y materiales**

Se utilizaron 4 cajas de condicionamiento operante (Lafayette Instruments Inc. Sagamore Parkway North, IN, USA) de 29x30x34 cm, cada una equipada con un sistema para atenuar ruido y luz ambientales, dos palancas retractiles que requerían una presión de aproximadamente 15 DIN, ubicadas 6.0 cm arriba del suelo conformado por barrotes de acero inoxidable, un comedero (equidistante a las palancas), el cual contaba con un dispensador de líquidos electromagnético (Lafayette Instruments Inc. Sagamore Parkway North, IN, USA), mismo que liberaba 0.2 ml de solución sucrosa (0.9 M) utilizada como reforzador. Finalmente, en cada caja se ubicaron dos focos-estímulo (2 W) cada uno 6.0 cm arriba de la palanca respectiva (izquierda y derecha).

La activación de las luces, la entrega del reforzador y el registro de las respuestas, fueron controladas por una interfaz MED (Med Associates INC, Vermont, USA) y una computadora con el software *MED for Windows* (Med Associates INC, Vermont, USA).

Para las cirugías se utilizó un aparato estereotáxico David Kopf para roedores, un lesionador electrolítico de corriente constante marca Grass (Mod. DC LM5A), un electrodo de acero inoxidable calibre 22 y material quirúrgico.

## **5.3. Fármacos**

Se administró el antagonista competitivo colinérgico escopolamina (Sigma-Aldrich, EUA), en dosis de 0.056, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg, el antagonista competitivo colinérgico muscarínico (-) metil bromuro de escopolamina (metilescopolamina) (Sigma-Aldrich, EUA), en las dosis 0.056, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg y el antagonista selectivo M<sub>1</sub> pirenzepina (Sigma-Aldrich, EUA) en las dosis 0.056, 0.091, 0.16, 0.31, 1.0 y 3.0 mg/kg. Los fármacos fueron disueltos en solución salina isotónica al 0.9% como vehículo y se administraron

vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 1.0 ml/kg. En el caso de la dosis de 3.0 mg/kg de pirenzepina se administró en volumen de 3.0 ml/kg.

#### **5.4. Procedimientos**

##### **Experimento I:**

###### Fase 1. Manipulaciones iniciales

Al inicio del estudio se registró el peso corporal de los sujetos durante tres días consecutivos para obtener la línea base de éste, durante dicho periodo los sujetos tuvieron acceso libre al agua y al alimento. Una vez calculada la línea base (promedio de los tres datos), el acceso al alimento para cada sujeto fue restringido a 5.0 g de alimento por cada 100 g de peso, hasta que todos los sujetos redujeron su peso corporal al 85-90% del peso inicial, esto con el propósito de asegurar la motivación para obtener el reforzador. Durante el resto del experimento se cuidó que los sujetos no redujeran su peso corporal por debajo del 85% y se realizaron ajustes de acuerdo a la tasa de crecimiento.

###### Fase 2. Moldeamiento

Los sujetos recibieron dos sesiones de automoldeamiento en la respuesta operante (presión de la palanca), durante las cuales el reforzador estuvo disponible bajo un programa concurrente razón fija 1-tiempo fijo 20 s. Los sujetos que no aprendieron a presionar las palancas, fueron entrenados mediante el procedimiento de aproximaciones sucesivas, donde la disponibilidad del reforzador estuvo bajo un programa concurrente razón fija 1-tiempo fijo 60 s durante 2 sesiones (n=3). Una vez adquirida la conducta, todos los sujetos fueron entrenados bajo un programa de razón fija con incremento progresivo por sesión (1, 2, 3, 5 y 8), hasta llegar a razón fija diez (RF10) independiente en ambas palancas. Cada sesión terminó a los 20 min o cuando el sujeto obtuvo 60 reforzadores.

###### Fase 3. Entrenamiento de discriminación de escopolamina

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 intraperitonealmente (i.p) escopolamina (1.0 mg/kg) o el vehículo (solución salina al 0.9%), ambos en un volumen de

1.0 ml/kg (Casasola y cols., 2007), La administración de droga o vehículo 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.

En cada sesión se registró el número y 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 inadecuada) 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. La distribución de las respuestas durante las 10 sesiones correspondientes a los criterios de adquisición fue considerada en lo sucesivo del estudio como la línea base (LB) de adquisición.

#### Fase 4. Pruebas de generalización

Las pruebas de generalización iniciaron 24 horas después de que cada sujeto cumplió con los criterios de adquisición anteriormente descritos. En esta fase en cada sesión prueba de generalización fue omitida la entrega del reforzador, por lo cual cada sesión prueba fue intercalada entre mínimo 2 sesiones de entrenamiento (fase 3), durante las cuales se cuidó que los sujetos mantuvieran el nivel de discriminación correspondiente a los criterios de adquisición; las sesiones durante esta fase se realizaron diariamente, seis días a la semana.

Previo al inicio de las pruebas de generalización cada sujeto fue asignado aleatoriamente a uno de tres grupos, el grupo con escopolamina (n=8), el grupo con metilescopolamina (n=8) y el grupo con pirenzepina (n=8). De acuerdo al grupo de correspondencia, 20 minutos antes de iniciar cada sesión prueba se



administró aleatoriamente una de las diferentes dosis de escopolamina 0.0, 0.056, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg, metilescopolamina (mismas dosis) o pirenzepina en las mismas dosis y con una dosis adicional de 3.0 mg/kg. Cada sesión prueba de generalización concluyó cuando el sujeto alcanzó una RF10 en cualquier palanca o al transcurrir 20 min.

Con el fin de optimizar el uso de animales y completar la “n” de cada grupo, siete sujetos pasaron aleatoriamente por dos de las condiciones de generalización, para lo cual al completar un bloque de pruebas fueron regresados a la condición de entrenamiento cuantas sesiones fueran necesarias para presentar nuevamente los criterios de adquisición.

### **Experimento II:**

Para el experimento II las fases de manipulaciones iniciales (fase 1), de moldeamiento (fase 2) y entrenamiento en discriminación (fase 3) fueron idénticas a las descritas en el experimento I. De igual forma, para completar el entrenamiento en discriminación, cada sujeto debió alcanzar los criterios de adquisición previamente descritos.

#### **Fase 4. Lesión en corteza prefrontal dorsolateral**

Inmediatamente después de completar la fase de entrenamiento los sujetos fueron asignados aleatoriamente a dos grupos, un grupo (n=9) con lesión en la corteza prefrontal dorsolateral y un grupo (n=9) Sham, y se llevaron a cabo los procedimientos quirúrgicos.

A todos los sujetos se les anestesió con pentobarbital sódico (Anestosal, 0.38 mg/kg, i.p.), además de anestesia local en la línea de incisión quirúrgica (Xilocaina al 2%, 0.1ml, s.c.). Una vez anestesiados, los sujetos fueron colocados en un aparato estereotáxico (David Kopf Instrument, CA), en el cual se les mantuvo termoregulados a través de un cojín térmico. Previa antisepsia (yodopovidona), se realizó una incisión longitudinal en el dorso de la cabeza de cada sujeto, una vez expuesto el cráneo, se identificaron Bregma y Lamda y la barra de los incisivos fue nivelada de manera que la altura de ambos puntos fuera la misma. Posteriormente, empleando un microtaladro, se realizaron trépanos en el cráneo de las ratas en los puntos de acceso para la lesión. Para

realizar la lesión se empleó un electrodo de 3.0 cm de largo, fabricado con alambre dental de acero inoxidable calibre 22 y aislado eléctricamente a excepción de 0.5 mm en el extremo. La punta del electrodo fue insertada en el cerebro de los sujetos en las coordenadas anterior: 4.7 mm, lateral:  $\pm$  3.2 mm y ventral: -2.8 mm (Paxinos y Watson, 1998), referidas desde Bregma y la superficie de la duramadre. La lesión electrolítica se realizó bilateralmente con una corriente de 1.5 mA corriente directa (C.D.), durante 60 segundos, empleando para ello un lesionador de corriente directa (Grass Instruments, Quincy, Mass, USA.). Al concluir la lesión se selló el cráneo con Gelfoam (Upjohn Co., Kalamazoo, Mi., USA.), se suturó la piel con hilo trenzado de nailon y se administró 0.5 ml de penicilina (50 mg/ml, i.m.) con el fin de prevenir infecciones.

A los sujetos del grupo Sham se les sometió a un procedimiento quirúrgico idéntico, con la excepción de la administración de la corriente eléctrica. Todos los sujetos pasaron 7 días en recuperación durante los cuales permanecieron en su caja-hogar, únicamente manipulados para monitorear su evolución postquirúrgica y las medidas de aseo requeridas.

#### Fase 5. Pruebas postoperatorias de generalización

Para obtener las curvas de generalización y evaluar los efectos de la lesión en la corteza prefrontal dorsolateral se realizaron pruebas de generalización con escopolamina, para lo cual se emplearon las mismas dosis que en el experimento anterior (0.0, 0.056, 0.091, 0.16, 0.31 y 1.0 mg/kg). Las sesiones de prueba de generalización y demás procedimientos de esta fase, fueron idénticos a los descritos en la fase 4 del experimento I.

#### Fase 6. Verificación histológica

Al finalizar las evaluaciones conductuales, los sujetos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico (0.70-1.0 mg/kg, i.p.), perfundidos transcardialmente haciendo pasar solución salina (500 ml), seguida de formaldehído al 5.0% (500 ml). Posteriormente se removió el cerebro y se obtuvieron cortes coronales de 200  $\mu$ m, mediante un vibratomo. La localización y extensión de la lesión fue corroborada con microscopía simple de luz, comparando los cortes de tejido con las laminas del atlas estereotáxico

(Paxinos y Watson, 1998). Todos los sujetos que no tuvieron una lesión de al menos el 70% del área correspondiente a la corteza prefrontal dorsolateral fueron excluidos del análisis de datos y por tanto del presente estudio.

### 5.5. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron el índice de discriminación (ID), el número de respuestas para cada palanca, la duración de la sesión, la tasa de respuesta para cada sesión (TR) y el número de reforzadores obtenidos por sesión.

El índice de discriminación se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$ID = A / B$$

Donde:  $A$  es el número de respuestas en la palanca asociada a la administración de escopolamina y  $B$  el número total de respuestas en ambas palancas.

