



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

11281

2ej
3

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado

SISTEMA NIGRO - ESTRIADO Y APRENDIZAJE.
INTERACCIONES
GABA - DOPAMINA - ACETILCOLINA

TESIS

Que para optar por el Grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOMEDICAS

(Area de Fisiología)

PRESENTA:

Miguel Angel León Díaz del Guante

Director de Tesis: **Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1989



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 está 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.

INDICE

| | Pág. |
|--|------|
| ABSTRACT | 1 |
| RESUMEN | 3 |
| INTRODUCCION | 5 |
| CAPITULO I | |
| DEFINICION DE APRENDIZAJE | 10 |
| <i>La escuela evolutiva. Jean Piaget</i> | 15 |
| CAPITULO II | |
| TEORIAS NEUROBIOLOGICAS DE LA MEMORIA | 20 |
| Anatómicas | |
| <i>Mishkin</i> | 20 |
| <i>O'keefe y Nadel</i> | 21 |
| <i>Olton</i> | 22 |
| <i>Kesner</i> | 24 |
| Fisiológicas | |
| <i>Hebb</i> | 31 |
| <i>Thompson</i> | 32 |
| <i>Hiller</i> | 34 |
| Bioquímicas | |
| <i>Kandel</i> | 43 |
| <i>Lynch y Baudry</i> | 47 |

CAPITULO III

| | |
|---|-----------|
| PARTICIPACION DEL SISTEMA NIGRO-ESTRIATAL EN PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA | 51 |
|---|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>La respuesta condicionada como variable independiente y el evento neuroquímico como variable dependiente</i> | 52 |
|---|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>El evento neuroquímico como variable independiente y la respuesta condicionada como variable dependiente</i> | 54 |
|---|-----------|

CAPITULO IV

| | |
|----------------------------|-----------|
| EXPERIMENTO I | 66 |
|----------------------------|-----------|

| | |
|-----------------------|-----------|
| OBJETIVO | 74 |
|-----------------------|-----------|

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| HIPOTESIS DE TRABAJO | 75 |
|-----------------------------------|-----------|

| | |
|--------------------------------|-----------|
| MATERIAL Y METODO | 75 |
|--------------------------------|-----------|

| | |
|----------------------|-----------|
| <i>Sujetos</i> | 75 |
|----------------------|-----------|

| | |
|----------------------|-----------|
| <i>Cirugía</i> | 75 |
|----------------------|-----------|

| | |
|--|-----------|
| <i>Cánulas de implantación y microinyector</i> | 77 |
|--|-----------|

| | |
|----------------------------|-----------|
| <i>Procedimiento</i> | 78 |
|----------------------------|-----------|

| | |
|-------------------------|-----------|
| <i>Histología</i> | 81 |
|-------------------------|-----------|

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| <i>Análisis estadístico</i> | 81 |
|-----------------------------------|-----------|

| | |
|-------------------------|-----------|
| RESULTADOS | 82 |
|-------------------------|-----------|

| | |
|-------------------------|-----------|
| <i>Histología</i> | 82 |
|-------------------------|-----------|

| | |
|------------------------------|-----------|
| <i>Apretones en Ed</i> | 82 |
|------------------------------|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>Apretones en Δ</i> | 85 |
|---|-----------|

| | |
|------------------------|------------|
| DISCUSION | 103 |
|------------------------|------------|

CAPITULO V

EXPERIMENTO II 109

OBJETIVO 113

HIPOTESIS DE TRABAJO 114

MATERIAL Y METODOS 114

Sujetos 114

Cirugía 115

Aparatos 116

Procedimiento de condicionamiento 116

Microinyección 117

Grupos 118

Registro electrográfico 120

Estadística 121

Histología 123

RESULTADOS 123

Histología 123

Registros electrográficos 125

Sesión de adquisición 130

Primera sesión de retención 130

Segunda sesión de retención 134

DISCUSION 138

CAPITULO VI

DISCUSION GENERAL 143

BIBLIOGRAFIA 150

ABSTRACT

To test that the cholinergic activity of the caudate nucleus is crucial for the acquisition of positively motivated behaviors, the hypothesis must be proved with different procedures of auto-shaping and affecting the synthesis of acetylcholine. In the first study an auto-shaping procedure was used. This procedure is similar to the one used by Bermúdez-Rattoni et al. (1986), but in our study a greater difficulty to press the lever was required: the dipper and the lever were at the opposite ends of one of the walls of the Skinner box and the force required to press the lever was greater. In the study of Bermúdez-Rattoni et al., the dipper and the lever were closer to each other and the force to press the lever was minimal.

In our study, rats injected with physiological saline in the caudate nucleus (NC) or in the parietal cortex showed that, by using of this auto-shaping procedure they developed a low acquisition rate of lever pressing, but in a group of rats that received an injection of choline in the anterior caudate nucleus immediately after an unique session of dipper-training showed that the acquisition of the instrumental task during the sessions of auto-shaping was faster.

Because the NC and the substantia nigra are connected

anatomically and functionally we proposed, in a second study, that in the regulation of the memory processes both structures are involved.

Independent groups of rats were studied. These groups received unilateral injections of atropine (30,40, or 60 ug) and saline in the NC and ipsilateral substantia nigra, respectively; there were also groups injected simultaneously and ipsilaterally with saline and saline, picrotoxine and saline, and saline and atropine in the substantia nigra and the NC, respectively. The microinjections were performed ten minutes before the training of a passive avoidance task, and the retention of the task was measured 24 and 48 hours after training.

The treatment of atropine in the NC and saline in the substantia nigra produced an amnesic state which was dose-dependent; the application of picrotoxine (0.25 ug) and saline did not induce changes in the memory. The animals treated with the combination of picrotoxine with the amnesic doses of atropine (40 or 60 ug) showed a normal retention of the passive avoidance task.

These results suggest that the cholinergic-GABAergic striatonigral and the dopaminergic nigrostriatal systems interact modulating each other during the process of consolidation of memory.

RESUMEN

Para probar la hipótesis de que la actividad del núcleo caudado es crucial para la adquisición de conductas motivadas positivamente, es necesario usar diferentes procedimientos de automoldeamiento y afectar las distintas vías de la maquinaria enzimática necesaria para la síntesis de acetilcolina.

En un primer estudio se utilizó un procedimiento de automoldeamiento similar al empleado por Bermúdez-Rattoni y col. (1986), excepto que existió mayor dificultad para presionar la palanca: el bebedero y la palanca estaban en el extremo de una de las paredes de la cámara de Skinner y la fuerza requerida para presionarla fue mayor. En el estudio de Bermúdez-Rattoni y col. el bebedero y la palanca estaban a corta distancia y la fuerza para presionar esta última era mínima; en esta situación experimental animales íntegros y tratados con salina en el NC adquirieron fácilmente el apretón de palanca.

En nuestro estudio ratas íntegras y tratadas con salina fisiológica en el núcleo caudado (NC), y con salina, o colina en la corteza parietal exhibieron durante las sesiones de automoldeamiento un nivel bajo de apretones de palanca, pero el grupo que recibió una inyección de colina en la región anterior del núcleo caudado inmediatamente después de una sesión de entrenamiento al bebedero manifestó facilitación en la ejecución de la tarea instrumental durante las sesiones de automoldeamiento.

Debido a que la NC y la sustancia nigra están conectadas anatómicamente y funcionalmente, se propuso en un segundo estudio que ambas estructuras cerebrales estuvieran involucradas en la regulación de los procesos de la memoria.

Se estudiaron grupos independientes de ratas. Algunos grupos recibieron inyecciones de salina en la sustancia nigra reticulada(SNR) y atropina (30, 40 ó 60 ug) en el núcleo caudado(NC) ipsilateral; otros grupos fueron inyectados simultánea e ipsilateralmente con salina y salina, picrotoxina y salina, y picrotoxina y atropina en la SNR y en el NC respectivamente. Los tratamientos combinados se realizaron 10 minutos antes del entrenamiento en una tarea de evitación pasiva, y la retención de la tarea fue medida a las 24 y 48 horas posteriores al entrenamiento.

El tratamiento de atropina en el NC y salina en la sustancia nigra provocó un estado amnésico dependiente de la dosis; la aplicación de picrotoxina (0.25 ug) y salina no indujo cambios en la memoria. Los animales tratados con la combinación de picrotoxina y la dosis amnésica de atropina (40 ó 60 ug) mostró una retención normal en la tarea de evitación pasiva.

Estos resultados sugieren que el sistema colinérgico-GABAérgico estriado-nigral y el dopaminérgico nigro-estriatal interactúan modulándose reciprocamente durante los procesos de la consolidación de la memoria.

INTRODUCCION

Estamos todavía en los albores del estudio de la neurobiología del aprendizaje y la memoria; ello se debe a que aún no se aclara el misterio acerca de los circuitos cerebrales que intervienen en el establecimiento de la memoria derivada de la experiencia física, es decir, de la manifestación de respuestas instrumentales gobernadas por sus contingencias; mucho menos se tiene un panorama claro de los cambios neuroanatómicos y neuroquímicos que ocurren en el interior de esos circuitos. Por lo tanto, el interés de los presentes trabajos experimentales es ofrecer una descripción de las interacciones neuroquímicas que se activan por la expresión de un conocimiento basado en la experiencia física; para ello se eligió el automoldamiento del apretón de palanca y la evitación pasiva a un estímulo aversivo.

En el primer estudio se demostró que la presentación de una luz en el bebedero seguida de ingesta de agua fue insuficiente por sí sola para automoldear el apretón de palanca, cuando la luz fue cambiada del bebedero a la palanca; en cambio, cuando se realizó la estimulación colinérgica del núcleo caudado, mediante microinyecciones de colina, inmediatamente después de los apareamientos luz en el bebedero-agua, ésta produjo el automoldamiento durante las sesiones en las cuales se presentó únicamente la luz en la palanca.

Concluimos de este estudio que la activación de las neuronas colinérgicas intraestriatales y sus consecuentes interacciones neuroquímicas aumentan la capacidad del sistema nigroestriatal para detectar las relaciones predictivas entre estímulos.

En el segundo estudio se particulariza la interacción que se establece entre el GABA estriado nigral, la dopamina nigroestriatal y la acetilcolina del núcleo caudado durante el aprendizaje de una respuesta de evitación pasiva.

Se ha sugerido que inmediatamente después de una experiencia de aprendizaje de evitación pasiva se activan en armonía el sistema colinérgico y gabaérgico del estriado, pero este desencadenamiento paralelo ocurre en lugares extremos de esta estructura cerebral; se activan preferencialmente las neuronas colinérgicas de la región anterior y las neuronas gabaérgicas de la región posterior (Prado-Alcalá y col. 1980; Salado-Castillo y Prado-Alcalá, 1987). Mientras estos sistemas neuroquímicos se activan por esta experiencia de aprendizaje, otros sistemas neuroquímicos que tienen relación con el núcleo caudado deben inhibirse en armonía; ello podría ser el caso del sistema dopaminérgico (Kim y Routtenberg, 1976) y del sistema gabaérgico estriado-nigrales, como lo evidenció el segundo experimento.

En el contexto de las relaciones cerebro-conducta son estudiados a diferentes niveles los mecanismos asociados con la adquisición y almacenamiento de la información. Por ejemplo, algunas investigaciones subrayan la importancia de las modificaciones anatómicas que pueden mediar el aprendizaje, la plasticidad y la consolidación de la memoria. La investigación en esta línea indica que el aprendizaje en el cerebro del mamífero involucra la formación de nuevas conexiones entre neuronas (Blak y Greenough, 1986).

Otros investigadores como Lynch y Baudry (1984) exploran un fenómeno electrofisiológico denominado potenciación de largo plazo, el cual podría ser un modelo de la forma en que el sistema nervioso central almacena información permanente. Por otra parte, se han discutido las consecuencias, para el aprendizaje, de manipular procesos cerebrales mediante la estimulación eléctrica de varios núcleos cerebrales (Berman, 1986). De la misma manera, a través de fármacos que actúan sobre enzimas y receptores de neurotransmisores específicos, se puede bloquear o facilitar la actividad neuroquímica de alguna zona cerebral, y con esto se puede saber no sólo el tipo de actividad neuroquímica que se encuentra involucrada en el aprendizaje o en la memoria, sino cuales etapas de estos procesos se están afectando.

Indudablemente, las teorías más recientes para la comprensión de los procesos de la memoria desde un nivel

conductual y neurobiológico provienen de los estudios de lesión. Esta tesis parte del razonamiento de que ciertos sistemas neuroquímicos de la región nigroestriatal deben operarse en armonía durante ciertas experiencias de aprendizaje. De hecho, aborda algunos aspectos teóricos de la neurobiología del aprendizaje.

Recientemente han adquirido relevancia los estudios de aprendizaje conducidos en invertebrados. Muchos autores piensan que el esclarecimiento de las bases neuronales del aprendizaje surgirán del estudio de seres con sistemas neuronales simples. Estudios a nivel molecular apoyan este punto de vista (Kandel, 1985). Otros piensan que los invertebrados son tan simples, que no alcanzan a revelar el misterio de cómo los cerebros de mamíferos adquieren y guardan permanentemente la información. En este lado, también han habido sorprendentes progresos (Kapp y Pascoe, 1986).

En la investigación del aprendizaje se han utilizado tareas instrumentales, en las que el sujeto a través de sus acciones descubre y almacena propiedades de los estímulos y propiedades de sus mismas acciones. La memoria que el sujeto forma depende de la experiencia física, o sea aquella que se deriva de la manipulación de objetos, dicho de otro modo, de la manipulación de las contingencias.

En los programas de reforzamiento, en general, y en el

programa de automoldamiento y la tarea de evitación pasiva, en particular (utilizados en esta tesis) el sujeto llega a coordinar acciones con el apoyo de material concreto. Pero hay otro tipo de aprendizaje que ya no depende de la experiencia física; se trata de un tipo de aprendizaje que no requiere de usar los dedos de la mano para sumar o restar; se trata de un aprendizaje equivalente al que realiza un matemático o un programador de computadoras; ellos combinan sus operaciones con símbolos para representar una ecuación o un programa; ellos basan su aprendizaje en una experiencia lógica y no en una experiencia física. Se trata pues de un aprendizaje basado en la coordinación de acciones interiorizadas, las cuales pueden llegar a formar estructuras de conocimiento más abstractas. En este caso primero están las estructuras de conocimiento y luego las acciones efectivas (Piaget, 1964). Dicho en otros términos, primero ocurren las hipótesis que el sujeto elabora y luego ocurren las contingencias. Por desgracia esta es una línea de investigación que la neurociencia ha ignorado.