El valor del ID se empleó para elaborar las curvas de generalización, a las cuales se les realizó un ajuste sigmoideo de cuatro parámetros con la siguiente función logística:

$$f = y_0 + a / (1 + (x/x_0)^b)$$

Donde:  $y_0$  es el valor mínimo de la respuesta,  $a$  el valor máximo de la respuesta,  $x$  la concentración de escopolamina,  $x_0$  la concentración de escopolamina que reduce el valor máximo en la respuesta al 50% es decir, la dosis efectiva 50 ( $ED_{50}$ ) y  $b$  es el valor relacionado a la pendiente.

En los casos en que los valores de la curva no se ajustaron a una función sigmoidea (metilescopolamina y pirenzepina), se realizó una regresión lineal con la siguiente ecuación:

$$f = y_0 + a * x$$

Donde:  $y_0$  es el valor estimado de  $y$  cuando el valor de  $x$  es igual a cero, la ordenada al origen,  $a$  es la pendiente y  $x$  la concentración del fármaco.

Los parámetros considerados para el análisis de las curvas de generalización fueron: el efecto máximo ( $E_{máx}$ ), el valor mínimo de la respuesta, la  $ED_{50}$  (del ajuste sigmoideo) y la pendiente obtenida mediante la regresión lineal. Para la comparación estadística de los grupos se empleó el estadístico  $t$  de Student

entre el grupo control de generalización con escopolamina y el grupo de generalización con metilescopolamina (ME), entre el grupo control y el de generalización con pirenzepina (Pz), lo anterior para el experimento I. Para el experimento II, el grupo de lesión contra el grupo Sham.

La Tasa de Respuestas (TR), se definió como el número respuestas en ambos operandos para completar la primera RF10 de cada sesión sobre segundo (s). Para el análisis de la TR en el experimento I, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para medidas repetidas para comparar los datos tanto de las sesiones de generalización como de la línea base. Para comparar la TR de la dosis adicional de 3.0 mg/kg de pirenzepina en el experimento I, se empleó una t de Student única. Para el experimento II se utilizó un ANOVA para grupos independientes.

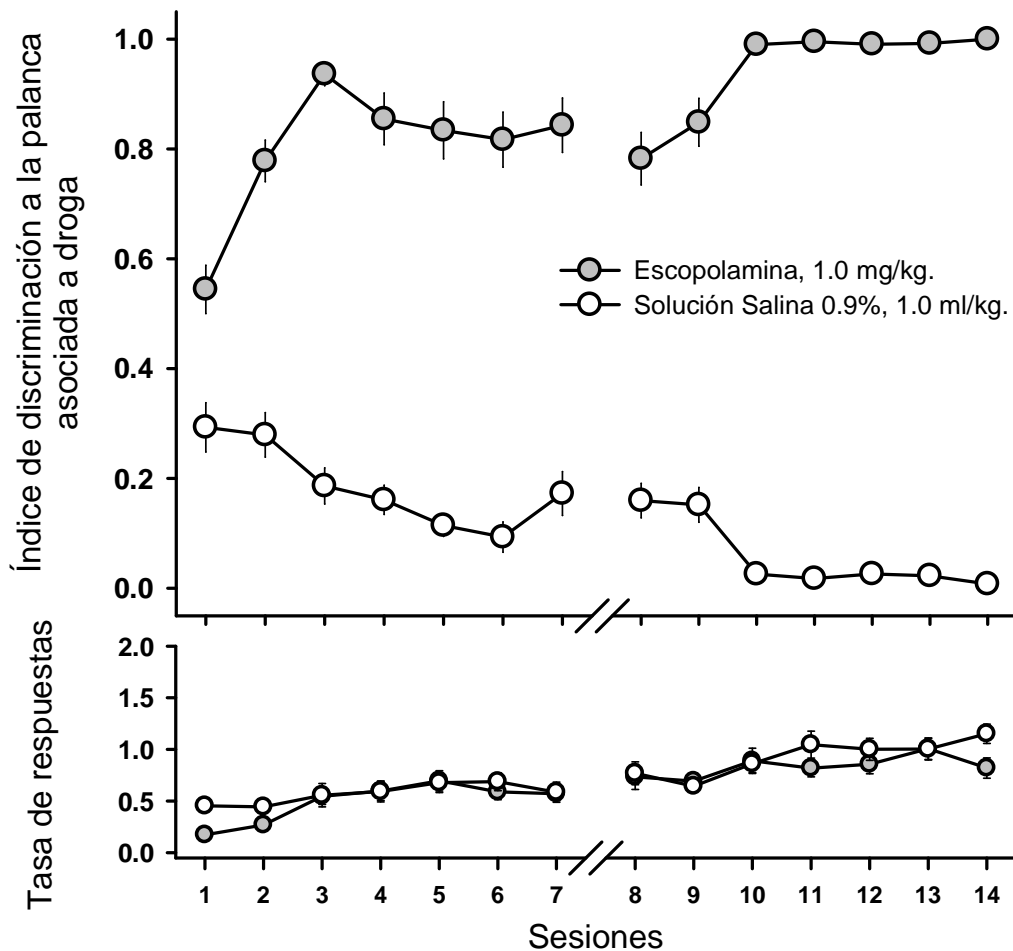
Adicionalmente, se comparó el número de sesiones de entrenamiento necesarias para el inicio de la línea base (10 sesiones consecutivas dentro de los criterios de adquisición) y se realizó una prueba t de Student entre los dos experimentos.

Se empleó el programa Sigma Plot 10 tanto para el ajuste de las funciones como para graficar los datos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico de Prisma 5 *for Windows*. En el presente trabajo los resultados se expresan en medias y error estándar de la media (S.E.M).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Adquisición de la discriminación de escopolamina

En promedio los sujetos requirieron entre 30 y 40 sesiones de entrenamiento para alcanzar el criterio de adquisición (LB). En la gráfica 1 se muestra el promedio del índice de discriminación (ID) y de la tasa de respuestas (TR) de los 35 sujetos durante la fase de entrenamiento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el número de sesiones de entrenamiento requeridas para alcanzar la LB entre los sujetos de ambos experimentos (I y II).



**Gráfica 1.** Adquisición de la discriminación entre escopolamina (1.0 mg/kg, i.p.) y solución salina. En las abscisas se muestra las primeras y últimas 7 sesiones en entrenamiento y en la ordenada el índice de discriminación en el panel superior y la tasa de respuestas en el panel inferior (n = 35). Medias  $\pm$  S.E.M.

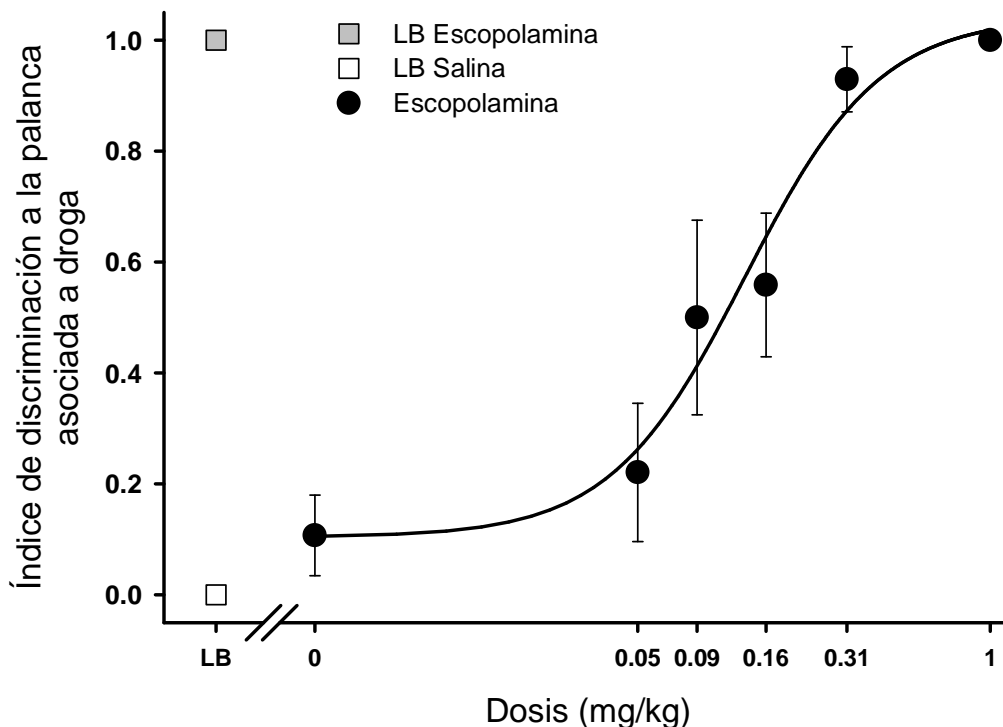
La gráfica 1 (superior) muestra aleatoriedad en la respuesta de discriminación durante las primeras sesiones con un  $ID = 0.5443 \pm 0.0438$  para la primera sesión con escopolamina y un  $ID = 0.2931 \pm 0.0448$  para la primera sesión en la condición de salina. Para la séptima sesión de entrenamiento, el índice de discriminación fue de  $0.8432 \pm 0.0495$  y  $0.1727 \pm 0.0399$  para las condiciones de escopolamina y salina respectivamente. Mientras que al final del entrenamiento, en la última sesión, la distribución de la respuesta obedece al control del estímulo con un  $ID = 1.0 \pm 0$  para la condición de escopolamina y un  $ID = 0.0080 \pm 0.045$  para la condición de salina.

Por otra parte, la TR (gráfica 1, inferior) incrementa conforme el sujeto adquiere más experiencia en la tarea. En la primera sesión de entrenamiento con escopolamina la  $TR = 0.1738 \pm 0.2399$ , mientras que en la última sesión se observó una  $TR = 0.82 \pm 0.0985$ , en tanto la tasa de respuestas en la primera sesión bajo la condición de salina fue de  $0.4542 \pm 0.0465$  en contraste con la última sesión en donde se presentó un incremento hasta  $1.152 \pm 0.0933$  respuestas por segundo.

## **6.2. Generalización con escopolamina**

Una vez que los sujetos alcanzaron los criterios de adquisición se realizaron las pruebas de generalización con escopolamina correspondientes al experimento I ( $n=8$ ). Los resultados de las pruebas de generalización y la curva de generalización se muestran en la gráfica 2, como puede observarse se presenta un gradiente de generalización dependiente de la dosis.

La gráfica 2 indica el índice de discriminación (ID) para la línea base (LB), tanto para escopolamina ( $1.0 \pm 0$ ) como para solución salina ( $0.0 \pm 0$ ), el ID para cada dosis de escopolamina administrada (graficados en escala logarítmica), así como el ajuste sigmoideo. En la curva se observa que la dosis de 0.0 mg/kg presenta un valor  $ID = 0.1074 \pm 0.0726$  y la dosis de 1.0 mg/kg un valor  $ID = 1.0 \pm 0.0$ , estos valores no mostraron diferencias con respecto a la línea base para salina y escopolamina respectivamente. Adicionalmente el efecto igual al 50% del efecto máximo ( $ED_{50}$ ) lo produjo la dosis de 0.091 mg/kg, que corresponde con un valor  $ID = 0.5 \pm 0.1753$ .

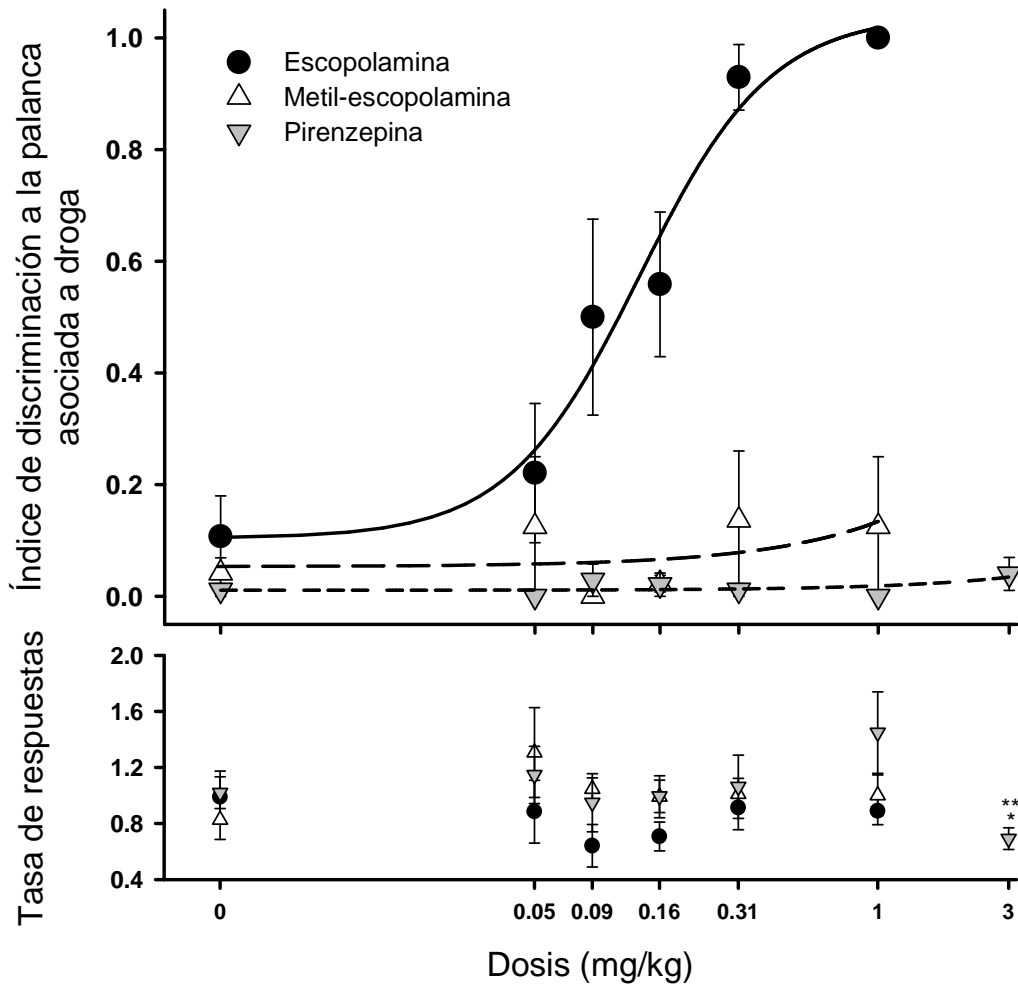


**Gráfica 2.** Curva de generalización con escopolamina. Indica el ID (ordenada) para las sesiones de línea base (LB), el ID para las distintas dosis de escopolamina (abscisa) y el ajuste sigmoideo. El valor mínimo de la curva es igual a  $0.1074 \pm 0.07$ , el máximo es igual a  $1.0 \pm 0.0$  y la pendiente de la curva con valor de  $0.7767 \pm 0.10$  ( $n = 8$ ). Medias  $\pm$  S.E.M.

### 6.3. Generalización con metilescopolamina y pirenzepina

Con el fin de analizar si la discriminación de escopolamina se generaliza con su análogo cuaternario de escasa penetración al SNC, la metilescopolamina ( $n=8$ ) y con el agonista muscarínico selectivo para el receptor  $M_1$ , la pirenzepina ( $n=8$ ), se realizaron las pruebas de generalización. Los resultados obtenidos en las curvas de generalización, muestran que la respuesta de discriminación de escopolamina no se generalizó con la metilescopolamina (ME), ni con la pirenzepina (Pz), en ninguna de las dosis administradas de ambos fármacos. Los resultados se presentan en la gráfica 3, en la cual se muestra el índice de discriminación de los 3 grupos para cada dosis, el ajuste sigmoideo para la curva de generalización con escopolamina, los ajustes lineales para ME y Pz y la tasa de respuestas (TR) en el panel inferior. El análisis estadístico (ANOVA) de la TR no mostró diferencias significativas para ninguna dosis de los 3 fármacos, excepto la TR de la dosis de 3.0 mg/kg de pirenzepina, presentó diferencias con respecto a la Línea Base para las condiciones de salina (TR

=1.243 ± 0.11; t =4.07, p <0.01) y de escopolamina (TR =1.053 ± 0.07; t =2.642, p <0.05).

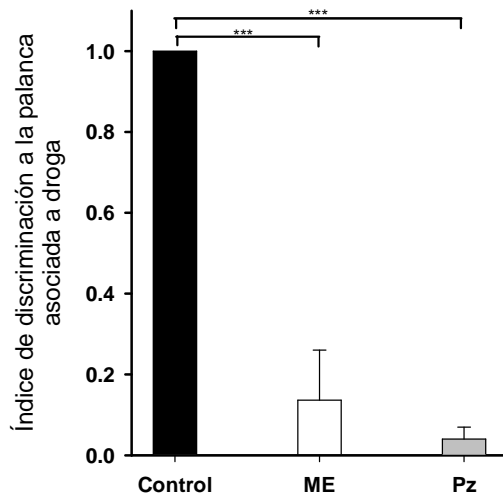


**Gráfica 3.** Curvas de generalización con escopolamina, ME y Pz. Abscisas: dosis de los fármacos. Ordenada: en el panel superior el ID promedio, el ajuste sigmoideo para el grupo escopolamina y el ajuste lineal para el grupo ME y Pz (escala logarítmica) y en panel inferior la tasa de respuestas. n = 8 para cada grupo. Medias ± S.E.M.

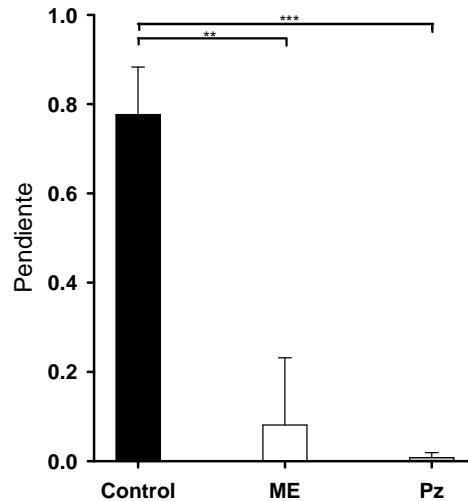
Adicionalmente, la gráfica 4 presenta los valores promedio en el efecto máximo ( $E_{máx}$ ) de las curvas de generalización para los grupos escopolamina (control),  $E_{máx} = 1.0 \pm 0.0$ , ME ( $E_{máx} = 0.1364 \pm 0.1239$ ) y Pz ( $E_{máx} = 0.0402 \pm 0.0294$ ). Se pueden observar diferencias estadísticamente significativas del grupo ME (t =6.971, p <0.001) y del grupo con Pz (t =32.55, p <0.0001) ambos respecto al grupo escopolamina (control). En la gráfica 5 se observan los valores promedio de la pendiente obtenida con la regresión lineal para cada uno de los tres



grupos, así como las diferencias del grupo ME ( $t = 3.540$ ,  $p < 0.01$ ) y del grupo Pz ( $t = 7.076$ ,  $p < 0.001$ ) con respecto al grupo control.



**Gráfica 4.** Emáx. Muestra el valor máximo en la curva de generalización para el grupo control con escopolamina, el grupo con metilescopolamina (ME) y el grupo con pirenzepina (Pz). Medias  $\pm$  S.E.M.