CAPITULO I

DEFINICION DE APRENDIZAJE

La mayoría de las especies animales están dotadas de un sistema nervioso y de un sistema endócrino que realizan tareas de detección, de análisis y de coordinación de informaciones; dichos sistemas al controlar, coordinar y enviar información a los otros sistemas vitales dan origen al otro elemento crucial de adaptación biológica: el comportamiento. A través de éste se logra más que un simple contacto con el ambiente, de hecho actúa sobre él; constituye un instrumento del sujeto para adquirir y modificar de manera continua el conocimiento de su medio; representa, el aprendizaje, una fuerza de cambio y una fuente importante de variabilidad para el fenotipo comportamental.

El canto del pinzón de corona blanca *Zonotrichia leucophrys* sugiere que los comportamientos aprendidos son transformados de manera relativamente permanente o durable. Este pájaro emite un canto muy característico durante la época de reproducción y lo utiliza para advertir a los adultos machos de no penetrar al territorio que ocupa, o para invitar a las hembras a aproximarse y aparearse con ellos. En algunas especies de pájaros el canto territorial y reproductor es un componente innato, que para desarrollarse requiere de un proceso de maduración, más que de un proceso de aprendizaje; pero para el

pinzón de corona blanca el aprendizaje es una de las condiciones necesarias para el desarrollo de su canto. En efecto, es incapaz de emitir cuando adulto un canto coherente, completo y adecuado, si en el curso del período neonatal no tiene la oportunidad de oír las vocalizaciones típicas de los adultos de su especie; de lo contrario, si él puede oír las en el curso de un período de 10 a 50 días después de su eclosión, dispondrá del canto, a los ocho o nueve meses más tarde, para alejar a los machos o atraer a las hembras (Marler, 1970).

Vemos pues que los comportamientos aprendidos son durables, permanentes, es decir, no se modifican mientras ellos sean apropiados a las condiciones del ambiente (asimilación).

Una propiedad más del aprendizaje se inscribe en el desarrollo histórico propio de cada individuo. Tinbergen y sus colaboradores han estudiado la orientación espacial de la avispa cazadora *Philantus triangulum* y demuestran experimentalmente que son hábiles en la utilización de ciertas señales para aprender a construir sus nidos. Uno de los experimentos consistió en disponer de pequeñas bellotas, alrededor del orificio del nido mientras la avispa estaba en el interior, y luego que abandonaron el nido retiraron dichos objetos. A su retorno, observaron los autores, como las avispas no construían el nido, si no se restablecían las señales iniciales (Tinbergen, 1971).

Todas las avispas emplearon el mismo género de señales topográficas: a causa de contactos anteriores y repetidos con el indicador preciso ellas construyen sus nidos; las avispas que no fueron sometidas a esta experiencia tomaron de referencia otros elementos topográficos.

Los dos casos antes descritos -modificaciones relativamente durables, que son el resultado de la experiencia pasada- describen comportamientos propios de un proceso de aprendizaje, pero no definen su naturaleza. La presencia de una modificación del comportamiento no constituye el criterio suficiente para inferir que un proceso de aprendizaje se ha instituido, ya que el aprendizaje puede ser modificado por otros procesos: atención, motivación, percepción, emoción, fatiga, estrés, enfermedad, etc. Es posible que, en el pasado, un aprendizaje ya se haya manifestado, y que no aparezca cada vez que están presentes los estímulos discriminativos apropiados. Esto no quiere decir necesariamente que el sujeto haya olvidado, puesto que pudo haber percibido erróneamente la situación, estar fatigado o no estar lo suficientemente motivado para hacerlo.

Partir sólo de la modificación de la conducta, para identificar la aparición de un proceso de aprendizaje o de memoria presenta otra dificultad. El ejemplo del canto del pinzón demuestra que el aprendizaje se traduce efectivamente en modificaciones del comportamiento, pero ellas no son siempre inmediatas: el pinzón forma la memoria de largo plazo del canto

en el periodo de los 10 a los 50 días después de la eclosión, pero lo utiliza de manera funcional a los ocho o nueve meses más tarde; significa esto que la memoria ha ocurrido mucho antes de que se refleje en acciones efectivas. Por consiguiente, una definición de aprendizaje debe tener cuidado en la distinción entre el proceso de aprendizaje y su manifestación en acciones concretas.

Francoise Doré(1983) opina que el aprendizaje es un sistema de tratamiento de información y de asimilaciones; asimismo, adopta el punto de vista de Piaget(1964), según el cual el aprendizaje supone ante todo la acción del sujeto; "conocer no consiste en copiar lo objetivo, lo real, sino reaccionar sobre el objeto de conocimiento para transformarlo, en apariencia o en realidad".

"EL aprendizaje es un proceso de adaptación, en donde a la par con el medio físico y social, y en interacción con la herencia contribuye al desarrollo ontogenético del fenotipo comportamental. Más claramente, el aprendizaje permite al sujeto, a partir de su experiencia pasada, asimilar la organización de su ambiente y las consecuencias de sus propias acciones y de ampliar la autoregulación de sus comportamientos en función de esta asimilación. Este proceso se manifiesta en modificaciones relativamente durables del comportamiento"(Doré, 1983).

Hasta aquí se ha bosquejado un punto de vista etológico. Echemos un vistazo a lo que sostienen los teóricos del aprendizaje asociativo. De entrada, están de acuerdo en definir el aprendizaje como cambios relativamente permanentes en el potencial de ejecución, que resultan de las relaciones de un estímulo con otro (condicionamiento clásico) o de la conducta del sujeto con el estímulo (condicionamiento operante).

En el primer caso, el aprendizaje consiste en la adquisición de respuestas ante un estímulo que originalmente era inefectivo. De acuerdo con Ivan Pavlov el aprendizaje no involucra la asociación de ideas, como la había definido Charles Sherrington, sino la asociación de estímulos. La esencia del condicionamiento clásico es el apareamiento de dos estímulos, un estímulo incondicionado y un estímulo condicionado. El estímulo condicionado se convierte finalmente en una señal anticipatoria para la ocurrencia del estímulo incondicionado, como si el sujeto se estuviera preparando para el estímulo incondicionado (Kupfermann, 1985).

En el segundo caso la interacción entre un organismo y su medio comprende siempre tres aspectos: a) la ocasión en la que ocurre la respuesta que va a ser adquirida, b) la respuesta en sí, y c) las consecuencias reforzantes. Las interrelaciones que se establecen entre estos tres eventos son las contingencias de reforzamiento (Skinner, 1969). La adquisición y mantenimiento de

respuestas (aprendizaje) son producidas por un conjunto de contingencias.

Aparte existe el aprendizaje no asociativo en el cual el sujeto es expuesto una o varias veces a un tipo particular de estímulo; tal procedimiento da oportunidad al organismo para que aprenda acerca de las propiedades de aquel estímulo; incluye a la habituación y a la sensibilización. En la habituación sobreviene un decremento de una respuesta refleja a un estímulo repetitivo, no dañino; en la sensibilización hay un incremento de la respuesta refleja a una variedad de estímulos por un periodo de tiempo, después de que fue aplicado un estímulo intenso o nocivo (Doré, 1983).

Los tres paradigmas previamente descritos han podido ser incorporados al área de la neurobiología del aprendizaje y la memoria; incluso se han elaborado modelos explicativos de la habituación y de la sensibilización, especialmente con una base bioquímica (Kandel, 1985). Ahora describiremos un punto de vista diferente del aprendizaje que no ha podido ser integrado a esta área de conocimiento.

La escuela evolutiva. Jean Piaget.

En 1964 Piaget dio varias conferencias en la Universidad de Cornell, y una de ellas, en la que trató sobre el desarrollo y aprendizaje responde al interés de este capítulo de definir el

concepto de aprendizaje desde el marco de la teoría evolucionista; para esta escuela los conceptos operación, equilibración, reversibilidad, asimilación y acomodación son ejes centrales de la adquisición de conocimiento, de información.

De acuerdo con la teoría evolutiva el conocimiento no es una copia de la realidad; "conocer un objeto, no requiere de sólo verlo y hacer una copia mental de él, conocer un objeto es actuar sobre él; conocer es modificar, transformar el objeto y entender cómo el objeto es construido". Así una operación es la clave del aprendizaje, "es una acción interiorizada que modifica el objeto de conocimiento ... también es reversible, esto es, puede tener lugar en ambas direcciones", por ejemplo multiplicar y dividir; es una especie de acción que da origen a las estructuras lógicas, al aprendizaje complejo.

Hay cuatro factores principales para explicar el paso de un grupo de estructuras a otro: la maduración, la experiencia, la transmisión social y la equilibración.

La maduración juega un rol crítico, pero es insuficiente por sí sola. El orden de sucesión de las seis etapas descritas por Piaget, para explicar el desarrollo, es constante, pero las edades promedio en las que estos estadios aparecen varían enormemente de una sociedad a otra; existen los mismos estadios de desarrollo y el mismo ordenamiento, pero según el medio social privativo puede haber un retraso en su aparición. Estas variaciones en la edad indican que la maduración no lo explica

todo.

La experiencia de objetos, de realidad física es un factor crucial en el desarrollo de estructuras cognoscitivas, pero una vez más este factor no lo explica todo. Piaget argumenta que algunos conceptos que aparecen al comienzo del estadio de operaciones concretas no son derivados de la experiencia. Para esto da el ejemplo de la conservación de la substancia en el caso de cambio de forma de una pelota de plastilina. Damos esta pelota de plastilina a un niño, quien cambia cuantas veces quiera su forma de pelota a la forma de salchicha y le preguntamos si hay la misma cantidad de substancia que había antes; también le preguntamos si tiene ahora el mismo peso, y en tercer lugar, si tiene el mismo volumen. El volumen es medido por el desplazamiento de agua cuando colocamos la pelota o la salchicha en un vaso de agua. Estos hallazgos nos muestran que antes que nada se da la conservación de la cantidad de substancia. Aproximadamente a los ocho años un niño dirá: "Hay la misma cantidad de plastilina". Sólo más tarde dirá que el volumen se conserva.

Veamos cual es el argumento de un niño menor de ocho años que no tiene la noción de conservación de substancia. El dirá: "antes era redonda, después se estiró la plastilina como ha sido estirada hay más" (Piaget, 1964). El niño atiende a una de las dimensiones, pero olvida la otra. A los nueve o diez años, el

niño adquiere la conservación del peso, pero antes de esa edad argumenta que "es más largo, y sin duda más pesado". Sólo hasta los doce años el niño adquiere la noción de conservación del volumen, antes de esa edad es materialmente imposible de adquirirse, aunque se le enseñe varias veces que la salchicha desplaza la misma cantidad de agua que la pelota.

El tercer factor es la transmisión social. Es importante, pero insuficiente por sí solo, porque el niño puede recibir información valiosa, vía educación dirigido por un adulto sólo si se encuentra en la etapa en la cual puede comprender esa información; es decir, debe poseer la estructura que lo capacite para recibir esa información. Esta es la razón por la cual no se puede enseñar fisiología del sistema nervioso a niños de seis años.

Llegamos al cuarto factor que es el más importante: el de equilibración. En el acto de conocimiento, el sujeto es activo, y cuando se enfrenta con algo desconocido, reacciona con la finalidad de compensar. Equilibrio definido como compensación lleva a la reversibilidad. La reversibilidad operacional es un modelo de un sistema equilibrado donde una transformación en una dirección es compensada por una transformación en la otra dirección. Este proceso de equilibración toma la forma de una sucesión de niveles de equilibración.

Piaget opina que el esquema estímulo-respuesta es

enteramente incapaz de explicar el aprendizaje. Cuando se parte de un esquema estímulo-respuesta se piensa por lo general que "primero que nada existe un estímulo y que la respuesta es producida por ese estímulo... estoy convencido que la respuesta estaba primero. Un estímulo es un estímulo solamente hasta el punto en que es significativo, y se convierte en significativo solamente hasta el grado en que una estructura permite su asimilación, una estructura que pueda integrar este estímulo, pero que al mismo tiempo produce respuesta... Propondría, sobre todo que entre el estímulo y la respuesta existe el organismo y sus estructuras. El estímulo es verdaderamente un estímulo sólo cuando es asimilado a una estructura. Consecuentemente, no es una exageración decir que la respuesta está ahí primero, o si ustedes quieren, al principio está la estructura... Una vez que existe una estructura, el estímulo dará paso a la respuesta".

CAPITULO II

TEORIAS NEUROBIOLÓGICAS DE LA MEMORIA

Pueden clasificarse tres clases de teorías neurobiológicas de la memoria: la teoría que habla de facilitación de la transmisión sináptica a causa de la ocurrencia de eventos electrosiológicos; la teoría de la disminución de la resistencia sináptica debido a las modificaciones anatómicas permanentes; y la teoría que refiere modificaciones bioquímicas en el interior de las células nerviosas, responsables para la transmisión sináptica de ciertos patrones de estímulo (Ardila, 1981, p.p 224-225). Estas tres clases de teorías caen en los rubros: fisiológico, anatómico y bioquímico.

Describiremos cada teoría ligada a uno o varios autores e intentaremos discutir su importancia a la luz de los nuevos descubrimientos.

Anatómicas

Mishkin

Mortimer Mishkin (1982) ha elaborado, a la fecha, el modelo neuronal de organización de la memoria más extenso. Estima que el cerebro organiza dos clases de memoria: la primera, la memoria de reconocimiento requiere de un nivel superior de organización; es sólo una forma de memoria representacional o asociativa. La segunda, la memoria de hábito está basada en las cadenas de asociación estímulo-respuesta. Ambos tipos de memoria son

independientes.

Basado en extenso trabajo empírico con monos, sostiene que la memoria de reconocimiento es almacenada y representada en áreas sensoriales de la corteza de orden superior e involucra la interacción activa con los circuitos limbicotalámicos. Específicamente, propone que para la memoria visual de reconocimiento, la información es procesada inicialmente en la corteza visual primaria, y entonces, en una forma secuencial, es transferida a la corteza visual secundaria, la corteza temporal posterior (CTP), y luego a la corteza temporal anterior (CTA). La CTA es para Mishkin el sitio neuronal para el almacenamiento de la información visual. Además de esto, hay una activación paralela de la amígdala y del hipocampo; ésta es entonces mantenida con una proyección amigdalina al tálamo medio dorsal y con una proyección hipocámpica a los núcleos talámicos anteriores. Finalmente, Mishkin supone que hay un sistema de retroalimentación desde las estructuras límbico-talámicas a la corteza temporal anterior. Mishkin ha proporcionado datos empíricos para el patrón de organización neuronal propuesto, con excepción de los circuitos de retroalimentación.

O'Keefe y Nadel

La teoría de John O'Keefe y Lynn Nadel (1978) se interesa tanto en el espacio como en el atributo crítico de memorias específicas; divide el atributo espacial en un sistema de localización, el cual codifica los sitios del ambiente en mapas

cognoscitivos, y un sistema "taxón" que codifica las respuestas motoras en términos de orientaciones específicas en un medio ambiente espacial. Opinan los autores que el hipocampo modula el sistema de localización y lo guarda en un mapa cognoscitivo; éste es usado para el reconocimiento del lugar, en la orientación y en la codificación del contexto.

Un experimento realizado por Morris (1983) apoya fuertemente la participación del hipocampo en la construcción de un mapa cognoscitivo. Ratas fueron entrenadas en un tubo circular grande lleno de agua, y opacado por la adición de leche. La tarea fue encontrar una plataforma oculta abajo de la superficie del agua nublada.

A pesar de que el lugar inicial fue variado de ensayo a ensayo los animales aprendieron esta tarea rápidamente y así parecieron usar el sistema de localización. Un animal con lesiones extensas en el hipocampo exhibió alteraciones en el aprendizaje de la tarea, indicado por las latencias largas para encontrar la plataforma oculta; cuando la plataforma fue visible los animales lesionados en esta estructura cerebral aprendieron rápidamente la tarea. Esta tarea requiere de la navegación señalada mas que la navegación al lugar.

Olton

En cada tarea de aprendizaje, considera Olton (1983), hay dos tipos de memoria que organizan la información crítica. El autor piensa que el contexto específico, personal y temporal de

una situación es codificada en la memoria de trabajo, que es equivalente a la memoria para eventos que ocurren en un ensayo específico de una tarea, inclinando la codificación mnémica hacia el procesamiento de datos de entrada.

En contraste, la información general, relativa a las reglas y procedimientos (conocimiento general de situaciones específicas) es codificada en la memoria de referencia. Esta se traduce en memoria para eventos que suceden en todos los ensayos de una tarea, inclinando la codificación mnémica hacia el procesamiento de expectativas basadas en la organización de la memoria abstracta. En cualquier nueva tarea para ser aprendida habría un énfasis en la memoria de trabajo, y después del aprendizaje, el énfasis cambiaría hacia la memoria de referencia, a menos de que la tarea requiriera del procesamiento de nueva información sobre cada ensayo. En este último caso se activarían conjuntamente la memoria de trabajo y la memoria de referencia.

Olton propone que el hipocampo y sus interconexiones median la memoria de trabajo, mientras que en la memoria de referencia está inmiscuida la neocorteza. Sus proposiciones se derivan de experimentos con ratas privadas de comida, colocadas al centro de un laberinto de ocho brazos; las terminales de cada brazo contienen reforzamiento alimenticio; a los animales se les permite elegir libremente cualquier brazo. Las ratas normales aprenden rápidamente a usar una estrategia óptima, que consiste en entrar a cada brazo una vez y a no elegir el brazo previamente

visitado.

Además de la memoria de referencia, la cual incluye el conocimiento de que la comida puede ser obtenida al final de cada brazo y que el laberinto tiene ocho brazos, esta tarea tiene un componente importante de memoria de trabajo, que implica el conocimiento de los brazos que fueron visitados con anterioridad.

Las lesiones bilaterales en el septum medial, en el fornix post-comisural, en la fimbria, en el hipocampo dorsal o la corteza entorrinal resultaron en deficiencias en la ejecución de la tarea, con bastantes repeticiones de entradas a brazos previamente visitados. Lesiones de otras regiones neuronales, tales como el núcleo caudado o el complejo amigdalino no produjeron deterioros en la tarea, lo cual apoya cierta especialización del hipocampo para la memoria de trabajo.

Kesner

Raymond Kesner (1980) propone que cualquier tipo de memoria está compuesto por un conjunto de atributos que son específicos y únicos para cada experiencia de aprendizaje; en la mayor parte de los experimentos con animales, dice, hay por lo menos cinco atributos que caracterizan a la información mnémica: espacio, tiempo, afecto, senso-percepción y respuesta.

El atributo espacial presupone la codificación y almacenamiento de estímulos que representa sitios o relaciones sujeto; es ejemplificado por la habilidad de codificar y recordar mapas y localizar estímulos en espacios externos.

El atributo temporal demanda la codificación y almacenamiento de estímulos o conjuntos de estímulos separados espacial o temporalmente, como parte de un episodio, marcando o afianzando su ocurrencia en el tiempo, es decir, separando un episodio específico del anterior.

El atributo de afecto incluye la codificación y almacenamiento de contingencias de reforzamiento que resultan de experiencias emocionales negativas.

El atributo senso-perceptual involucra la codificación y almacenamiento de una serie de estímulos sensoriales que son organizados en indicaciones como parte de una experiencia específica.

Un atributo de respuesta implica la codificación y almacenamiento de información basada en la retroalimentación de las respuestas que ocurren en situaciones específicas, como también en la selección de las respuestas apropiadas.

El cuadro de atributos acentúa el uso de medidas múltiples de memoria para cualquier tarea de aprendizaje, con el objeto de evaluar la participación de un atributo o la interacción entre atributos y gradúa la dificultad de una tarea a lo largo de una dimensión. Así, se puede variar el atributo temporal incrementando el intervalo entre el entrenamiento y la prueba; al atributo espacial, elevando el número de localizaciones para ser recordadas; y el atributo de afecto, variando la magnitud del reforzamiento (fig. 2.1).

La amígdala, precisa Kesner, participa críticamente en la codificación de los atributos temporales y emocionales. El

MEMORIA BASADA EN LOS DATOS

(memoria declarativa, Squire y Cohen)
(memoria de reconocimiento, Mishkin)
(memoria taxón, O Keefe y Nadel)
(memoria de trabajo, Olton)
(memoria episódica, Tulvin)

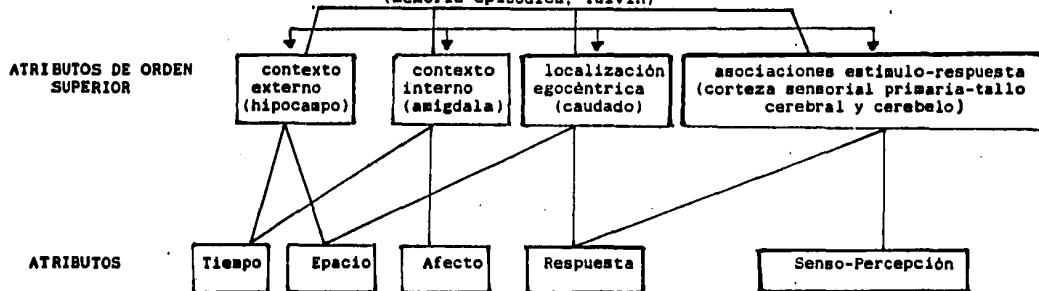


FIGURA 2.1 Organización psicológica y neural de la memoria basada en los datos. Keener(1986)

apoyo de esta idea proviene de la observación de que la estimulación eléctrica, la estimulación química o las lesiones de la amígdala antes o después del entrenamiento producen perturbaciones en la memoria en una variedad de tareas, en la cual fueron usadas contingencias de reforzamiento de elevada magnitud. Algunas de las tareas usadas incluyen la evitación pasiva y activa, la discriminación visual motivada por choque eléctrico y la de aversión al sabor (Baker, Kesner y Michael, 1981; Kesner y Andrus, 1982; McDonough y Kesner, 1971).

Kesner trata de integrar las posiciones neurobiológicas contemporáneas en un cuadro teórico (fig. 2.1). En su modelo plantea que cualquier memoria está organizada en un sistema de memoria basada en los datos y en un sistema de memoria basada en la expectativa.

Las memorias apoyadas en los datos constituyen un sistema inclinado hacia la codificación de los datos de entrada relativos al presente, con un énfasis sobre los hechos, datos y eventos que igualmente son personales o egocéntricos, y ocurren en contextos ambientales específicos externos e internos. Durante el aprendizaje inicial hay un énfasis mayor en el sistema de memoria basado en los datos, el cual continuará siendo importante aún después del aprendizaje inicial, donde la información novedosa o de ensayo único necesita ser recordada. El sistema de memoria basado en los datos es el equivalente a la memoria de trabajo de Olton, la memoria de reconocimiento de Mishkin, la memoria declarativa de Squire y Cohen, y la memoria taxón de O'Keefe y

Nadel.

Las memorias del sistema apoyado en los datos están organizadas en un conjunto de atributos: espacio, afecto, tiempo, senso-percepción y respuesta. De las muchas interacciones que ocurren entre los atributos, unas cuantas son de importancia crucial. Ellas son denominadas: la de contexto externo, que representa la interacción entre los atributos de espacio y tiempo; la de contexto interno, que es la interacción entre los atributos de afecto y de tiempo; la de localización egocéntrica, que es la interacción entre los atributos de espacio y respuesta; y la de asociación estímulo-respuesta, que significa la interacción entre los atributos senso-perceptuales y de respuesta.

Las memorias apoyadas en la expectancia constituyen un sistema orientado en la información almacenada previamente y representan un conocimiento general del mundo; operan en forma abstracta en la ausencia de datos de entrada. El sistema de memoria basado en la expectativa tiende a ser de mayor relieve después de que una tarea ha sido aprendida, porque la situación es invariante y familiar.

Las memorias del sistema basado en la expectativa están organizadas como un conjunto de mapas cognitivos, sus interacciones son únicas para cada memoria. Los mapas cognitivos son de carácter espacial, temporal, de afecto, senso-perceptual y de respuesta. Están compuestos de un grupo correspondiente de atributos, como el espacio, el tiempo, el afecto, la senso-percepción y la respuesta, respectivamente. (Figura 2.2).

MEMORIA BASADA EN LA EXPECTATIVA

(memoria de referencia, Olton) (memoria de procedimiento, Squire y Cohen)
 (memoria de localización, O Keefe y Nadel) (memoria de hábito, Mishkin)
 (memoria semántica, Tulvín)

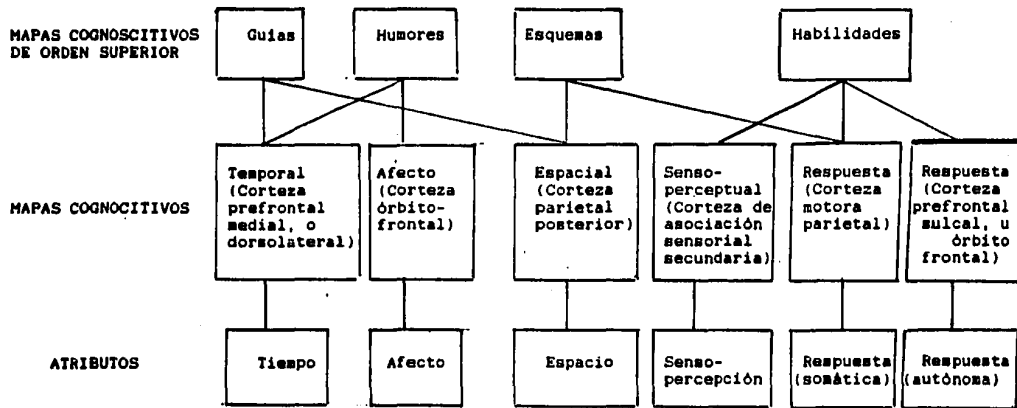


FIGURA 2.2 Organización psicológica y neural de la memoria basada en la expectativa. Kesner(1986).

De las múltiples interacciones que ocurren entre los mapas cognocitivos, unas cuantas son de importancia crítica: las guías, que representan la interacción entre los mapas cognocitivos temporales y espaciales; los esquemas, que significan la interacción entre los mapas cognocitivos espaciales y senso-perceptuales; los humores, son la interacción entre los mapas cognocitivos temporal y de afecto; y las habilidades, que representan la interacción entre los mapas cognocitivos senso-perceptual y de respuesta. Dentro del sistema basado en la expectativa, la combinación de humores, esquemas y guías es similar a la memoria de referencia de Olton, mientras que el de las habilidades es equivalente a la memoria de asociación de Lashley, la memoria de hábito de Mishkin y la memoria de procedimiento de Cohen.

El modelo presentado en la figura 2.1 ilustra al sistema de memoria basado en los datos. Se plantea que el hipocampo integra el contexto externo; la amígdala, el contexto interno; el núcleo caudado, la localización egocéntrica; la corteza sensorial primaria y el tallo cerebral-cerebelo integran la memoria de asociación Estimulo-Respuesta (E-R).

En cuanto al sistema de memoria basado en la expectativa se propone que la corteza parietal posterior modula el mapa cognocitivo espacial; la corteza dorsolateral o prefrontal medial, el mapa cognocitivo temporal; la corteza orbito-frontal, o sulcal-prefrontal, el mapa cognocitivo de afecto; la corteza de asociación secundaria, el mapa cognocitivo

senso-perceptuales, y la corteza parietal-motora, el mapa cognoscitivo de respuesta. (Figura 2.2).

La interacción entre la corteza dorsolateral o medial prefrontal y la corteza parietal posterior es el substrato neuronal para las guías; la corteza parietal posterior y la de asociación sensorial secundaria para los esquemas; la dorsolateral o medial y la órbita frontal o sulcal para los humores; y la corteza sensorial secundaria de asociación y la parietal-motora para las habilidades.

Fisiológicas

Hebb

Su teoría neuropsicológica del aprendizaje es considerada como una de las más completas en psicología; publicada en 1949, en el libro *The Organization of Behavior*, ha resistido el paso del tiempo; intenta llenar el vacío entre el estímulo y la respuesta.

Hebb habla de dos conceptos, el de montaje celular y el de secuencia de fase. El ensamble o montaje celular, dice: "es una asociación de células que resultan de la estimulación repetitiva, abarca a neuronas corticales y subcorticales, y se comporta el ensamble como un sistema cerrado". La estimulación repetitiva produce protuberancias sinápticas que constituyen la base neurológica del aprendizaje. La secuencia de fase es una serie de montajes celulares, es la base del pensamiento.