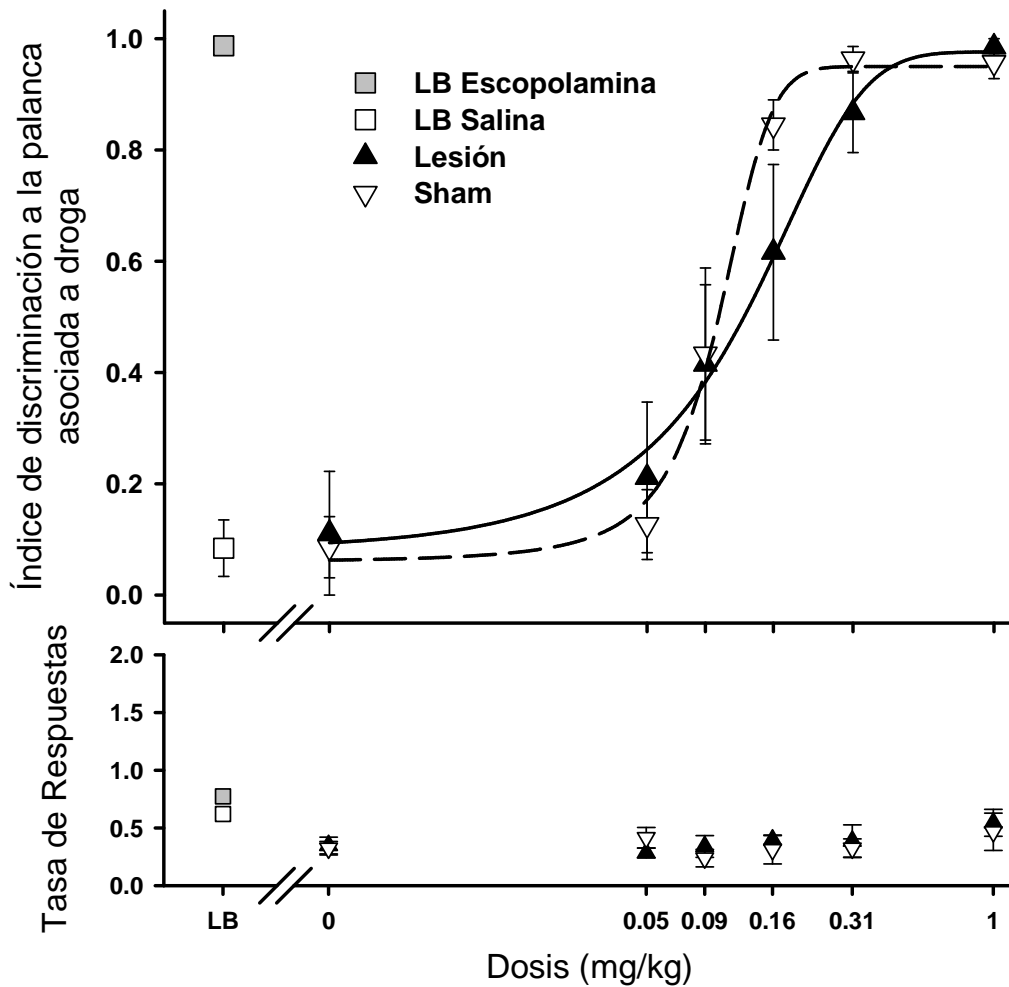
**Gráfica 5.** Pendiente. Presenta los valores estimados de la pendiente para el grupo control con escopolamina ( $0.7767 \pm 0.1063$ ), para ME ( $0.0808 \pm 0.1508$ ) y para Pz ( $0.0078 \pm 0.0011$ ). Medias  $\pm$  S.E.M.

#### 6.4. Lesión en la corteza prefrontal dorsolateral

Con el fin de evaluar la participación de la corteza prefrontal dorsolateral en la recuperación de información sobre la discriminación de escopolamina previamente aprendida, en el experimento II, se realizaron lesiones en esta área cerebral y se obtuvo la curva de generalización con las distintas dosis de escopolamina, la cual fue comparada con la curva del grupo Sham con lesión falsa. Tres sujetos del grupo Sham fallecieron durante el procedimiento quirúrgico, mientras que 3 sujetos del grupo con lesión fueron excluidos al presentar el sitio de lesión incorrecto tras la verificación histológica, los datos de estos sujetos fueron considerados para el análisis en la fase de entrenamiento, pero fueron excluidos del análisis para las pruebas de generalización, por lo cual los grupos quedaron constituidos por una  $n = 6$ .

Los resultados de este experimento y las curvas de generalización se presentan en la gráfica 6, en la cual se muestra (panel superior) el promedio de la respuesta de discriminación de los 12 sujetos durante la línea base (LB) del

entrenamiento (escopolamina ID =0.9871 ±0.006 y salina ID =0.08442 ± 0.0506), la distribución promedio de las respuestas de ambos grupos para cada dosis de escopolamina y el ajuste sigmoideo de los datos graficados en escala logarítmica.

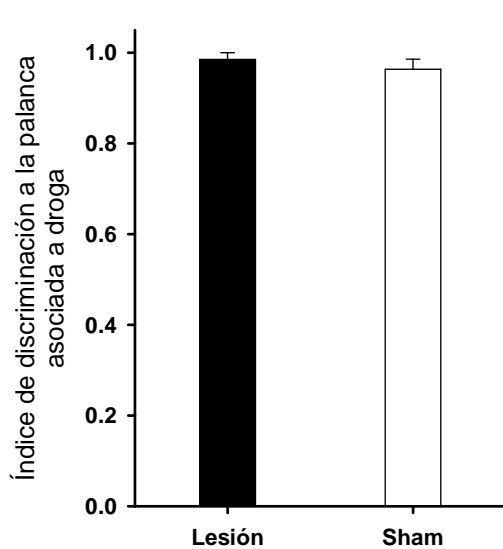


**Gráfica 6.** Curva de generalización de los grupos Sham y lesión. Abscisas: dosis de escopolamina (escala logarítmica). En el panel superior se grafica el ID (ordenada) para las sesiones de Línea Base (LB) y para las diferentes dosis de escopolamina, así como el ajuste sigmoideo para ambos grupos y en panel inferior la tasa de respuestas (ordenada). n = 6 para cada grupo. Medias ± S.E.M.

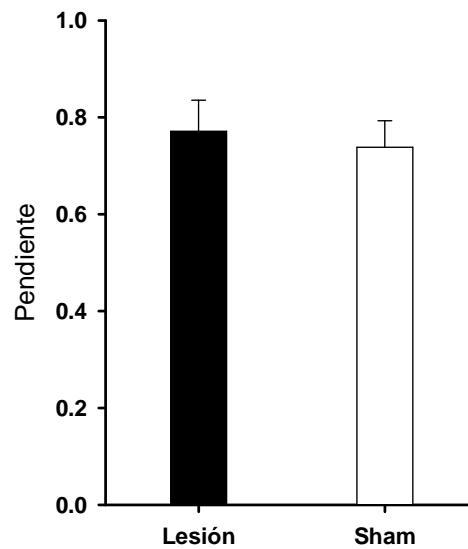
En la gráfica 6 se observa un gradiente de generalización dosis-dependiente tanto para el grupo Sham como para el grupo con lesión electrolítica bilateral en la corteza prefrontal dorsolateral. Como puede observarse en la gráfica, los sujetos del grupo con lesión conservaron la capacidad de discriminar la escopolamina aún sin contar con la integridad de esta área cerebral.

Finalmente, se muestran (gráfica 6, panel inferior) las tasas de respuesta de los sujetos del grupo con lesión y del grupo Sham durante las sesiones correspondientes a las pruebas de generalización. El análisis de varianza para la TR no presentó diferencias estadísticamente significativas entre ninguna de las dosis de escopolamina para ambos grupos.

Con el propósito de un mayor análisis de los datos, se compararon los principales parámetros derivados de las curvas de generalización para ambos grupos. En lo que respecta al valor máximo (Emáx) y a la pendiente de ambas curvas, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas. Las gráficas 7 y 8 muestran respectivamente, los valores promedio del efecto máximo (Emáx) y de la pendiente de las curvas de generalización. Es notable la similitud en los valores entre ambos grupos.



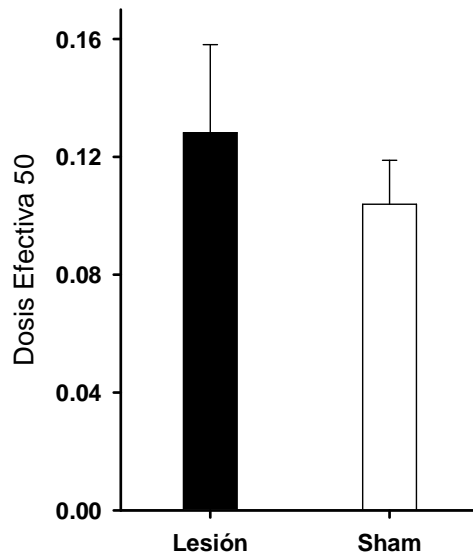
**Gráfica 7.** Efecto máximo (Emáx). Valor para el grupo sham igual a  $0.9636 \pm 0.0222$  y para el grupo de lesión igual a  $0.9848 \pm 0.0151$ . Medias  $\pm$  S.E.M.



**Gráfica 8.** Pendiente. Valor de la pendiente obtenida con regresión lineal para el grupo Sham:  $0.7383 \pm 0.0545$ , y para el grupo de lesión:  $0.7713 \pm 0.0640$ . Medias  $\pm$  S.E.M.

En cuanto a los valores correspondientes a la dosis suficiente para producir el 50% del efecto máximo ( $ED_{50}$ ), estimados a partir del ajuste de la curva de generalización de cada sujeto, la gráfica 9 presenta el valor promedio para el grupo con lesión ( $0.1282 \pm 0.0298$ ) con respecto al grupo con Sham ( $0.1039 \pm 0.0149$ ), dichos valores no mostraron diferencias estadísticamente significativas

( $t = 0.7270$ ,  $p = 0.4839$ ). De forma similar, el valor promedio del efecto mínimo ( $E_{mín}$ ) de la curva del grupo Sham ( $0.0861 \pm 0.0549$ ), tampoco presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al del grupo con lesión ( $0.1112 \pm 0.1112$ ).



**Gráfica 9.** Dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ). Muestra los valores estimados de la  $DE_{50}$  a partir del ajuste de la curva de generalización para cada sujeto del grupo Sham y del grupo con lesión. Medias  $\pm$  S.E.M

## 6.5. Verificación histológica

Como se mencionó anteriormente (fase 6, experimento II), se llevó a cabo la verificación histológica de los procedimientos quirúrgicos para todos los sujetos asignados al experimento II. Para los sujetos del grupo Sham se verificó que los procedimientos quirúrgicos no produjeran una lesión en el tejido nervioso más allá del trayecto del electrodo (por ejemplo: hemorragia, infección, etc.) y para el grupo con lesión que los sujetos incluidos en el análisis de generalización presentaran una lesión de al menos el 70% del área correspondiente a la corteza prefrontal dorsolateral. De forma representativa, se muestra a continuación (Figura 6) un corte coronal, a la altura de la corteza prefrontal, de un sujeto perteneciente al grupo con lesión, nótese el trayecto del electrodo y la lesión en el área prefrontal dorsolateral.