La estimulación de una célula en la corteza sensorial genera

un patrón de excitación en las áreas de asociación en una red compleja de neuronas, y más adelante, por simple azar, regresa la información a la célula que originó la excitación. El uso de una vía nerviosa, considera Hebb, lleva a una facilitación sináptica temporal a tal grado que cuando regresa a la neurona original el umbral de activación es mucho menor, es decir, disminuye la resistencia sináptica; así se establece el circuito reverberante o montaje celular. La activación del circuito reverberante conduce a cambios anatómicos adicionales, que son el fundamento de la memoria permanente.

El reconocimiento de objetos simples, como percibir una línea recta, depende de uno o varios ensambles celulares; el reconocimiento de patrones de estímulo complejo, como un triángulo, depende de secuencia de fase, que está formada por montajes celulares, que se activan secuencialmente.

Thompson

La teoría de Richard F. Thompson (1986) contiene elementos fisiológicos y anatómicos. Thompson supone que la mayoría de los sistemas neuronales conocidos podrían o no estar subordinados a las unidades psicológicas de memoria; por ejemplo, él menciona a la corteza cerebral, donde se encuentran sistemas generales, que incluyen a las áreas corticales inespecíficas, la de proyección sensorial, la motora, las proyecciones corticales de la formación reticular ascendente, las áreas corticales límbicas y el sistema núcleo dorso-medial talámico-corteza prefrontal. Thompson no

intenta especificar el papel mnémico de cada uno de estos circuitos neuronales; en lugar de ello él investiga las regiones neuronales que codifican las conexiones críticas estímulo-respuesta.

Para alcanzar este objetivo, ha seleccionado el condicionamiento clásico de la respuesta de la membrana palpebral, usando un tono, como el estímulo condicionado, y un chorro de aire en la cornea, como el estímulo incondicionado. En la condición de apareamiento entre el estímulo condicionado (EC) y el estímulo incondicionado (EI) la actividad celular del hipocampo se incrementa en el segundo ensayo de entrenamiento, lo que significa que ha ocurrido un apareamiento crítico EC-EI. Al continuar el entrenamiento la actividad unitaria del hipocampo forma un modelo temporal de la respuesta condicionada y la procesa en el tiempo. No ocurre aprendizaje, ni cambio en la actividad unitaria del hipocampo en animales que reciben presentaciones no apareados del EC y del EI.

Sin embargo, la eliminación del hipocampo, no altera la adquisición de la respuesta de la membrana palpebral; ello significa que a pesar de que el hipocampo codifica una unidad asociativa, otras regiones neuronales deben estar involucradas en el almacenamiento y la organización de las asociaciones críticas estímulo-respuesta. Tal sistema fue encontrado en los núcleos dentado e interpositus del cerebelo; las lesiones de esta área impidieron la adquisición y la retención de la respuesta de la membrana palpebral; los registros de estos núcleos revelaron

el desarrollo de actividad unitaria relacionada con el aprendizaje, y la estimulación eléctrica de los sitios críticos condujo a la producción de la respuesta de la membrana palpebral.

Thompson señala que las conexiones asociativas críticas E-R ocurren en los núcleos dentado e interpositus o en los núcleos aferentes a este sistema; esto significa que las memorias asociadas con el condicionamiento clásico de la respuesta condicionada de la membrana palpebral es almacenada en los núcleos dentado e interpositus, y que otros sistemas pueden contribuir a la formación de la memoria a través de sus interconexiones con estos núcleos.

Miller

Robert Miller (1981) en su libro *Meaning and Purpose in the Intact Brain* presenta la teoría psicofisiológica del aprendizaje más completa que se conoce a la fecha. Después de que él revisa las evidencias más importantes acerca de la localización cerebral de la memoria concluye que en una gran región de los hemisferios cerebrales, particularmente en las extensas áreas de la corteza de asociación y la del estriado, no se aplica el principio de localización puntual; la función mnémica de tales regiones se logra entender siempre que las extensas masas de materia gris sean consideradas como un todo integral; de ahí que la memoria debe representarse en estas regiones cerebrales como un patrón de distribución holográfica.

No obstante la amplitud de su obra, intentaremos abreviar los aspectos más relevantes de su teoría:

A. En la memoria cognoscitiva la adquisición y almacenamiento de información es derivada exclusivamente de los sistemas sensoriales, y está vinculada con la obtención de significado; éste, a su vez, es definido por "el agrupamiento de asociaciones estadísticamente significativas en el espacio y en el tiempo"; el condicionamiento de reflejos también se basa en el sistema sensorial.

B. Si dos o más porciones de información, ya configuradas en el cerebro corresponden a estímulos del ambiente, los cuales ocurren contiguamente, siempre existirán conexiones axonales para que esta asociación pueda representarse, y convertirse en una conexión funcional o huella de memoria. Con esta idea en mente se explica el aprendizaje de las gestalts sensoriales y el aprendizaje por condicionamiento pavloviano.

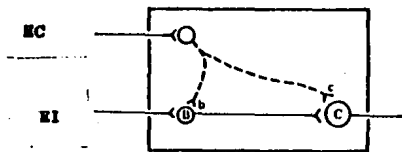


Figura 2.3. Ilustra el condicionamiento clásico. EC=estímulo condicionado; EI=estímulo incondicionado. Las líneas continuas indican sinapsis seguras y las líneas punteadas, sinapsis modificables.

En la figura 2.3 se muestra que el apareamiento del estímulo condicionado y del estímulo incondicionado resulta en la activación de las sinapsis b, o c en el instante en que las neuronas B y C son adecuadamente excitadas por una sinapsis segura, y de este modo transportan una señal significativa. La sinapsis b y c son fortalecidas y el estímulo condicionado es capaz, por sí mismo, de evocar la respuesta.

C. El autor idea un mecanismo para explicar la adquisición de las similitudes y diferencias entre dos gestalts relacionadas. Para ello escoge el siguiente ejemplo: un animal es entrenado a ejecutar una respuesta cuando se le presenta un estímulo sensorial (un triángulo grande) y luego se le presenta otro estímulo que tiene algunos rasgos en común con el primero (un triángulo pequeño). Explica que en algunas ocasiones las dos gestalts conducen a la misma respuesta (generalización), mientras que en otras, las propiedades de una gestalt determinan la respuesta (discriminación). Precisa que en ciertas neuronas hay un conjunto de circunstancias en la que la convergencia excitatoria excede, durante el periodo de consolidación, a la convergencia inhibitoria, fortaleciendo así a las sinapsis excitatorias; en otras circunstancias sucede lo inverso y las sinapsis inhibitorias son fortalecidas; igualmente hay situaciones neutrales donde no ocurren cambios. En toda gestalt la especificación cuantitativa de estas circunstancias varía para las diferentes neuronas del circuito, debido a que la

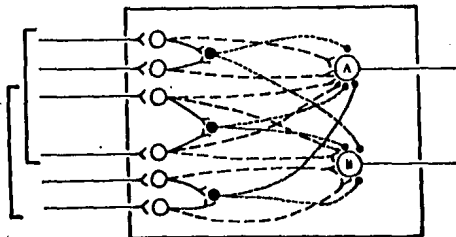


Figura 2.4. En esta y las subsecuentes figuras los símbolos usados tienen las siguientes representaciones: círculos y líneas indican interconexiones. Las líneas completas indican conexiones con sinapsis seguras no modificables. Las líneas punteadas señalan conexiones que existen estructuralmente pero que no tienen actividad fisiológica hasta que el mecanismo plástico ha hecho que sus terminaciones sinápticas sean funcionalmente seguras (conexiones modificables). y indican conexiones excitatorias e inhibitorias no modificables. y representan conexiones excitatorias e inhibitorias modificables, respectivamente. La aferencia omniconectada al rectángulo se encuentra en el lado izquierdo; la salida a la derecha.

La figura 2.4 ilustra el tipo de circuito en el que las similitudes y las diferencias pueden codificarse simultáneamente. Las influencias inhibitorias están distribuidas más ampliamente que las excitatorias. Si un estímulo sensorial activa las cuatro aferencias de arriba, la neurona A es activada por cuatro sinapsis excitatorias y por dos inhibitorias; la neurona B es activada por dos sinapsis excitatorias y por una inhibitoria. Una vez ocurrida la transferencia de funciones en las diferentes sinapsis el mecanismo plástico asegurará el fortalecimiento del grupo convergente de sinapsis excitatoria sobre la neurona A y el grupo convergente de sinapsis inhibitoria sobre la neurona B. Esto permite que la neurona A codifique las asociaciones contenidas del grupo de estímulos (en la parte superior hay cuatro aferencias), mientras que la neurona B codifica el fondo contrastante. Con una clase de estímulos ligeramente diferente la neurona B es incluida en el grupo de neuronas en la cual la convergencia excitatoria excede a la inhibitoria.

conectividad excitatoria e inhibitoria es azarosa entre las neuronas.

Algunas neuronas, recalca él, "son parte del centro excitatorio representando a la gestalt, otras forman parte de la "vecindad inhibitoria", mientras un tercer grupo de neuronas permanecen indiferentes". Para dos gestalts relacionadas, que son parcialmente similares y a la vez diferentes "hay ciertas neuronas en las cuales reside el centro excitatorio de ambas gestalts; en otras se encuentra la vecindad inhibitoria de ambas gestalts; y en otras, está el cerco inhibitorio de una gestalt y el centro excitatorio de la otra". De esta forma poblaciones diferentes de neuronas codifican propiedades comunes y rasgos distintivos. La figura 2.4 ilustra esta situación.

Las dos neuronas de salida que se observan en esta figura reciben por azar convergencias excitatorias e inhibitorias, las cuales son parcialmente las mismas y al mismo tiempo diferentes. La activación del mecanismo de plasticidad conduce a una codificación similar y algo discrepante de las gestalts. En este esquema se nota que con la conectividad azarosa las neuronas que configuran cualquier gestalt están espacialmente distribuidas, a tal grado que la huella de memoria no está altamente localizada en el circuito.

D. La capacidad de información de un circuito neuronal, manifiesta Miller, es excesivamente pequeña debido a que cada neurona puede codificar sólo una serie limitada de asociaciones; pero "si la sinapsis es la unidad fundamental de la codificación

La neurona A es parte del circuito de conexiones que se activa como parte de la representación de la gestalt sensorial "estoy en el compartimiento de seguridad" (donde hay piso de rejilla); la neurona B es parte de la representación de la gestalt motora "estoy en el compartimiento de choque" (en éste el piso y las paredes están recubiertos de lámina). Inicialmente no hay una relación funcional definitiva entre el disparo de la unidad A y aquel de la unidad B; aunque la unidad B produzca un estallido de impulsos simultáneamente al producido por la unidad A, la actividad de B es generada azarosamente y no se relaciona con A. Después de la activación de B, un estímulo doloroso es generado en la unidad C; y se requiere que contingente al disparo de la unidad C, las conexiones inhibitorias de A a B sean fortalecidas.

Adviértase que la excitación de la unidad C ocurre posteriormente al disparo de B y que la excitación de la unidad C debe ser capaz de influenciar cualquier multitud de sinapsis, que representan relaciones sensorio-motoras. Robert Miller propone la existencia de un analizador sensorial para evaluar el significado de un comportamiento; dicho analizador "controla dos clases de neuronas, como la C, de significado opuesto, una que fortalece sinapsis excitatorias y otra que fortalece sinapsis inhibitorias".

El autor considera que la neurona C es capaz de aumentar su campo de acción a todas las sinapsis de la estructura donde

ocurre el aprendizaje operante, suministrando de esta forma la señal fortalecida, que es capaz de acrecentar la seguridad de ciertas sinapsis, que como hemos dicho son de dos tipos: las que fortalecen conexiones sinápticas excitatorias y las que fortalecen conexiones sinápticas inhibitorias. Igualmente supone que los cambios plásticos implicados en el fortalecimiento de una sinapsis depende de dos relaciones coincidentes: a) En la figura 2.5 se aclara que en una situación sensorial particular la neurona B, por azar, dispara un estallido de actividad significativo, el cual es traducido en actos motores, que a su vez cambian la situación. Miller supone que el estallido significativo tiene una influencia a nivel neuronal, sobre todo en sus propias sinapsis, "que se activan al momento en que la unidad B realiza una selección preliminar de las sinapsis a ser fortalecidas"; y b) la señal fortalecida de las neuronas C realizan la selección final entre la sinapsis excitatorias e inhibitorias, y logran el cambio definitivo en las sinapsis apropiadas. Se puede considerar que la señal de retroalimentación, proveniente de la neurona B, especifica a nivel microscópico (depende de la activación contigua de los elementos pre y postsináptico para alcanzar un cambio en la seguridad sináptica), todas las sinapsis a ser fortalecidas; y la señal de retroalimentación, procedente de la neurona C, a nivel macroscópico inicia el fortalecimiento de las sinapsis relevantes. A este proceso se le llama reforzamiento, "un concepto que es usado cuando hay un efecto de la respuesta".

F. En la figura 2.6 se ilustran conexiones ramificadas para simbolizar la influencia diseminada de los dos sistemas de reforzamiento: el positivo y el negativo. Las dos señales de reforzamiento juegan un papel en la especificación del signo de sinapsis a ser fortalecidas. El fortalecimiento selectivo de sinapsis de uno u otro signo es alcanzada a través de neurotransmisores, que después de liberarse de las terminales nerviosas amplían su efecto mas allá de su sitio inmediato de liberación, influenciando a muchas sinapsis adyacentes. Este modo de acción del trasmisor es diametralmente opuesto a aquel modo de acción que ocurre en las vías sensoriales y motoras, y encaja en el concepto de omniconexión discutido anteriormente.

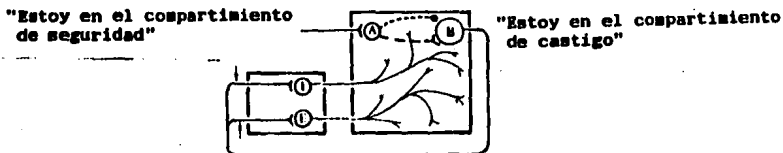


Figura 2.6. Diagrama de un mecanismo posible para el aprendizaje de una respuesta de evitación pasiva, que complementa el esquema anterior. Las unidades E e I amplían su influencia difusa en la estructura omniconectada (estriado) representada por el cuadro grande de la figura. La unidad E fortalece conexiones excitatorias (sistema de reforzamiento positivo) y la unidad I, conexiones inhibitorias (sistema de reforzamiento negativo). El cuadro pequeño, donde se localizan E e I opera como un analizador sensorial, evaluando la relevancia motivacional de las porciones de conducta.