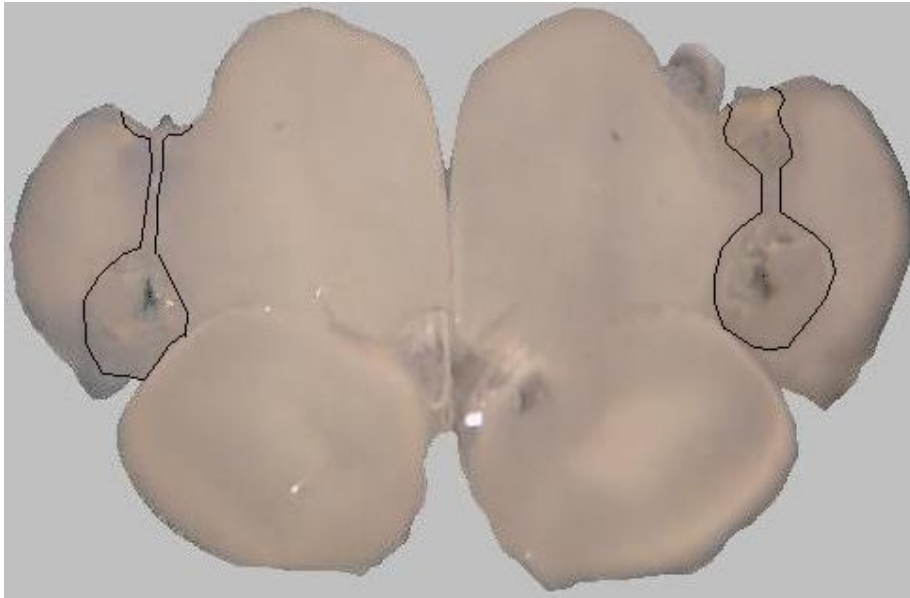


Fig. 6. Corte coronal representativo del sitio de la lesión en corteza frontal dorsolateral. Se marca con una línea el perímetro del área de lesión.

## 7. DISCUSIÓN

Distintas especies animales son capaces de adquirir respuestas de asociación y de discriminación de estímulos farmacológicos, al mismo tiempo son capaces de generalizar su respuesta ante diferentes dosis del fármaco, incluso de fármacos antagonistas colinérgicos como la escopolamina, los cuales han sido asociados con efectos amnésicos o efectos negativos sobre la cognición. Por ello y otras razones, la discriminación de un estímulo interoceptivo producido por la interacción del organismo con un agente farmacológico resulta interesante y aunque después varias décadas en que distintos grupos de investigación han abordado su estudio, aún no está claro el mecanismo ni los sistemas neuronales implicados en el proceso de discriminación de agentes anticolinérgicos. Por lo cual el presente trabajo tuvo como objetivo general evaluar la participación del sistema colinérgico periférico, del receptor M1, así como de la corteza prefrontal dorsolateral en la discriminación del antagonista muscarínico la escopolamina. Los resultados del presente trabajo, que son discutidos a continuación, aportan mayor información y conocimiento de este proceso discriminativo.

Con respecto al aprendizaje discriminativo, como muestran las curvas de aprendizaje, el número similar de sesiones requeridas (30-40) para alcanzar los criterios de adquisición de la tarea por los sujetos de ambos experimentos y la relativa estabilidad en la conducta aprendida al final del entrenamiento, es una evidencia clara de que los efectos producidos por la escopolamina son potentes estímulos farmacológicos, capaces de ejercer control asociativo y cambios en la conducta del sujeto (Barry, 1974).

Durante este trabajo se estudió la respuesta de los sujetos entrenados a discriminar una dosis particular de escopolamina (1.0 mg/kg), posteriormente se observó que ante la administración de distintas dosis decrecientes del antagonista, la distribución de las respuestas presenta un gradiente de generalización dependiente de la dosis. Estos resultados son consistentes con los reportes realizados por otros grupos de investigación, quienes han descrito las propiedades como estímulo discriminativo de la escopolamina (Overton, 1977; Kelley y Porter, 1997; Casasola y cols., 2007). Al mismo tiempo las

curvas de generalización reflejan la sensibilidad de los sujetos para responder diferencialmente ante cambios en las dimensiones del estímulo. Particularmente el valor de 0.091 mg/Kg en la ED<sub>50</sub> derivada de la curva de generalización con escopolamina del presente estudio, coincide con el valor de la ED<sub>50</sub> reportada por Jung y colaboradores (1988) en curvas de generalización similares con escopolamina, en cuyo caso fue de 0.027 mg/kg.

El análisis de la participación del sistema nervioso periférico en la discriminación de escopolamina se llevó a cabo mediante pruebas de generalización con metilescopolamina [(-) metil bromuro de escopolamina], el perfil farmacológico de este antagonista colinérgico presenta afinidad por los cinco subtipos del receptor muscarínico y su grupo metilo dificulta su paso a través de la barrera hematoencefálica, disminuyendo su eficacia para producir efectos a nivel del SNC y sobre otros procesos cognitivos, cuyo procesamiento es central como la memoria espacial (Hoff y cols., 2010). Las dosis empleadas en ésta tesis del compuesto metilescopolamina no alcanzan las concentraciones mínimas para producir efectos centrales (Janowsky y cols. 1986; Tang y Franklin, 1988), por lo tanto se presume que las dosis empleadas únicamente actuaron sobre la actividad colinérgica metabotrópica a nivel periférico. Los datos derivados de ésta manipulación indican que las ratas no fueron capaces de generalizar su respuesta ante las diferentes dosis administradas de metilescopolamina, presentando diferencias estadísticamente significativas en la pendiente y en la Emáx con respecto al grupo con escopolamina, de lo cual se deduce que las propiedades como estímulo discriminativo de la escopolamina se procesan a nivel central. Este resultado coincide con estudios previos en donde la administración de metil bromuro de escopolamina (metilescopolamina), no fue capaz de mimetizar los efectos discriminativos obtenidos en sujetos cuyo entrenamiento en discriminación se desarrolló a través de la administración sistémica de escopolamina (Jung y cols., 1988) o con el estudio en donde la administración intracerebroventricular de oxotremorina no fue capaz de reproducir el control de estímulos obtenido con la administración sistémica de escopolamina (Jung y cols., 1987b).

Por otra parte la participación del receptor M<sub>1</sub> se evaluó a través de las pruebas de generalización con la administración de distintas dosis de pirenzepina, un

antagonista relativamente selectivo para los receptores  $M_1$ . Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la pirenzepina no reproduce el control del estímulo sobre la conducta ejercido por la administración de escopolamina, en conclusión el antagonismo selectivo de los receptores  $M_1$  no parece formar parte del mecanismo neuroquímico que sustenta la discriminación de escopolamina. Los datos son consistentes con lo reportado por Jung y colaboradores en 1987, trabajo cuyo objetivo fue examinar el efecto de la administración central de pirenzepina sobre la respuesta de discriminación adquirida en ratas entrenadas con administración sistémica de agentes muscarínicos. En el estudio de Jung y colaboradores (1987b), se observó que la administración intracerebroventricular (i.c.v.) de pirenzepina no generalizó la discriminación de escopolamina (s.c.) y que la administración de pirenzepina (i.c.v.) no antagonizó el efecto discriminativo del agonista muscarínico no selectivo, la oxotremorina (s.c.). Los resultados del presente trabajo son similares a los reportados por Jung y colaboradores (1987b), no obstante a las diferencias entre ambos estudios, por ejemplo, en el caso de Jung y colaboradores (1987b), la pirenzepina se administró directamente sobre el SNC, lo cual aseguró la concentración del fármaco sobre los receptores centrales y por tanto la potencia del antagonista. En el presente estudio la administración de pirenzepina fue periférica, debido a que este compuesto penetra pobremente la barrera hematoencefálica, la disposición de la pirenzepina fue menor para producir el efecto farmacológico sobre los receptores centrales, por esta razón en el presente estudio se empleó una dosis alta adicional de pirenzepina (3.0 mg/Kg), la cual ha sido empleada en rangos similares en otros estudios (Shurtleff y cols., 1992; Tang y Franklin, 1988). Esta dosis tampoco mostró ser suficiente para reproducir el control de estímulos de la escopolamina. Adicionalmente en el estudio de Jung y cols. (1987b), la evaluación conductual se realizó 20 minutos después de la administración intracerebroventricular, manipulación que no se discute con profundidad en dicho trabajo.

Los resultados de ambos estudios muestran evidencia contraria a que el receptor  $M_1$  esté implicado en el proceso de discriminación de escopolamina. No obstante esto no descarta totalmente la participación del receptor  $M_1$  en



algún nivel del proceso de discriminación de estímulos con escopolamina, debido a que aún no se ha examinado detalladamente la participación conjunta o la interacción entre los diferentes receptores muscarínicos, incluido el M<sub>1</sub>, en el fenómeno.

En un trabajo previo (Casasola y cols., 2007), se analizó la participación del hipocampo dorsal de ratas sobre la discriminación y generalización de escopolamina previamente aprendida, lo anterior debido a la importancia ya ampliamente descrita de esta estructura límbica para procesos cognitivos como el aprendizaje asociativo y la memoria (Squire y Zola, 1996; Hasselmo, 2006). Los resultados de dicho estudio mostraron que la lesión del hipocampo produce una alteración transitoria en la capacidad de las ratas para discriminar al antagonista, no obstante, los sujetos lesionados presentaron una recuperación rápida de la discriminación de escopolamina, lo que parece demostrar la participación adicional de otros sistemas cerebrales relacionados con el proceso mnémico de la discriminación. Por lo cual en el presente estudio, durante el segundo experimento, se estudio la participación de la corteza prefrontal dorsolateral sobre la discriminación de escopolamina previamente aprendida, lo cual se realizó a través de la lesión electrolítica de esta estructura. Se ha reportado que la corteza prefrontal dorsolateral está relacionada con la memoria de trabajo (Koenigs y Grafman, 2009) y la discriminación de estímulos (Corbetta y cols., 1991). La memoria de trabajo es necesaria para resolver el ensayo inmediato posterior en una tarea determinada, por ello resultaba ser un candidato prometedor para dilucidar el tipo de memoria implicada en la tarea de discriminación de escopolamina. Sin embargo, los datos observados en nuestro trabajo, no mostraron diferencias sustanciales entre la ejecución del grupo sin lesión (Sham) y el grupo con lesión en la corteza prefrontal dorsolateral; los parámetros evaluados (Emáx, Emín, ED<sub>50</sub> y pendiente), en las curvas de generalización entre el grupo Sham y el grupo con lesión no presentan diferencias estadísticas significativas. Los resultados indican que la corteza prefrontal dorsolateral no participa en el proceso de generalización de escopolamina. Este experimento sugiere que la discriminación de escopolamina no depende propiamente de la memoria de trabajo.

Adicionalmente los datos tanto del grupo Sham como del grupo con lesión del segundo experimento se compararon con los datos de la curva control del primer experimento, en este caso tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros considerados (Em<sub>áx</sub>, Em<sub>ín</sub>, DE<sub>50</sub> y pendiente), manifestando el hecho de que ni el procedimiento quirúrgico ni el periodo postoperatorio, afectaron la ejecución de los sujetos en cuanto a la distribución de sus respuestas durante la generalización de escopolamina. En general, los tres grupos presentaron un gradiente de generalización dependiente de la dosis, sin embargo, se puede observar (gráfica 6), una mayor varianza (error estándar) en los datos del grupo con lesión en corteza prefrontal dorsolateral comparado con el grupo Sham, resta por explorarse si esta tendencia representa alguna diferencia en el procesamiento de la tarea, si se debe al tamaño de la muestra (n) o si bien, aunque aparentemente la corteza prefrontal dorsolateral no participa directamente en el proceso de discriminación de escopolamina, pudiera tener una alguna actividad colateral o parcial en algún subproceso durante la discriminación. Diversos autores han estudiado la participación de dos o más sistemas de neurotransmisión en los efectos como estímulo discriminativo de distintos fármacos, por ejemplo en el trabajo de Wiley y Martin (1999) encontraron que el diazepam, un agonista GABAérgico produce parcialmente los efectos como estímulo discriminativo del  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC, la sustancia activa de la marihuana) en ratas entrenadas a discriminar  $\Delta^9$ -THC de solución salina, sin embargo no se observó sustitución del diazepam por el  $\Delta^9$ -THC en ratas entrenadas a discriminar diazepam de salina (Wiley y Martin, 1999). En cuanto al sistema colinérgico, Higgins y colaboradores (2011) entrenaron ratas a discriminar nicotina de solución salina, posteriormente evaluaron los efectos de la lorcaserina, un agonista selectivo al subtipo de receptor a serotonina, 5-HT<sub>2C</sub>, los resultados indican una inhibición dependiente de la dosis (0.3 y 0.6 mg/kg) de lorcaserina sobre los efectos de la nicotina como estímulo discriminativo, demostrando que existe una interacción entre ambos sistemas de neurotransmisión durante el proceso de discriminación de la nicotina. Desai y cols. (2003) estudiaron los mecanismos dopaminérgicos y colinérgicos involucrados en los efectos como E<sup>D</sup> de la nicotina y de la cocaína,

en este trabajo se entrenó a un grupo de ratas a discriminar cocaína de salina y evaluaron los efectos de agonistas colinérgicos, los resultados mostraron una sustitución completa por la nicotina, pero no por pilocarpina (un agonista muscarínico); por otra parte la mecamilamina, un antagonista a los receptores nicotínicos, no bloqueó los efectos discriminativos de la cocaína. Mientras tanto en otro grupo de ratas entrenadas a discriminar nicotina de salina, se evaluó el efecto del antagonista dopaminérgico, cis-flupentixol, encontrando inhibición de los efectos discriminativos de la nicotina. Los autores concluyeron que las propiedades discriminativas de la cocaína son alteradas por la intervención colinérgica en la transmisión dopaminérgica, dicha interacción se presenta de manera recíproca en la discriminación de nicotina. La interacción DA/ACh, también se encuentra con la rama metabotrópica del sistema colinérgico, por ejemplo antagonistas muscarínicos incrementan los niveles dopaminérgicos en el estriado en ratas y humanos (Dewey y cols., 1993). En 2010, Thomsen y cols. probaron la hipótesis de que agonistas muscarínicos atenúan los efectos relacionados al abuso de cocaína, para lo cual utilizaron ratones entrenados a discriminar cocaína (10 mg/kg) de salina y evaluaron los efectos de la escopolamina (0.032-56 mg/kg) y la metilescopolamina (1-56 mg/kg), encontrando generalización parcial en ambos casos, pero al coadministrar cocaína con ambos antagonistas muscarínicos de manera independiente, se observó un desplazamiento a la izquierda de la curva dosis respuesta para la cocaína, es decir la potenciación de los efectos como estímulo discriminativo de la cocaína (Thomsen y cols., 2010). Todos estos estudios son evidencia de que las propiedades discriminativas de la escopolamina pueden estar mediadas por otros sistemas de neurotransmisión que no se abordaron en el presente trabajo.

Los estudios realizados hasta el momento cuyo propósito ha sido el describir el mecanismo a través del cual la escopolamina ejerce el control sobre la conducta, no han logrado esclarecer el fenómeno por completo, no obstante la aportación de diversos grupos de investigación ha logrado encontrar información relevante al respecto y brindar perspectivas que permitan afinar las estrategias para estudiarlo y comprenderlo. A partir del presente estudio se derivan varios cuestionamientos, así como alternativas para abordar el

fenómeno de discriminación de antagonistas muscarínicos. Por ejemplo, realizar la administración intracerebral de fármacos con mayor especificidad y selectividad para los diferentes receptores muscarínicos, explorar la participación conjunta o simultánea de diferentes receptores o circuitos cerebrales durante la discriminación, explorar la participación de otros sistemas de memoria diferentes a la memoria de trabajo, durante la recuperación de información de la tarea o también, analizar la participación de otros sistemas neuroquímicos e investigar este fenómeno incorporando herramientas adicionales a la farmacológica, como pueden ser la electrofisiología o la biología molecular.

Finalmente, la comprensión de los procesos neurofisiológicos y psicobiológicos que subyacen a la discriminación de agentes farmacológicos, permitirá conocer mejor los mecanismos que participan en la discriminación de estímulos generales y en el aprendizaje y la memoria asociativa de los organismos, procesos que representan un recurso biológico esencial en la adaptación de los organismos a su medio ambiente.

## 8. CONCLUSIONES

1. Los resultados del presente estudio corroboran que las ratas son capaces de discriminar la administración de escopolamina y generalizar su respuesta ante distintas dosis decrecientes del antagonista muscarínico, pese a su efecto amnésico clásico.
2. La discriminación de escopolamina no se generaliza ante la administración del análogo cuaternario que no cruza la barrera hematoencefálica: la metilescopolamina [(-) metil bromuro de escopolamina], por lo cual se deduce que las propiedades como estímulo discriminativo de la escopolamina se procesan principalmente a nivel del sistema nervioso central.
3. La respuesta de discriminación de escopolamina no se generaliza ante la administración sistémica de pirenzepina, por lo que el receptor M1 no participa en la discriminación de escopolamina. Probablemente el proceso de discriminación depende de otros subtipos del receptor muscarínico, o bien de la interacción de dos o más de ellos.
4. La lesión de la corteza prefrontal dorsolateral no afecta la discriminación y generalización de escopolamina previamente aprendida, probablemente este proceso discriminativo depende de otros sistemas cerebrales o de la interacción de más de uno de ellos.
5. El paradigma de discriminación de drogas se presenta como un modelo útil para la evaluación conductual respecto a los efectos farmacológicos y de mecanismos neurobiológicos vinculados con el aprendizaje asociativo y la memoria.

## 9. REFERENCIAS

- Achat-Mendes, C. y Platt, D.M. (2009) The dopamine D3 receptor partial agonist CJB 090 inhibits the discriminative stimulus but not the reinforcing or priming effects of cocaine in squirrel monkeys. *Psychopharmacology*. 206: 73-84.
- Aou, S., Oomura, Y., Nishino, H., Ono, T., Yamabe, K., Sikdar, S.K., Noda, T. e Inoue, M. (1983) Functional heterogeneity of single neuronal activity in the monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Res*. 260, 121-124.
- Appel, J.B., West, W.B., Rolandi, W.G., Alici, T. y Pechersky, K. (1999) Increasing the selectivity of drug discrimination procedures. *Pharmacol Biochem Behav*. 64 (2): 353-358.
- Araujo, J.A., Chan, A.D.F., Winka, L.L., Seymour, P.A. y Milgram, N.W. (2004) Dose-specific effects of scopolamine on canine cognition: impairment of visuospatial memory, but not visuospatial discrimination. *Psychopharmacology*. 175 (1): 92-98.
- Arnsten, A.F.T. y Goldman-Rakic, P.S. (1984) Selective prefrontal cortical projection to the region of the Locus Ceruleus and Raphe nuclei in the rhesus monkey. *Brain Res*. 306: 9-18.
- Arnt, J., Lembol, H.L., Meier, D. y Pedersen, H. (1992) Discriminative stimulus properties of the muscarinic receptor agonists Lu 26-046 and O-Me-THPO in rats: evidence for involvement of different muscarinic receptor subtypes. *Eur J Pharmacol*. 218: 159-169.
- Aura, J., Sirviö, J. y Riekkinen, P. Jr. (1997) Methoctramine moderately improves memory but pirenzepine disrupts performance in delayed non-matching to position test. *Eur J Pharmacol*. 333: 129-134.
- Baddeley, A.D. y Hitch, G.J. (1974) Working memory. In G.A. Bower (ed.) *Recent Advances in Learning and Motivation*, Vol.8 (pp.47-89). New York: Academic Press.
- Banich, M.T. y Compton, R.J. (2011) *Cognitive neurosciences: Third Edition*. Wadsworth Cengage Learning: U.S.A.
- Barbas, H. (2000) Connection underlying the syntheses of cognition, memory, and emotion in primate prefrontal cortices. *Brain Res Bull*. 52 (5) 319-330.
- Barnes, D.C., Hofacer, R.D., Zaman, A.R., Rennaker, R.L. y Wilson, D.A.