Bioquímicas

Kandel

El trabajo de Kandel y colegas(1985) en la *Aplysia Californica* constituye el ejemplo más detallado de asociación de un cambio molecular con una clase de aprendizaje no asociativo: la sensibilización. A nivel celular la sensibilización en la *Aplysia* implica un aumento de la transmisión sináptica en las terminales de las neuronas sensoriales que, a su vez, controlan a las neuronas motoras e interneuronas; quiere decir que la sensibilización es originada por una facilitación presináptica, la cual es regulada por sinapsis axo-axónicas. El estímulo sensibilizante activa a un grupo de interneuronas facilitadoras, las cuales establecen contacto sináptico con las terminales presinápticas de las neuronas sensoriales y liberan el transmisor por medio de la facilitación presináptica.

Debido a que la aplicación experimental de serotonina mimetiza las acciones de las interneuronas facilitadoras y del estímulo sensibilizante, y porque las regiones terminales de las neuronas sensoriales reciben inervación serotoninérgica, se piensa que uno de los transmisores facilitadores es la serotonina.

Sobre la base de los estudios farmacológicos y bioquímicos Kandel postula la secuencia probable de pasos bioquímicos que ocurren como resultado de la sensibilización (figura 2.7). De acuerdo con este modelo, la serotonina, que es liberada de las interneuronas facilitadoras durante el reflejo de retirada de la

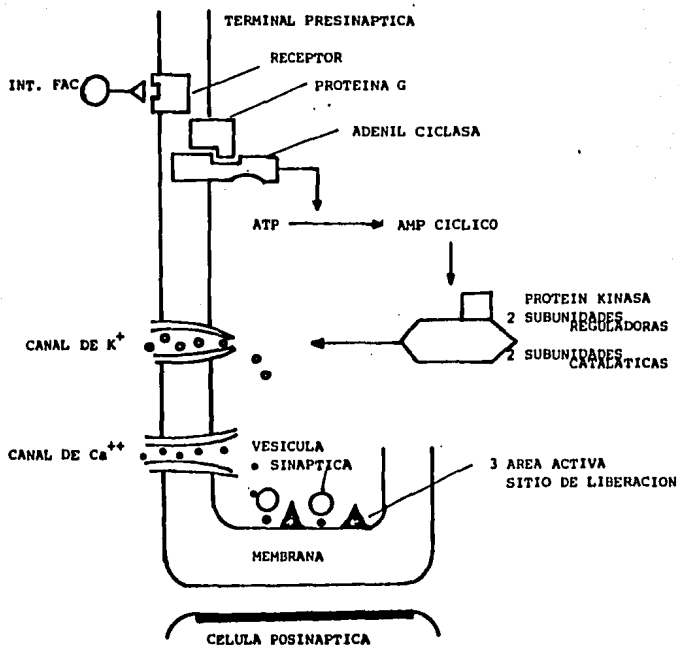


FIG. 2.7 Un modelo molecular de la facilitación presináptica que subyace a la sensibilización en la *Aplysia*. La serotonina actúa sobre un receptor de la terminal presináptica activando a la adenil ciclasa, e incrementa el contenido de AMPc; éste se une a la subunidad reguladora de una protein kinase y deja libre a la subunidad catalítica para fosforilar a una proteína del canal de K⁺. La fosforilación inactiva al canal y retarda la repolarización de la terminal presináptica después de la llegada de un potencial de acción; de hecho, la despolarización prolongada permite una mayor entrada de Ca⁺⁺, causando mayor liberación del neurotransmisor (tomado de Kandel, 1985).

agalla y del sifón, activa un receptor serotoninérgico en la membrana de la terminal presináptica de la neurona sensorial; este receptor ocupa una proteína acopladora (proteína G), la cual activa una adenil ciclasa. La estimulación de la adenil ciclasa eleva la concentración del AMPc en la terminal; entonces el AMPc activa una proteína kinasa: las proteínas kinasas añaden grupos fosfatos a las proteínas, cambiando así, su carga, y consecuentemente su forma. Este proceso, denominado fosforilación, puede conducir a un incremento o a un decremento en la actividad de una proteína.

En el caso de la sensibilización la proteína kinasa activada fosforaliza una nueva proteína canal de K^+ (canal de K^+ sensible a la serotonina) o una proteína que esté asociada con él. Este canal de K^+ , modulado por serotonina participa selectivamente en la sensibilización; la fosforilación de este canal o de proteínas asociadas reduce la corriente de K^+ , que normalmente repolariza el potencial de acción; la reducción de esta corriente prolonga el potencial de acción, y de este modo permite que los canales de calcio sean activados por periodos de tiempo prolongados.

En resumen, la secuencia hipotética queda así: las neuronas serotoninérgicas hacen sinapsis con terminales presinápticas, que son indispensables para la retirada de la agalla y del sifón. La serotonina liberada activa a la adenilciclasa la cual incrementa el contenido intraterminal del AMPc. Este, a su vez, activa una

protein kinasa que fosforila un componente de un canal particular de K+, inhibiendo la salida de K+ después de la despolarización de la terminal. Esto prolonga la entrada de la corriente de calcio, incrementando el calcio intracelular y por consiguiente, aumenta la cantidad del neurotransmisor liberado.

Basándose en estos datos, Kandel y Schwartz(1982) consideran que la elevación del AMPc es suficiente para explicar la memoria de sensibilización de corto plazo, debido a que el curso temporal de ambos efectos son paralelos. Ellos también especulan que la memoria de largo plazo puede ser iniciada por la misma adenil ciclasa, activada por serotonina, y a través de cambios en la expresión genética, resulta en cambios estructurales de la sinapsis. Algunos cambios morfológicos ya han sido caracterizados.

Indicios adicionales de que el aprendizaje puede implicar a las fosfoproteínas, provienen de estudios de moscas *Drosophila Melanogaster*. Moscas de esta especie pueden ser entrenadas en una tarea de discriminación de olores, en la cual el choque eléctrico es usado como el estímulo incondicionado. La memoria para esta tarea decae con el tiempo y su fuerza depende de la intensidad del entrenamiento. La memoria es extinguida al exponer a las moscas al olor previamente apareado en la ausencia de choque.

Se han obtenido mutantes de *Drosophila* que muestran anomalías en el aprendizaje; el mutante Dunce, no aprende la

tarea, no obstante de que responde a los olores y el choque: Dunce tiene una deficiencia específica en una isoenzima fosfodiesterásica del AMPc (Byers, Davis y Kiger, 1981). Esta deficiencia molecular puede explicar las alteraciones del aprendizaje, porque la administración de inhibidores de la fosfodiesterasa causan, en moscas normales, aprendizaje pobre.

El mutante Rutabaga tiene una deficiencia en la adenilciclasa. Este mutante muestra una caída rápida de la memoria después del entrenamiento en una tarea de discriminación olfativa (Dudai, 1983).

Lynch y Baudry

Existen estudios que indican incrementos en el número de sitios de unión durante el aprendizaje; de éstos ha surgido una hipótesis reciente. En base al trabajo de potenciación de largo plazo, Lynch y Baudry (1984) propusieron un modelo en el que encuentran incrementos en los receptores glutamatérgicos en estructuras telencefálicas, como base de este fenómeno. Según estos autores la potenciación de largo plazo se equipara a los procesos de aprendizaje.

Los autores propusieron que el incremento en los receptores glutamatérgicos, como resultado del aprendizaje, es causado por la activación de una proteasa dependiente del calcio, la calpaina; esta enzima que está asociada a la membrana rompe una

porción localizada de la red de fodrina produciendo cambios estructurales y químicos en la región de la membrana postsináptica, y posteriormente los receptores de glutamato previamente ocluidos quedan expuestos, incrementando de esta forma la magnitud de la respuesta postsináptica al neurotransmisor liberado. Estallidos subsecuentes de actividad producen en la espina dendrítica una entrada mayor de calcio y una activación mayor de la proteasa dependiente del calcio, la calpaina; dichos eventos producen alteraciones en la estructura de la espina dendrítica.

De esta forma, un sólo estallido de actividad de elevada frecuencia liberaría a una población limitada de receptores, pero estallidos posteriores actuando sobre la sinápsis potenciada produciría una mayor despolarización, y por consiguiente más entrada de calcio. La actividad sináptica repetitiva elevaría el número de receptores sinápticos y causaría mayor influjo de calcio, y finalmente cambios estructurales (figura 2.8).

De acuerdo con esta hipótesis se esperaría que drogas que inhiben a la calpaina activada por el influjo de calcio bloquearían aquellas formas de memoria que dependen exclusivamente de la regiones telencefálicas. Efectivamente, esto es lo que sucede. De los numerosos experimentos que Lynch y Baudry han realizado, seleccionaremos uno de los más importantes:

Minibombas osmóticas que contenían distintas concentraciones de de un inhibidor de la calpaina, la leupeptina, (4, 8 y 20 mg por ml de salina) fueron implantadas en ratas y conectadas a una

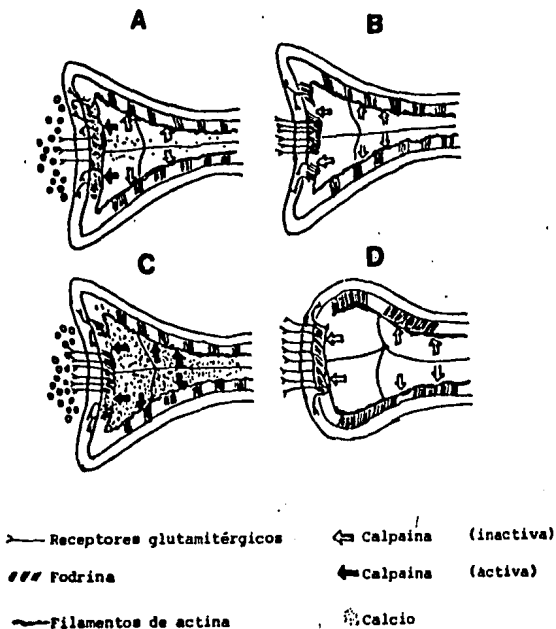


FIG. 2.8 Una hipótesis que establece como breves periodos de actividad de elevada frecuencia producen cambios permanentes de la eficacia sináptica. A) La liberación del neurotransmisor ocasiona un incremento de Ca^{++} en la zona subsináptica de una espina dendrítica; este incremento activa a la calpaina, la cual degrada a la fodrina, y deja libre a los receptores de glutamato ocluidos. B) El Ca^{++} es eliminado de la espina y de esta forma se inactiva la calpaina, pero persisten los cambios en los receptores de glutamato. C) Subsecuentes episodios de actividad de alta frecuencia producen una respuesta postsináptica de mayor magnitud y una entrada mucho mayor de calcio, debido al número mayor de receptores. El aumento de calcio estimula a la calpaina y conlleva a una degradación amplia de la red de fodrina, ocurriendo un cambio en la forma de la espina. D) Nuevamente, el Ca^{++} es eliminado de la espina, pero permanecen los cambios tanto estructurales como del receptor, producidos por la activación transitoria de la calpaina (Lynch y Baudry, 1984).

cánula dirigida al ventrículo lateral; estas bombas operaron continuamente durante dos semanas y produjeron en el fluido cerebro espinal concentraciones de leupeptina de 10 a 100 uM. Animales con minibombas implantadas que contenían aprotinina, un inhibidor potente de las proteasas séricas o salina fueron usados como controles para evaluar los efectos inespecíficos de la infusión intraventricular.

Las ratas fueron entrenadas en un laberinto radial previo a la implantación de las bombas. Los animales fueron mantenidos al 80% de su peso corporal. Fueron colocados al centro del laberinto y se les permitió recorrer libremente los brazos, donde al final de cada uno estaba oculto en un hueco una pieza de chocolate. Los animales adoptaron una estrategia económica de no reentrar a los brazos, esto es, evitaron los brazos del laberinto en los cuales ya habían obtenido el premio. En algunos ensayos las ratas fueron sacadas del centro del laberinto, entre la cuarta y la quinta elección, para ser colocadas en una caja separada por periodos superiores de cuatro horas y pasado este tiempo fueron devueltas al laberinto.

Los animales íntegros eligieron los cuatro brazos restantes que contenían la pieza de chocolate usando señales espaciales del área circunvecina del laberinto. Las concentraciones altas de leupeptina produjeron alteraciones en la memoria espacial; en cambio las infusiones de aprotinina no tuvieron efectos (Lynch y Baudry, 1984).

CAPITULO III
PARTICIPACION DEL SISTEMA NIGRO-ESTRIATAL EN
PROCESOS DE APRENDIZAJE Y MEMORIA

La investigación acerca de los correlatos neuroquímicos del aprendizaje y la memoria se ha polarizado en dos estrategias metodológicas. En una estrategia la variable independiente ha consistido en la manipulación de algunos parámetros del aprendizaje instrumental; por ejemplo, el tipo de reforzador empleado, y la variable dependiente consiste en la detección de cambios bioquímicos de algunas regiones del cerebro, las cuales se cree intervienen en el aprendizaje. En la otra estrategia el evento neuroquímico constituye la variable independiente, y los cambios en la ejecución y retención de tareas de aprendizaje, la variable dependiente: esta aproximación altera la neuroquímica, usualmente por fármacos, los cuales actúan sobre neurotransmisores específicos, y con esto se puede saber el tipo de actividad neuroquímica que se encuentra involucrada en la memoria o el aprendizaje y las etapas de estos procesos en las que está participando.

Referente a la primera aproximación metodológica, es decir, cuando una etapa del aprendizaje instrumental es experimentalmente alterada y se miden los efectos neuroquímicos, los estudios son realmente escasos; pese a esto, se intenta un esbozo de ellos. Discutiremos un caso de plasticidad y otro de variaciones electrofisiológicas generadas por las

operaciones del sujeto para conseguir aprendizaje, antes de entrar a las modificaciones neuroquímicas.