- (2008) Olfactory perceptual stability and discrimination. *Nat Neurosci.* 11 (12): 1378-1380.
- Barry, H. III. (1974) Classification of drugs according to their discriminable effects in rats. *Fed Proc.* 33 (7): 1814-1824.
- Bogdanovic, N., Islam, A., Nilsson, L., Bergström, L., Winblad, B. y Adem, A. (1993) Effects of nucleus basalis lesion on muscarinic receptor subtypes. *Exp Brain Res.* 97: 225-232.
- Brailowsky, S. (1998) *Las sustancias de los sueños.* Segunda edición. Fondo de Cultura Económico: México.
- Buckley, N.J., Bonner, T.I., Buckley, C.M. y Brann, M.R. (1989) Antagonist binding properties of five cloned muscarinic receptors expressed in CHO-K1 cells. *Mol Pharmacol.* 35: 469-476.
- Callicott, J.H., Bertolino, A., Mattay, V.S., Langheim, F.J.P., Duyn, J., Coppola, R., Goldberg, T.E. y Weinberger, D.R. (2000) Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex.* 10: 1078-1092.
- Carlson, N. (2006) *Fisiología de la Conducta.* Octava edición. Pearson, Addison Wesley: España.
- Carlson, S., Tanila, H., Pertovaara, A. y Lähteenmäki, A. (1990) Vertical and horizontal coding of space in the monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Res.* 527: 145-149.
- Casasola, C., Mejia-Gervacio, S. Cruz-Pérez M., Sánchez-Castillo, H. y Velázquez-Martínez, D.N. (2007) Participation of the dorsal hippocampus in stimulus discrimination with scopolamine. *Brain Res.* 1178: 125-131.
- Caulfield, M.P. (1993) Muscarinic receptors-characterization, coupling and function. *Pharmacol Ther.* 58 (3): 319-379.
- Cavada, C., Compañy, T., Hernández-González, A. y Reinoso-Suárez, F. (1995) Acetylcholinesterase histochemistry in the macaque thalamus reveals territories selectively connected to frontal, parietal and temporal association. *J Chem Neuroanat.* 8: 245-257.
- Colpaert, F.C. (1999) Drug discrimination in neurobiology. *Pharmacol Biochem Behav.* 64 (2): 337-345.
- Colpaert, F.C., Niemegeers, C.J.E., Janssen, P.A.J. (1975) The narcotic cue: evidence for the specificity of the stimulus properties of narcotic drugs. *Arch*

- Int Pharmacodyn Ther. 218: 268-276.
- Colpaert, F.C. y Koek, W., (1995) Empirical evidence that the state dependence and drug discrimination paradigms can generate different outcomes. *Psychopharmacology*. 120: 272-279.
- Colpaert, F.C., Niemegeers, C.J.E. y Janssen, P.A.J. (1976) Theoretical and methodological considerations on drug discrimination learning. *Psychopharmacologia*. 46: 169-177.
- Conn, P.J., Jones, C.K. y Lindsley, C.W. (2009) Subtype-selective allosteric modulators of muscarinic receptors for the treatment of CNS disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 30 (3): 148-155.
- Corbetta, M., Mezin, F.M., Dobmeyer, S., Shulman, G.L. y Peterson, S.E. (1991) Selective and divided attention during visual discriminations of shape, color, and speed: functional anatomy by positron emission tomography. *J Neurosci*. 11(8): 2383-2402.
- Cotter, D., Mackay, D., Chana, G., Beasley, C., Landau, S. y Everall, I.P. (2002) Reduced neuronal size and glial cell density in area 9 of the dorsolateral prefrontal cortex in subjects with major depressive disorder. *Cereb Cortex*. 12: 386-394.
- Crowne, D.P. y Pathria, M.N. (1982) Some attentional effects of unilateral frontal lesions in the rat. *Behav Brain Res*. 6: 25-39.
- Cunningham, C.S., Polston, J.E., Jany, J.R., Segert, I.L. y Miller, D.K. (2006) Interaction of lobeline and nicotinic receptor ligands with the discriminative stimulus properties of cocaine and amphetamine. *Drug Alcohol Depend*. 84 (3): 211-222.
- Dai, Y. y Baum, B.J., (1993) Relationship between muscarinic receptor occupancy and response in rat parotid acinar cells. *Am J Physiol*. 265 (6-1): G1122-G1127.
- Dekeyne, A., Gobert, A., Iob, L., Cistarelli, L., Melon, C. y Millan, M.J. (2001) Discriminative stimulus properties of the selective norepinephrine reuptake inhibitor, reboxetine, in rats. *Psychopharmacology*. 154: 213-218.
- Desai, R.I., Barber, D.J. y Terry, P. (2003) Dopaminergic and cholinergic involvement in the discriminative stimulus effects of nicotine and cocaine in rats. *Psychopharmacology*. 167: 335-343.
- Dewey, S.L., Smith, G.S., Logan, J., Brodie, J.D., Simkowitz, P., MacGregor,



- R.R., Fowler, J.S., Volkow, N.D. y Wolf, A.P. (1993) Effects of central cholinergic blockade on striatal dopamine release measured with positron emission tomography in normal human subjects. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 90 (24): 11816-11820.
- Domjan, M. (2010) *Principios de aprendizaje y conducta*. Sexta edición. Wadsworth Change Learning: México.
- Dudai, Y. (1995) *The neurobiology of memory*. Oxford University Press: Inglaterra.
- Emmerton, J. y Renner, J.C. (2006) Scalar effects in visual discrimination of numerosity by pigeons. *Learn Behav.* 34 (2): 176-192.
- Feldman, R.S., Meyer, J.S. y Quenzer, L.F. (1997) *Principles of Neuropsychopharmacology*. Sinauer Associates, Inc: USA.
- Friedman, H.R. y Goldman-Rakic, P.S. (1994) Coactivation of prefrontal cortex and inferior parietal cortex in working memory tasks revealed by 2DG functional mapping in the rhesus monkey. *J Neurosci.* 14 (5): 2775-2788.
- Funahashi, S., Bruce, C.J. y Goldman-Rakic, P.S. (1989) Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol.* 61 (2): 331-349.
- Fuster, J.M. (1999) *Memory in the cerebral cortex. An empirical approach to neural networks in the human and primate*. The MIT Press. Inglaterra.
- Fuster, J.M. (2001) The prefrontal cortex-an update: time is of the essence. *Neuron.* 30 (2): 319-333.
- Gardiner, J.M. y Atema, J. (2010) The function of bilateral odor arrival time differences in olfactory orientation of sharks. *Curr Biol.* 20: 1187-1191.
- Glausier, J.R., Khan, Z.U. y Muly, C.E. (2008) Dopamine D1 and D5 receptors are localized to discrete populations of interneurons in primate prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 19 (8): 1820-1834.
- Golski, S., Olds, J.L., Mishkin, M., Olton, D.S. y Alkon, D. L. (1995) Protein kinase C in the hippocampus is altered by spatial but not cues discrimination: a component task analysis. *Brain Res.* 676: 53-62.
- Gresch, P.J., Barrett, R.J., Sanders-Bush, E. y Smith, R.L. (2007) 5-Hydroxytryptamine (serotonin)<sub>2A</sub> receptors in rat anterior cingulate cortex mediate the discriminative stimulus properties of d-lysergic acid

- diethylamide. *J Pharmacol Exp Ther.* 320 (2): 662-669.
- Harder, J.A., Baker, H.F. y Ridley, R.M. (1998) The role of the central cholinergic projections in cognition: implications of the effects of scopolamine on discrimination learning by monkeys. *Brain Res Bull.* 4 (3): 319-326.
- Hasselmo, M. (1999) Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cog Sci.* 3 (9): 351-359.
- Hasselmo, M. (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol.* 16: 710-715.
- Herremans, A.H.J., Hijzen, T.H., Olivier, B. y Slangen, J.L. (1995) Cholinergic drug effects on a delayed conditional discrimination task in the rat. *Behav Neurosci.* 109 (3): 426-235.
- Higgins, G.A., Silenies, L.B., Roßmann, A., Rizos, Z., Noble, K., Soko, A.D. y Fletcher, P.J. (2011) The 5-HT(2C) receptor agonist Lorcaserin reduces nicotine self-administration, discrimination, and reinstatement: relationship to feeding behavior and impulse control. *Neuropsychopharmacology.* (Sin publicar).
- Hill, H.E., Kornetsky, C.H., Flanary, H.G. y Wikler, A. (1952) Effects of anxiety and morphine on discrimination of intensities of painful stimuli. *J Clin Invest.* 31 (5): 473-480.
- Hodge, C.W. y Cox, A.A. (1998) The discriminative stimulus effects of ethanol are mediated by NMDA and GABA<sub>A</sub> receptors in specific limbic brain regions. *Psychopharmacology.* 139: 95-107.
- Hoff, E.I., van Oostenbrugge, R.J., Otte, W.M., van der Marel, K., Steinbusch, H.W.M. y Dijkhuizen, R.M. (2010) Pharmacological magnetic resonance imaging of muscarínico acetylcholine receptor activation in rat brain. *Neuropharmacology.* 58: 1252-1257.
- Hudzik, T.J., Yanek, M., Porrey, T., Evenden, J., Paronis, C., Mastrangelo, M., Ryan, C., Ross, S., Stenfors, C. (2003) Behavioral pharmacology of AR-A000002, a novel, selective 5-hydroxytryptamine(1B) antagonist. *J Pharmacol Exp Ther.* 304 (3): 1072-1084.
- Janowsky, D., Risch, S.C., Kennedy, B., Ziegler, M. y Huey, L. (1986) Central muscarinic effects of physostigmine on mood, cardiovascular function, pituitary and adrenal neuroendocrine release. *Psychopharmacology.* 89

- (2): 150-154.
- Järbe, T.U.C. y Henriksson, B.G. (1974) Discriminative response control produced with hashish, tetrahydrocannabinols ( $\Delta^8$ -THC and  $\Delta^9$ -THC), and other drugs. *Psychopharmacologia*. 40 (1): 1-16.
- Järbe, T.U.C. y Swedberg, M.D.B. (1998) Discriminative stimulus functions of CNS sedative drugs assessed by drug versus drug discrimination procedures in gerbils. *Psychopharmacology*. 135: 201-212.
- Johanson, C.-E., Kilbery, M., Gatchalian, K. y Tancer, M. (2006) Discriminative stimulus effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans trained to discriminate among d-amphetamine, meta-cholophenylpiperazine and placebo. *Drug Alcohol Depend*. 81: 27-36.
- Jung, M., Costa, L., Sherman, G.T. y Kelly, P.H. (1987a) Discriminative stimulus properties of muscarinic agonist. *Psychopharmacology (Berl)*. 93 (2): 139-145.
- Jung, M., Perio, A., Terranova, J.-P., Worms, P. y Biziere, K. (1987b) Effects of intracerebroventricular pirenzepine on muscarinic discrimination in rats. *Eur J Pharmacol*. 139: 111-116.
- Jung, M., Peiro, A., Worms, P. y Biziere, K. (1988) Characterization of the scopolamine stimulus in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 95(2):195-199.
- Kandel, E., Schwartz, J. y Jessell, T. (1991) *Principles of neural Science*. Tercera edición. Elsevier Science Publishing Co. Inc.: USA.
- Kelley, B.M. y Porter, J.H. (1997) The role of muscarinic cholinergic receptors in the discriminative stimulus properties of clozapine in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 57 (4): 707-719.
- Kirkby, D.L., Jones, D.N. C. y Higgins, G.A. (1995) Influence of prefeeding and scopolamine upon performance in a delayed matching-to-position task. *Behav Brain Res*. 67: 221-227.
- Klinkenberg, I. y Blokland, A. (2010) The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 34: 1307-1350.
- Kolb, B. y Whishaw, I.Q. (2006) *Neuropsicología humana*. 5ta. Ed. Editorial Médica Panamericana: España.
- Koenigs, M. y Grafman, J. (2009) The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behav*