Ratas expuestas a un campo contextual diversificado, contrario a aquellas que son criadas en un campo contextual reducido, desarrollan una corteza cerebral densa, cuerpos celulares grandes, arborización dendrítica exuberante, mayor número de espinas dendríticas, sinapsis más alargadas (Black y Greenough, 1986). Desde una perspectiva del aprendizaje operante, dichos sujetos son superiores, respecto de aquellos que habitan en contextos pobres, para resolver los diversos problemas de aprendizaje que plantea el laberinto de Hebb-Williams, y además se caracterizan por una reducida actividad locomotora en la prueba de campo abierto (Tanabe, 1972).

En la presencia de un estímulo condicionado que predice la aparición de un estímulo incondicionado aversivo, se incrementa ostensiblemente la actividad unitaria del locus coeruleus (LC); sin embargo, las neuronas noradrenérgicas del LC son indiferentes a la presencia de un estímulo condicionado que predice la aparición de un estímulo incondicionado apetitivo (Rasmussen y Jacobs, 1986).

La respuesta condicionada como variable independiente y el evento neuroquímico como variable dependiente.

1. El enfrentamiento a una diversidad de estímulos genera en

los estudios sugieren que el metabolismo de la acetilcolina en el estriado cambia como resultado de las operaciones del sujeto para escapar de una situación aversiva (entrenamiento en prevención pasiva).

El evento neuroquímico como variable independiente y la respuesta condicionada como variable dependiente.

Respecto a esta aproximación los estudios son numerosos, sin embargo, sólo se mencionaran los más importantes.

Mediante la técnica de lesión química, Sandberg, Pisa y Fibiger (1978) estudiaron el efecto de la microinyección de ácido kainico en el núcleo caudado dorsal sobre el aprendizaje de una tarea de prevención pasiva, y de la de inhibición de una respuesta instrumental durante una fase de extinción. No obstante de que la actividad de la descarboxilasa del ácido glutámico únicamente se encontró disminuida en la región dorsal, la actividad de la acetilcolintransferasa fue la más afectada, pues la pérdida de interneuronas colinérgicas abarcó no sólo a la región dorsal, sino también a la región ventral del NC; más aún, el daño irreversible de los mecanismos colinérgicos del NC fue asociado con un aumento de la resistencia a la extinción y con un deterioro en la memoria de prevención pasiva.

El estudio de Sandberg y col. (1978) además de sugerir que las neuronas intrínsecas y eferentes del NC constituyen parte del

procesador central de memoria, venía una serie de dificultades que encerraban las técnicas de ablación y de lesión electrolytica, pues aunque éstas lograban producir diferentes grados de alteración sobre la conducta de evitación pasiva (Polgar, Sanberg y Kirby, 1981), dañaban invariablemente proyecciones aferentes y eferentes y fibras de paso del estriado. Por consiguiente era difícil relacionar estas deficiencias de la memoria con la patología estriatal, y por lo mismo algunos resultados reflejaban artefactos experimentales.

De ahí que las microinyecciones de ácido kainico aplicadas intracerebralmente constituyen un modelo útil para estudiar el funcionamiento neuronal del estriado, pues esa neurotoxina destruye selectivamente las neuronas estriatales intrínsecas y eferentes mientras que deja intactas las vías eferentes y de paso. Desafortunadamente, el ácido kainico afecta el pericarion neuronal sin importar el neurotransmisor. El estudio de Sandberg proporcionó información parcial del papel de algunos neurotransmisores específicos en los procesos de almacenamiento de información (GABA y acetilcolina).

Faltaba pues, el uso de una neurotoxina selectiva para la acetilcolina. El AFG4A, una neurotoxina selectiva para estas neuronas, al ser inyectada bilateralmente en el NC, días antes del entrenamiento de evitación pasiva, deteriora la retención medida siete días después; la pérdida de las neuronas

colinérgicas estriatales no fue acompañada de deficiencias en la actividad locomotora espontánea, ni con reducciones de sensibilidad a los estímulos nociceptivos (Sandberg y col., 1984).

Debido a que los tratamientos fueron aplicados días antes del entrenamiento en prevención pasiva los animales fueron entrenados y probados bajo un estado de patología del estriado; por consiguiente, las alteraciones producidas en la memoria, pueden confundirse con alteraciones motoras, perceptuales, motivacionales o de otra índole inespecífica.

Otros estudios han usado una metodología diferente para analizar las relaciones entre la actividad colinérgica del NC y los procesos de la memoria. Tal metodología involucra la aplicación de unos cuantos microgramos de drogas anticolinérgicas o de agentes colinomiméticos en el NC, enseguida (dos minutos), varios minutos (5-15 minutos), u horas después del entrenamiento en prevención pasiva de un ensayo, y la retención es medida a las 24 o a las 48 horas posteriores. En estas condiciones los animales son entrenados y probados en su retención en un estado libre de drogas, con todas sus capacidades motivacionales, perceptuales y motoras intactas.

Así, microinyecciones de atropina (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1983; Prado-Alcalá y col., 1980a; 1980b; 1985) o de escopolamina (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1982; Haycock y col., 1973) en la porción entero-dorsal del NC aplicadas dos

minutos después del único ensayo de entrenamiento, induce un impedimento en la capacidad de retención. Este efecto amnésico es mayor conforme se incrementa la dosis de los agentes anticolinérgicos (Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Prado-Alcalá y col., 1985); también ocurre una atenuación gradual de la deficiencia en la retención conforme se incrementa el intervalo entre el entrenamiento y la aplicación de atropina o de escopolamina en el NC (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1982; Prado-Alcalá y col., 1981). De esta forma la microinyección de escopolamina en el NC a los dos o a los cinco minutos después del entrenamiento induce un estado marcado de amnesia; un grado intermedio de alteración es visto cuando el tratamiento es dado entre los ocho y los once minutos; y excelente retención es observada cuando la escopolamina es administrada a los quince minutos (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1982).

Al parecer el bloqueo de la actividad colinérgica del NC, inducido dos minutos después del entrenamiento, interfiere con la transferencia de la memoria de corto a la de largo plazo, ya que no altera la retención medida a los treinta minutos, pero sí aquella que es medida a las veinticuatro horas posteriores (Prado-Alcalá y col., 1981).

Hasta aquí los estudios realizados en prevención pasiva sugieren que las operantes del sujeto que consiguen escapar de una situación aversiva activan inmediatamente a las neuronas colinérgicas estriatales, y éstas una vez activadas se encargan

de la transferencia de la memoria de corto o de largo plazo, y no de los procesos de la memoria de corto plazo. A su vez, la activación de la sinapsis colinérgicas necesaria para la consolidación de la memoria ocurre entre los dos y los quince minutos.

Una situación diferente ocurre cuando se emplea un choque eléctrico de intensidad relativamente alta para el entrenamiento de la tarea de retención pasiva:

a) Inyecciones de escopolamina o atropina en el NC anterior y en la corteza parietal, seis minutos antes de la sesión de prueba no producen deficiencias en la retención (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1983). Debe recordarse que el bloqueo colinérgico del NC, bajo las mismas condiciones experimentales, pero usando un choque eléctrico de menor intensidad si produce alteraciones en la retención (Prado-Alcalá, 1985).

b) El bloqueo colinérgico post-ensayo del NC de ratas disminuye ligeramente la retención medida a los treinta minutos, pero no aquella medida a las 24 horas (Díaz del Guante y Prado-Alcalá, 1984).

Podría argumentarse que dada la intensidad del choque relativamente alta es probable que a los treinta minutos el proceso de consolidación ya se hubiese completado y debido a que los animales aún se encontraban bajo los efectos de la droga se interfirieron parcialmente los mecanismos de salida de la información guardada en el almacén de largo plazo; pudiera ser también que a los 30 minutos la consolidación de largo plazo

aún no hubiese terminado y que al encontrarse en una etapa relativamente lábil, el anticolinérgico haya podido bloquear dicho proceso.

Si bien estos estudios insinúan que el sobreentrenamiento protege a los animales en contra del estado amnésico producido por el bloqueo colinérgico del estriado, éstos no fueron diseñados con este propósito. Sin embargo, hay un primer reporte en el que se varió sistemáticamente la magnitud del reforzador negativo, y ocurrió una protección en contra de las alteraciones de la memoria, causadas por la inyección intraestriatal de atropina: animales entrenados con 0.25 mA y tratados intraestriatalmente con el agente anticolinérgico evidenciaron deterioros en la ejecución de evitación pasiva, y aquellos entrenados con 0.50 y 1.0 mA mostraron una excelente retención de la tarea. El efecto protector se manifestó aún cuando se aplicó una dosis más elevada (90 ug) del anticolinérgico (Giordano y Prado-Alcalá, 1986).

El efecto protector por el sobreentrenamiento de la tarea no es exclusivo para el aprendizaje motivado aversivamente; anteriormente se había reportado una protección contra las deficiencias conductuales debido al incremento de las sesiones de entrenamiento de respuestas operantes reforzadas positivamente. Los deterioros conductuales habían sido causados por el bloqueo colinérgico y por perturbación generalizada de la actividad neural del caudado.

Referente a las conductas reforzadas positivamente se han valorado los efectos de inyecciones de bloqueadores del receptor de la acetilcolina en el NC sobre la adquisición de la presión de palanca, y el mantenimiento de respuestas de alternación espacial, de recorrido de un laberinto y de la presión de una barra. En el primer caso, se aplicaron inyecciones de escopolamina en la región anterior y posterior del NC y en la corteza parietal a los dos minutos posteriores de una sesión de entrenamiento de bebedero, previa a la sesión inicial de automoldeamiento operante, o bien minutos antes de dicha sesión y se observó una alteración significativa en el aprendizaje: las microinyecciones de escopolamina en ambas regiones del NC impidieron la adquisición de la presión de la palanca, no así cuando los tratamientos fueron aplicados en la corteza parietal (Bermúdez Rattoni y col., 1986).

En el segundo caso, amnesia de la tarea fue inducida cuando las inyecciones de drogas anticolinérgicas fueron dadas después de que los animales habían adquirido las respuestas condicionadas. Cuando los mismos tratamientos que habían inducido amnesia fueron aplicados en otras regiones cerebrales, como los ventrículos laterales (Prado-Alcalá y col., 1972), la amígdala (Prado-Alcalá y Cobos-Zapirain, 1979) y la corteza parietal (Bermúdez-Rattoni y col., 1986; Prado Alcalá y col., 1980) no fue encontrada deficiencia significativa en la ejecución.

Como en el caso de conductas de prevención pasiva y activa (Prado-Alcalá, 1985), la estimulación colinérgica del NC

causó una mejoría en este tipo de tareas. La aplicación de acetilcolina en el NC anterior de gatos, que sabían algo de la tarea, produjo una adquisición más rápida en la conducta de presionar una palanca que fue reforzada con leche (Brust-Carmona y col., 1974). La aplicación de colina o de acetilcolina en esta misma estructura también mejora el mantenimiento de dicha conducta, mientras que no se observaron tales mejoras con la estimulación colinérgica de la corteza parietal (Prado-Alcalá y col., 1984).

Además de las evidencias anteriores, hay otros estudios que demuestran que la aplicación de cloruro de potasio o de anestésicos locales en el NC producen alteraciones en la retención de evitación pasiva y en tareas reforzadas positivamente; cuando los animales son sobreentrenados dichos tratamientos no producen alteraciones en la memoria (Pérez-Ruiz y Prado-Alcalá, 1986; Prado-Alcalá y Cobos Zapiain, 1979). En conjunto los resultados dan fuerte apoyo a la hipótesis de que: la actividad colinérgica del estriado es necesaria para las etapas de adquisición y mantenimiento reciente de conductas instrumentales; pero que en condiciones de sobreentrenamiento el estriado no está involucrado en el mantenimiento de estas conductas (memoria de largo plazo), y que otros sistemas neuroquímicos fuera del NC, se encargan de esta fase de aprendizaje.

El hecho de que la actividad colinérgica del NC esté

involucrada en la adquisición de respuestas operantes, no significa que otros sistemas neuroquímicos relacionados con esta estructura no estén implicados en estos procesos; es decir, la habilidad para aprender debe tener una distribución neuroquímica mucho más amplia. Esta propuesta se fundamenta en el hecho de que lesiones electrolíticas o neuroquímicas del sistema nigro-estriatal produce alteraciones significativas en una tarea de evitación pasiva (Mitcham y Thomas, 1972). Además, el bloqueo de la actividad sináptica GABAérgica del caudado-putamen produce efectos similares (Chávez-Martínez y Prado-Alcalá, 1986). Igualmente, la administración intranigral de picrotoxina, en dosis que producen crisis electrográficas altera la retención de largo plazo (Cobos-Zapata y Prado-Alcalá, 1986). De este modo, parece que el funcionamiento normal del sistema nigro-estriatal es necesario para el establecimiento de los programas operantes.

A la fecha existe un reporte en el que se demostró una interacción entre la dopamina y la acetilcolina en relación con el aprendizaje de prevención pasiva (Rivas-Aranciabía y Prado-Alcalá, 1986). En varios grupos independientes de ratas se determinaron primero dosis mínimas que no produjeron deterioros en la retención, tanto de haloperidol, administrado intraperitonealmente dos horas antes del entrenamiento, como de atropina intraestriatal enseguida del ensayo de entrenamiento. En un grupo adicional de animales se combinaron las dosis subumbrales de ambos tratamientos (haloperidol ip, más atropina

en el NC) y se generó un estado amnésico no atribuible a ninguna de las drogas por separado; en consecuencia, el efecto se debió a la suma de las acciones que tienen sobre los receptores correspondientes en el sistema nigroestriatal.

Los experimentos que en los siguientes dos capítulos se presentarán parten de la segunda estrategia metodológica, es decir, cuando el evento neuroquímico constituye la variable independiente y la respuesta condicionada es la variable dependiente.

Dichos experimentos surgen de la premisa de que para lograr una adquisición de conocimiento se requiere de la puesta en marcha de un conjunto de estructuras cerebrales con sus respectivas interacciones neuroquímicas; algunos científicos del cerebro piensan que en los ganglios basales se forman las huellas de memoria (McKenzie, 1984), pero tal vez, el centro de este ensamblaje de estructuras lo ocupe el sistema nigroestriatal. Coats (1984) demuestra que el NC participa en la dirección de la atención, y otros investigadores sugieren que el neo-estriado traduce las decodificaciones corticales y las transforma en patrones de acción (Rolls, 1984).

Como se representa en la figura 3.1, el NC componente del sistema nigroestriatal recibe: fibras glutamatérgicas de la corteza cerebral; fibras procedentes de los núcleos talámicos intralaminares, cuyo transmisor probable es el glutamato;

aferencias dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta; y fibras serotoninérgicas de los núcleos del rafe. Las salidas estriatales se originan de las neuronas espinosas de tamaño mediano y se proyectan al globo pálido medial y lateral y a la pars reticulada de la sustancia nigra. Las neuronas espinosas eferentes tipo I contienen GABA y encefalinas como neurotransmisores; éstos son inhibitorios por naturaleza. La neurona espinosa eferente tipo II probablemente contiene sustancia P; es un neurotransmisor excitatorio que activa a las neuronas dopaminérgicas ascendentes. También existen en el caudado interneuronas que no contienen espinas, llamadas no espinosas tipo I y tipo II, y contienen GABA y acetilcolina, respectivamente (Carpenter, 1984; ver figura 3.1). El centro de las preocupaciones de los experimentos que presentamos lo constituye la acetilcolina estriatal y el GABA estriado-nigral, y cómo éstos interactúan durante la adquisición de programas operantes.

El experimento I está inspirado en la idea de que al interior de la matriz compleja de interacciones neuroquímicas del sistema nigro-estriatal, la activación de las neuronas colinérgicas constituye el centro de esas interacciones que acompañan a la formación del aprendizaje; el segundo experimento supone que debe haber interacciones entre el GABA estriado-nigral, la dopamina y la acetilcolina nigro-estriatales durante el establecimiento de la memoria derivada del entrenamiento en prevención pasiva.

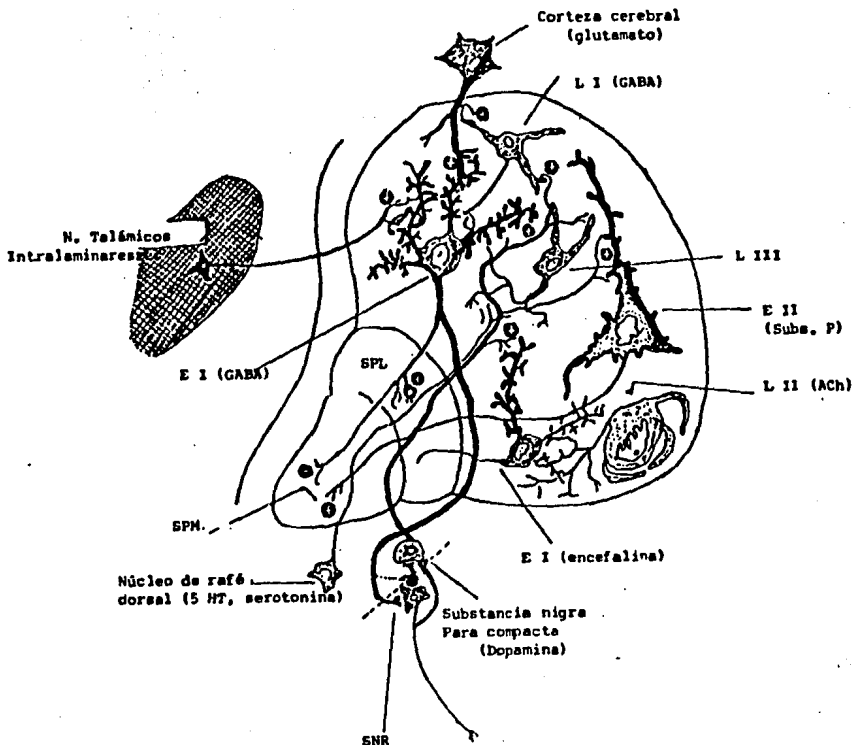


FIG. 3.1 Representación esquemática de las neuronas estriatales con aferencias y eferencias, e indicaciones tentativas de acciones excitatorias (+) e inhibitorias (-), y posibles neurotransmisores. Las aferencias estriatales se originan de: 1) la corteza cerebral (glutamato), 2) núcleos talámicos intralaminares (¿ glutamato?), 3) pars compacta de la sustancia negra (dopamina) y 4) núcleo del rafe dorsal (5-HT, serotonina). Las eferencias estriatales parten de las neuronas espinosas y se proyectan al segmento palidial y a la pars reticulada de la sustancia negra, donde hacen contacto sináptico, en menor grado, con interneuronas y, en mayor grado, con neuronas de proyección, conteniendo ambas el neurotransmisor GABA. Las neuronas dopaminérgicas localizadas en la sustancia nigra compacta reciben, entonces, una proyección GABAérgica de colaterales axónicas de neuronas eferentes e interneuronas de la sustancia nigra reticulada. Las neuronas espinosas E1 contienen GABA y encefalina; las espinosas E2 probablemente contienen sustancia P. Las neuronas lisas de circuito local L1 y L2 son consideradas GABAérgicas y colinérgicas, respectivamente (modificado de Carpenter, 1984).

CAPITULO IV

EXPERIMENTO I

A principios de siglo, T.H. Ribot en su libro *Las Enfermedades de la Memoria* escribió que " el reflejo es el resultado de una disposición anatómica, innata, es decir, de una memoria específica que ha sido adquirida en cierto tiempo y después fijada permanentemente por repeticiones innumerables...si se examina como se adquirieron estos movimientos primitivos, innatos, como se fijan y se reproducen se ve que el primer paso consiste en formar asociaciones. Este periodo de formación no consiste, a veces, más que en una serie de tanteos. Los actos que hoy nos parecan más naturales han sido, en su origen penosamente adquiridos"(p. 8).

Sin embargo, el verdadero tipo de memoria - y aquí entramos en el fondo mismo de nuestro objeto de estudio-, debe buscarse en el grupo de los actos aprendidos, porque constituyen la esencia de nuestra vida cotidiana. Estos comportamientos aprendidos abarcan a los movimientos locomotores adquiridos y a las operaciones interiorizadas a las que Piaget hace alusión (Piaget, 1964). Sobre este aspecto Ribot sostenía que "la memoria no supone una modificación de los elementos nerviosos, sino la formación entre ellos de asociaciones determinadas para cada suceso particular, que por la experiencia, se hacen tan estables, como las conexiones anatómicas innatas. Lo que importa, como base

de la memoria, no es solamente la modificación impresa en cada elemento nervioso, sino la manera de agruparse varios elementos para formar un complejo" (p. 21).

Ribot no estaba seguro de la naturaleza de los cambios que ocurren al interior de las asociaciones o conexiones anatómicas que se desencadenan conforme se pasa de un periodo de tanteos a un periodo de fortalecimiento de un aprendizaje particular. En aquel entonces afirmaba: "es imposible decir en que consiste esta modificación. Ni el microscopio, ni los reactivos, ni la histología, ni la histoquímica pueden enseñárnoslo".

Para resolver la naturaleza de los cambios que se suscitan al interior del patrón de conexiones tuvo que abordarse como primer punto el asiento o lugar relativo de la memoria. Tuvieron que pasar más de cincuenta años, desde de que Ribot se había planteado por primera vez esta duda para que se tuvieran los primeros indicios de que en el estriado son "descubiertos" los programas motores operantes (Miller, 1981). Esto fue posible, al principio, gracias al uso de las técnicas de ablación, después por el advenimiento de la técnica de lesión electrolítica, y recientemente por el descubrimiento de citotóxicos, como el ácido kainico, el ácido iboténico y la colchicina. Los primeros dos citotóxicos destruyen cuerpos neuronales y dendritas, respetando fibras axonales y botones presinápticos, y no dañan a neuronas localizadas lejos del sitio de inyección (Coyle, 1982); la colchicina se une a la tubulina e impide el transporte axonal, y

no trae aparejada pérdida celular (Steward, Goldsmit y Sutula, 1984).

El conocimiento acerca de los engramas de la memoria fue perfeccionado aún más cuando los científicos conductuales se animaron a investigar los mecanismos cerebrales existentes entre las diferentes estrategias estímulo-respuesta y respuesta-estímulo; es así como se inaugura el área de investigación intitulada: La neurobiología del aprendizaje y la memoria. En todo este tiempo, se han usado para tal fin las tareas o programas de aprendizaje Pavlovianos y operantes, y también se han modificado o ideado nuevas tareas de aprendizaje.

Los estudios de lesión electrolítica relacionados con conductas mantenidas por reforzamiento revelan hallazgos de suma importancia; mencionaremos algunos:

- Ratas con lesiones en el caudado exhibieron decrementos en la retención para el retorno en una tarea de transporte pasivo; los animales fueron entrenados en un espacio octagonal visualmente homogéneo con un tubo de agua en cada esquina; al animal se le permitió beber de un tubo, mientras era confinado en un vagón; posteriormente la rata fue transportada lejos del tubo y en ángulo recto; entonces ella fue liberada y se le permitió encontrar el mismo tubo. Debido a que el animal debe regresar al tubo con base en la retroalimentación vestibular, la incapacidad para retornar al tubo de agua puede considerarse como testimonio de que el NC codifica información relativa a la memoria de localización egocéntrica, la cual esta mezclada de atributos

espaciales y de respuesta (Abraham, Potegal y Miller, 1983).

- Ratas y monos con lesiones del NC manifiestan deficiencias en tareas de alternación espacial y de respuesta demoradas (Divac, Rosvold y Szwarcbart, 1967; Sanberg, Lehmann y Fibiger, 1978). Estas alteraciones pueden ser explicadas con base en la contribución importante de los atributos espaciales y de respuesta en la localización egocéntrica.

- Lesiones del NC de ratas alteran la ejecución en tareas previamente aprendidas, que involucran discriminaciones derecha e izquierda entre brazos adyacentes en un laberinto radial de doce brazos, o que requieren que el animal seleccione brazos adyacentes cuando es colocado al final de un brazo de un laberinto radial de ocho brazos. Ambas tareas presuponen la utilización de atributos espaciales y de respuesta para la localización egocéntrica. Estos mismos animales expresaron óptima retención de una tarea de laberinto radial de ocho brazos, o de una tarea de aprendizaje de sitio, en la cual la rata fue colocada al final de un brazo de un laberinto radial, y fue reforzada por correr en un brazo, cuya posición fue constante en el espacio. Estas tareas demandan la utilización de atributos espaciales, con mínima interacción de atributos espaciales y de respuesta (Kesner, 1986).

- El NC y el hipocampo operan de manera independiente. Animales con lesiones hipocámpicas se desempeñan pobremente en una tarea de laberinto radial de ocho brazos, mientras que esto

no sucede en animales lesionados en el NC (Olton, 1983). Igualmente animales con lesiones en el NC no pueden ejecutar una tarea de discriminación derecha e izquierda, previamente aprendida, pero los animales con lesiones en el hipocampo si pueden realizarla (Cook y Kesner, 1984).

Sin embargo, las lesiones electrolíticas estriatales dañan a las fibras aferentes y eferentes, a las neuronas intrínsecas y a las fibras de paso, y esto impide separar los procesos mnémicos de las alteraciones locomotoras, perceptuales, motivacionales, o de otra índole inespecífica. Como se expresó anteriormente, tuvieron que pasar otros años más para que se descubrieran neurotoxinas que respetaran a las fibras de paso y a las aferentes, y que sólo dañaran una población específica de cuerpos neuronales del estriado. Pues bien, con el uso de estas neurotoxinas se han confirmado y han aparecido nuevos resultados, a saber:

- Microinyecciones de ácido kainico en el NC anteromedial no alteran la extinción de una respuesta de ir y no ir, ni la adquisición de un programa de reforzamiento diferencial de tasas bajas (RDB); el mismo tratamiento dirigido a la región ventrolateral del NC si altera la ejecución de ambas tareas (Dunnett e Iversen, 1982 a); la lesión del NC anteromedial afecta la extinción de la reversión de un hábito de posición espacial y la inyección de ácido kainico en el NC ventrolateral no la afecta (Dunnett e Iversen, 1982 b).

Para incorporar las experiencias de una tarea de reversión espacial el sujeto debe poner en marcha esquemas de localización egocéntrica; tal vez la tarea de ir y no ir demanda una memoria de asociación estímulo-respuesta, la cual esta compuesta por la interacción entre los atributos senso-perceptuales y de respuesta; en tanto que la asimilación de las contingencias de reforzamiento diferencial de tasas bajas necesitan de la formación de una memoria de contexto interno, la cual está compuesta por la interacción entre atributos motivacionales y temporales (Kesner, 1986).

En estos estudios se vislumbraba la idea de que en una región del NC opera una memoria de localización egocéntrica y que en otra región se consolida una memoria de contexto interno, o bien se almacenan exclusivamente atributos espaciales. Este ambiente de ideas condujo a las interrogantes obligadas: ¿Qué sistemas neuroquímicos del NC intervienen en las memorias de localización egocéntrica, de contexto interno y en la de asociación estímulo-respuesta?. La literatura referente a la manipulación farmacológica nos proporciona algunas respuestas: se comenzó por estimular o bloquear al sistema colinérgico del estriado y sólo recientemente se han abordado otros sistemas neuroquímicos tanto del estriado como de estructuras relacionadas.

Al respecto se han valorado los efectos de inyecciones de bloqueadores del receptor de la acetilcolina en el NC sobre el

mantenimiento de respuestas de alternación espacial, de recorrido en un laberinto y de la presión de la barra controlada por un programa de reforzamiento continuo. La ejecución de la tarea de alternación espacial requiere probablemente de la puesta en marcha de una memoria de localización egocéntrica, pero las otras tareas se caracterizan por el predominio de una memoria de asociación estímulo-respuesta (Kesner, 1986). En este caso, fue inducida amnesia, no importando que fuera una modalidad de memoria egocéntrica o de asociación estímulo-respuesta. Cuando los mismos tratamientos que habían inducido amnesia fueron aplicados en otras regiones cerebrales, como los ventrículos laterales (Prado-Alcalá y col., 1972), la amígdala (Prado-Alcalá y Cobos-Zapisaín, 1979) o la corteza parietal (Bermúdez-Rattoni y col., 1986) no fueron encontradas deficiencias en la ejecución de las tareas en cuestión.