- Brain Res. 201: 239-243.
- Kringelbach, M.L. y Rolls, E.T. (2004) The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: evidence from neuroimaging and neuropsychology. *Prog Neurobiol.* 72 (5): 341-372.
- Kudoh, M., Seki, K. y Shibuki, K., (2004) Sound sequence discrimination learning is dependent on cholinergic inputs o the rat auditory cortex. *Neurosci Res.* 50: 113-123.
- Lee, K.Y., Sung, S.H., Kim, S.H., Jang, Y.P., Oh, T.H. y Kim, Y.C. (2009) Cognitive-enhancing activity of loganin isolated from *Cornus officinalis* in scopolamine-induced amnesic mice. *Arch Pharm Res.* 32 (5): 677-683.
- Lile, J.A., Kelly, T.H. y Hays, L.R. (2010) Substitution profile of the cannabinoid agonist nabilone in human subjects discriminating 9-tetrahydrocannabinol. *Clin Neuropharmacol.* 33 (5): 235-242.
- Lüllmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. y Bieger, D. (2000) Color atlas of pharmacology. Segunda edición. Thieme: New York.
- Marx, M.H. (1976) Procesos del aprendizaje. Trillas: México.
- McMillan, D.E., Li, M. y Hardwick, W.C. (2001) Schedule control of quantal and graded dose-effect curves in a drug-drug-saline discrimination. *Pharmacol Biochem Behav.* 68: 395-402.
- Meeter, M., Murre, J.M.J. y Talamini, L.M. (2004) Mode shifting between storage and recall based on novelty detection in oscillating hippocampal circuits. *Hippocampus.* 14: 722-741.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. y Levey, A.I. (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience.* 10 (4): 1185-1201.
- Messer, W.S.Jr., Bohnett, M. y Stibbe, J. (1990) Evidence for a preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neurosci Lett.* 116: 184-189.
- Messer, W.S.Jr., Thomas, G.J. y Hoss, W. (1987) Selectivity of pirenzepine in the central nervous system. II. Differential effects of pirenzepine and scopolamine on performance of a representational memory task. *Brain Res.* 407 (1): 37-45.
- Mishima, K., Iwasaki, K., Tsukikawa, H., Matsumoto, Y., Egashira, N., Abe, K., Egawa, T. y Fujiwara, M. (2001) The scopolamine-induced impairment of

- spatial cognition parallels the acetylcholine release in the ventral hippocampus in rats. *Jpn J Pharmacol.* 84: 163-173.
- Mok, L.W., Thomas, K.M., Lungu, O.V. y Overmier, J.B. (2009) Neural correlates of cue-unique outcome expectations under differential outcomes training; an fMRI study. *Brain Res.* 1265: 111-127.
- Molchan, S.E., Martinez, R.A., Hill, J.L., Weingartner, H.J., Thompson, K., Vitiello, B. y Sunderland, T. (1992) Increased cognitive sensitivity to scopolamine with age and a perspective en the scopolamine model. *Brain Res Rev.* 17: 215-226.
- Olivier, B., Broersen, L.M. y Slangen, J.L. (2002) 5-HT<sub>3</sub> receptor ligands lack discriminative stimulus properties. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 26: 463-471.
- Olds, J.L., Golski, S., McPhie, D.L., Olton, D., Mishkin, M. y Alkon, D.L. (1990) Discrimination learning alters the distribution of protein kinase C in the hippocampus of rats. *J Neurosci.* 10 (11): 3707-3713.
- Olton, D.S. y Papas, B.C. (1979) Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*, 17: 669-682; en Carlson, N. 2006. *Fisiología de la Conducta*. Octava edición. Pearson, Addison Wesley, España.
- Ono, T., Nishino, H., Fukuda, M., Sasaki, K. y Nihijo, H. (1984) Single neuron activity in dorsolateral prefrontal cortex of monkey during operant behavior sustained by food reward. *Brain Res.* 311: 323-332.
- Overton, D.A. (1971) Discriminative control of behavior by drug states. En T. Thompson y R. Pickens (Eds.), *Stimulus properties of drugs*. Appleton-Century-Crofts. USA.
- Overton, D.A. (1977) Discriminable effects of antimuscarinics: dose response and substitution test studies. *Pharmacol Biochem Behav.* 6: 659-666.
- Overton, D.A, Rosecrans, J.A. y Barry, H. III. (1999) Creation and first 20 years of the Society for the stimulus properties of drugs (SSPD). *Pharmacol Biochem Behav.* 64 (2): 347-352.
- Packard, M.G., Regenold, W., Quirion, R. y White, N.M. (1990) Post-training injection of the acetylcholine M2 receptor antagonist AF-DX 116 improves memory. *Brain Res.* 524: 72-76.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1998) *The Rat Brain in estereotaxic coordinates*, Fourth Edition. Academic Press, Inc., USA.

- Peele, D.B. y Baron, S.P. (1988) Effects of scopolamine on repeated acquisition of radial-arm maze performance by rats. *J Exp Anal Behav.* 49 (2): 275-290.
- Porter, B.A., Rosenthal, T.R., Ranasinghe, K.G. y Kilgard, M.P. (2010) Discrimination of brief speech sounds is impaired in rats with auditory cortex lesion. *Behav Brain Res.* 219: 68-74.
- Rains, G.D. (2006) *Principios de Neuropsicología Humana.* Mc Graw Hill, México.
- Rosenzweig, M. y Leiman, A. (1992) *Psicología fisiológica, segunda edición.* McGraw-Hill, Inc. España.
- Sala, M., Braida, D., Calcaterra, P., Leone, M.P., Comotti, F.A., Pianola, S. y Gori, E. (1991) Effect of centrally administered atropine and pirenzepine on radial arm maze performance in the rat. *Eur J Pharmacol.* 194: 45-49.
- Schechter, M.D. (1990) Comparison of anorectic drugs in rats trained to discrimination between satiation and deprivation. *Life Sci.* 47 (1): 17-24.
- Schuster, C.R. y Blaster, R.L. (1977) The discriminative stimulus properties of drugs. En T. L. Thompson (Ed.), *Advance in behavioral pharmacology.* New York: Academic.
- Scoville, W. y Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral Hippocampal lesión. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 20: 11-21.
- Shurtleff, D., Raslear, T.G., Genovese, R.F. y Simmons, L. (1992) Perceptual bisection in rats: the effects pf physostigmine, scopolamine and pirenzepine. *Physiol Behav.* 51: 381-390.
- Snoddy, A.M, y Tessel, R.E. (1983) Nisoxetine and amphetamine share discriminative stimulus properties in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 19 (2): 205-210.
- Solinas, M., Ferré, S., Antoniou, K. Quarta, D., Justinova, Z., Hockemeyer, J., Pappas, L.A., Segal, P.N., Wertheim, C., Müller, C.E. y Goldberg, S. R. (2005) Involvement of adenosine A1 receptors in the discriminative-stimulus effects of caffeine in rats. *Psychopharmacology.* 179 (3): 576-586.
- Squire, L.R. (1987) *Memory and Brain.* Oxford University: New York.
- Squire, L.R. y Zola, S.M. (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci.* 93: 13515-13522.

- Squire, L.R. y Kandel, E.R. (2000) *Memory: From mind to Molecules*. Scientific American Library: USA.
- Tang, A. H. y Franklin, S.R. (1988) Discriminative stimulus properties of physostigmine in rats. *Eur J Pharmacol*. 153: 97-104.
- Teng, E., Stefanacci, L., Squire, L.R. y Zola, S.M. (2000) Contrasting effects on discrimination learning after hippocampal lesions and conjoint hippocampal-caudate lesions in monkeys. *J Neurosci*. 20 (10): 3853-3863.
- Thomsen, M., Conn, P.J., Lindsley, C., Wess, J., Boon, J.Y., Fulton, B.S., Fink-Jensen, A. y Caine, S.B. (2010) Attenuation of cocaine's reinforcing and discriminative stimulus effects via muscarinic M1 acetylcholine receptor stimulation. *J Pharmacol Exp Ther*. 332 (3): 959-969.
- Thompson, R.F. (1975) *Fundamentos de psicología fisiológica*. Trillas. México.
- von Bohlen und Halbach, O. y Dermietzel, R. (2006) *Neurotransmitters and Neuromodulators. Handbook of receptors and biological effects*. Segunda edición. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Alemania.
- Waterston, M.L. y Pack, C.C. (2010) Improved discrimination of visual stimuli following repetitive transcranial magnetic stimulation. *PLoS One*. 5 (4): e10354.
- Weissman, A. (1976) The discriminability of aspirin in arthritic and nonarthritic rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 5: 583-586.
- Wess, J., Eglen, R.M. y Gautam, D. (2007). Muscarinic acetylcholine receptors: mutant mice provide new insights for drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 6: 721-733.
- Wiley, J.L. y Martin, B.R. (1999) Effects of SR141716A on diazepam substitution for delta9-tetrahydrocannabinol in rat drug discrimination. *Pharmacol Biochem Behav*. 64(3): 519-522.
- Winters, B.D., Saksida, L.M. y Bussey, T.J. (2008) Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci Biobehav Rev*. 32: 1055-1070.
- Witkin, J.M., Carter, R.B. y Dykstra, L.A. (1980) Discriminative stimulus properties of d-amphetamine-pentobarbital combinations. *Psychopharmacology*. 68: 269-276.
- Woolf, N.J. (1991) *Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord*.

Prog Neurobiol. 37: 475-524.

- Wooters, T.E., Neugebauer, N.M., Rush, C.R. y Bardo, M.T. (2008) Methylphenidate enhances the abuse-related behavioral effects of nicotine in rats: intravenous self-administration, drug discrimination, and locomotor cross-sensitization. *Neuropsychopharmacology*. 33 (5): 1137-1148.
- Young, R. (2009) Drug discrimination. En J. J. Buccafusco (Ed.), *Methods of behavior analysis in neuroscience*. Segunda edición: USA.
- Zald, D.H. (2007) Orbitofrontal versus dorsolateral prefrontal cortex: anatomical insights into content versus process differentiation models of the prefrontal cortex. *Ann N Y Acad Sci*. 1121: 395-406.