Por el contrario, la estimulación colinérgica del NC anterodorsal de gatos, que sabían algo de la tarea, produjo una adquisición más rápida en la conducta de presionar una palanca que fue controlada por un programa de reforzamiento continuo (Brust-Carmona y col., 1974). La aplicación de colina o de acetilcolina en esta misma región del NC también mejora el mantenimiento de dicha conducta, mientras que no se observan tales mejoras con la estimulación colinérgica de la corteza parietal (Prado-Alcalá y Cobos-Zapisaín, 1984).

Puede observarse que hasta este momento se carecían de estudios que partieran de un proceso de adquisición puro; ello se

debió en parte a que los investigadores descuidaron los recientes programas de adquisición instrumental brindados por la teoría del análisis experimental de la conducta. Por consiguiente, las tareas utilizadas no controlaban variables como la historia de reforzamiento, la cantidad de señales discriminativas, la aparición accidental de reforzadores condicionados, el grado de motivación y la cantidad de entrenamiento recibido, mientras se moldeaba la conducta adecuada a la tarea o al programa de reforzamiento. También se debió a que las drogas colinérgicas se administraron durante la transición de la adquisición al mantenimiento instrumental (Prado-Alcalá, 1985). Argumentos similares pueden darse a los estudios de lesión electrolítica y aquellos que han usado neurotoxinas.

Un estudio realizado por Bermúdez-Rattoni, Mújica-González y Prado-Alcalá (1986) constituye el primer intento para abordar el proceso de adquisición puro. Estos autores aplicaron inyecciones de escopolamina en el NC anterior y posterior, inmediatamente o un día después de una sesión de entrenamiento al bebedero, y hallaron alteraciones en la adquisición del apretón de palanca durante sesiones de automoldeamiento operante. Para adquirir el apretón de palanca, en estas circunstancias experimentales, se requiere, como discutiremos más adelante, de la puesta en marcha de una memoria de localización egocéntrica, es decir, de la interacción de atributos de espacio y de respuesta.

Estos resultados insinúan que la actividad colinérgica de las regiones anterior, o posterior del estriado están igualmente involucradas en la adquisición de tareas instrumentales en las que interviene la memoria de localización egocéntrica.

Pero para que dicho supuesto tenga solidez es necesario partir de diferentes programas de automoldeamiento e intentar mejorar este tipo de memoria mediante la estimulación colinérgica del NC. El experimento 1 partió del paradigma de automoldeamiento descrito por Bernádez-Rattoni y col.(1986), excepto que impuso mayor distancia entre el bebedero y la palanca y también mayor fuerza para presionar la barra.

Este experimento parte de la suposición de que al interior de la matriz compleja de interacciones neuroquímicas del sistema nigroestriatal, la activación de las neuronas colinérgicas constituye, en general, el eje de esas interacciones que acompañan a la instauración del sistema de memoria basada en los datos y, en particular, a una modalidad de memoria de localización egocéntrica: la apropiación de conocimiento por automoldeamiento.

OBJETIVO

Aportar un mayor conocimiento acerca de la relación de la actividad colinérgica del NC y los procesos de adquisición de un aprendizaje de localización egocéntrica: el apretón de palanca, regulado por un programa de automoldeamiento.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La aplicación del precursor de la acetilcolina, la colina (10ug) en el NC o en la corteza parietal, al término de una sesión de entrenamiento al bebedero producirá un incremento en la adquisición del apretón de palanca regulado por un programa de automoldeamiento operante.

MATERIAL Y METODO

Sujetos

Se utilizaron cuarenta y ocho ratas machos *Rattus norvegicus*, de la cepa Wistar, con pesos de 250 a 350 grs., las cuales fueron alojadas individualmente en cajas de acrílico y mantenidas con libre acceso a comida (nutricubos Purina) y agua.

Cirugía

Se implantaron bilateralmente en el NC o en la corteza parietal cánulas de acero inoxidable de doble pared a treinta y nueve ratas; la pared interna estaba formada por una aguja dental número 27 y la externa, por una aguja hipodérmica del número 21. La colocación de las cánulas se llevo a cabo utilizando el atlas de Paxinos y Watson (1982), quedando ubicadas en las siguientes coordenadas:

Núcleo caudado anterodorsal:

Antero-posterior = bregma, 0.7 mm

Lateral = 3.0 mm

Profundidad = -3.5 mm, a partir de la duramadre.

Corteza parietal:

Antero-posterior = bregma, 0.7 mm

Lateral = 3.0 mm

Profundidad = -0.2 mm, a partir de la duramadre.

La intervención quirúrgica se realizó con el animal anestesiado, con una dosis de pentobarbital sódico inyectado intraperitonealmente (40 mg/kg) disuelto en solución salina isotónica, que contenía sulfato de atropina (0.2 mg/ml) para evitar secreciones de los sujetos anestesiados.

Posteriormente, se fijó la rata en el aparato estereotáxico y se procedió a efectuar una incisión de 2 cm de largo en dirección anteroposterior sobre la piel que cubre el cráneo; luego se levantó el tejido perióstico para hacer dos orificios en el cráneo, por donde se introdujeron las cánulas. Se efectuó un trépano en la región posterior del hueso parietal con el objeto de colocar un tornillo, el cual sirvió como soporte del cemento acrílico para fijar las cánulas.

Para disminuir la posibilidad de infecciones postoperatorias, se inyectó 0.20 ml de benzetacil

intramuscular (150 000 u). Al finalizar la intervención quirúrgica se mantuvo a las ratas en sus jaulas individuales durante seis días, para permitir su recuperación antes de iniciar el periodo de privación de agua, que antecedió a la primera fase del programa de automoldeamiento (entrenamiento al bebedero).

Cánulas de implantación y microinyector

Las cánulas de implantación consistieron de una cánula guía de acero inoxidable, calibre 21 y de un tapón construido de una aguja dental, calibre 27. La longitud de las cánulas para el caso del caudado fue de 12 mm y la longitud de la aguja del tapón fue de 12.1 mm. Se advierte pues, que la punta de la aguja que sirvió como tapón de la cánula guía sobresalía de la punta de la cánula en una décima de milímetro.

El microinyector fue construido de agujas dentales, calibre 27, cuya longitud fue idéntica a la de la aguja que se empleó como tapón (12.1 mm); en otras palabras la punta del microinyector rebasó una décima de milímetro de la punta de la cánula guía. La cabeza del microinyector fue insertada en un tubo de polietileno de aproximadamente 1 metro de longitud; el otro extremo del tubo de polietileno estuvo conectada con una jeringa Hamilton de 50 ul. La microjeringa fue acoplada con una bomba de infusión, Sage Instruments, la cual permitió ajustar el tiempo de aplicación de las sustancias.

Procedimiento

Seis días después de haber efectuado la cirugía los animales fueron privados de agua por 24 horas. Transcurrido este tiempo, cada sujeto fue expuesto, en una cámara de Skinner, a una sesión de entrenamiento al bebedero; en esta sesión se presentaron 200 ensayos, que consistieron en la presentación de una luz sobre el bebedero, durante 4 segundos, seguido de la aparición de 0.3 ml de agua, durante 3 segundos, y ulterior a la presentación de la recompensa líquida fue programado un intervalo entre ensayos de 30 segundos, durante los cuales todas las luces de la cámara de condicionamiento permanecieron apagadas. El bebedero estuvo situado en el extremo inferior derecho de la pared frontal de la cámara de Skinner.

Inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero 10 de los sujetos implantados en el NC recibieron una inyección bilateral de 10 μ g de colina diluida en 1 μ l de salina isotónica; los otros 10 recibieron inyecciones de solución salina isotónica (1 μ l). De los sujetos implantados en la corteza parietal, 9 recibieron una inyección de 10 μ g de colina, diluida en 1 μ l de salina, y los otros 10, 1 μ l de solución salina. El grupo íntegro, compuesto de 9 sujetos, únicamente pasó por la sesión de entrenamiento al bebedero, es decir, no fue tratado con sustancia alguna.

A las 24, 48, 72, 96, 120 y 144 horas posteriores de la sesión de entrenamiento al bebedero, todos los sujetos

recibieron sesiones de automoldeamiento operante. En cada una de ellas se dispusieron 60 ensayos, los cuales estribaron en la aparición de una luz sobre la palanca durante 30 segundos; en el caso de ser presionada, mientras se encontraba iluminada la luz se apagó inmediatamente para dar paso a la luz en el bebedero, durante 4 segundos, la cual fue seguida de 0.3 ml de agua, por 3 segundos; posterior al reforzamiento fue programado un intervalo entre ensayos de 30 segundos, sin ninguna luz en la cámara; concluido el intervalo entre ensayo, nuevamente apareció la luz sobre la palanca. En el caso de que el sujeto no la presionara, se programó de todas formas el intervalo entre ensayo, una vez que había transcurrido el periodo de iluminación sobre la barra; después del intervalo entre ensayo se introdujo el siguiente ensayo, con la luz sobre la palanca.

En todas las sesiones de automoldeamiento se registró el número de apretones durante el periodo de iluminación de la barra (Ed) y durante los intervalos entre ensayos (EA). Luego de cada sesión, ya sea de entrenamiento al bebedero, o bien de automoldeamiento, se dio a los animales libre acceso al agua, por un periodo de 15 minutos.

Rescapitulando, en dos grupos de ratas se aplicaron microinyecciones de colinater en el NC, región anterodorsal, o en la corteza parietal), entre 1 y 2 minutos posteriores a la única sesión de entrenamiento al bebedero y en los seis días

subsecuentes recibieron sesiones de automoldeamiento. Dos grupos de control fueron tratados con solución salina isotónica en la misma región del NC anterior, y pasaron al igual que un grupo integro, por idéntico procedimiento conductual. A continuación se definen los grupos y se describe el procedimiento de inyección.

GRUPOS

| | N |
|------------------------------|----|
| CAUDADO - COLINA (NC - CO) | 10 |
| CAUDADO - SALINA (NC - SA) | 10 |
| CORTEZA - COLINA (CTZ- CO) | 9 |
| CORTEZA - SALINA (CTZ- SA) | 10 |
| INTEGRO (INT) | 9 |

La colina fue diluida en solución salina isotónica y todas las microinyecciones fueron realizadas en un volumen constante de 1 μ l. Al terminar la microinyección de 1 minuto, se mantuvieron durante otro minuto los inyectores en las cánula guías para permitir una mejor difusión de la substancia en el tejido cerebral.

En todos los grupos las microinyecciones fueron aplicadas bilateralmente y al mismo tiempo; para realizarlas los taponos de las cánulas guías fueron quitados y de esta forma se permitió la entrada de los microinyectores, a través de los cuales se administraron las substancias.

Histología

Al concluir la sexta sesión de automoldeamiento todos los sujetos implantados fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico, luego se les prefundió intracárdicamente con solución salina isotónica y más tarde se inyectó por la misma vía, formaldehído al 10%; una vez fijado el cerebro, se hicieron cortes histológicos por congelación de 100 μ g de grosor, para enseguida teñirlos con la técnica de Nissl y poder determinar de esta forma la localización de las puntas de las cánulas.

Análisis estadístico

Se utilizó en primer lugar el análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal-Wallis; es una prueba extremadamente útil para decidir si k muestras independientes provienen de poblaciones diferentes. La técnica de Kruskal-Wallis examina la hipótesis de nulidad que supone que las k muestras proceden de poblaciones idénticas con respecto a los promedios (Siegel, 1979). En el caso de que el número de apretones variara de acuerdo con los tratamientos experimentales, se procedió a detectar en que grupos residieron las diferencias; para ello se aplicó la prueba U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Histología

En la figura 4.1 se muestra el rango de colocaciones de las puntas de las cánulas y se observa que la mayoría de ellas quedaron en la región dorsomedial del NC anterior; para la corteza parietal éstas quedaron al nivel de las coordenadas 7190 a 7890 de acuerdo con el atlas de König y Klippel (1963).

Apretones en Ed

Para cada una de las sesiones de automoldeamiento partimos de la hipótesis de que al menos dos de los cinco grupos de ratas diferirían en sus tendencias centrales. Por los valores de H de Kruskal-Wallis presentados en las tablas 4.1 hasta la 4.6, correspondientes a cada una de las sesiones de entrenamiento, pudo constatarse que al menos la tendencia central del grupo caudado, tratado con colina difirió significativamente de las tendencias centrales respecto de los grupos controles: el tratado con salina en el NC, o en la corteza parietal e íntegro.

En la primera sesión de entrenamiento la tendencia central del grupo caudado, tratado con colina (NC-CO) fue mayor que la del grupo íntegro ($U = 14.5$; $g_1 = 10.9$; $p < 0.01$). También la tendencia central del grupo NC-CO fue sobresaliente a la del grupo NC-SA ($U = 13.0$; $g_1 = 10.10$; $p < 0.01$) y a la del grupo de corteza tratado con salina ($U = 19.0$; $g_1 = 10.10$; $p < 0.01$).

Se pudo comprobar que el tratamiento con colina a la corteza

parietal no logró instaurar el apretón de palanca, ya que la tendencia central del grupo CTZ-CO fue equivalente a la del grupo integro y a la del grupo NC-SA.

En la segunda sesión de automoldeamiento la tendencia central del grupo NC-CO nuevamente fue mayor respecto a la de los grupos integro ($U = 13$; $g1 = 10,9$; $p < 0.01$), NC-SA ($U = 12$; $g1 = 10,10$; $p < 0.01$) y CTZ - SA ($U = 19.5$; $g1 = 10,10$; $p < 0.025$).

En el transcurso de las sesiones 3,4,5 y 6 el grupo NC-CO siguió acrecentando la cantidad de apretones de palanca; el grupo integro así como los grupos tratados con salina en el NC o en la corteza conservaron el nivel infimo de respuesta; las microinyecciones de colina en la corteza parietal continuaron siendo ineficaces para establecer niveles perceptibles de respuestas (figura 4.2).

Ahora se pondrán a consideración resultados de otro estudio en el que se utilizó un procedimiento diferente de automoldeamiento. Dichos resultados fueron presentados por nuestro equipo de trabajo en el XXX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas (Díaz del Guante y col., 1987). Se mencionan porque dan una imagen en espejo de lo que aconteció en el primer experimento de esta tesis.

En la figura 4.3 se muestran, en la ordenada, las medianas de apretones de palanca durante el periodo en el cual ésta estuvo iluminada (Ed), de grupos independientes de ratas que recibieron inyecciones bilaterales de colina en el NC anterior, o en la

corteza parietal, y con salina fisiológica en las mismas estructuras cerebrales.

En este estudio, ratas privadas de agua por 24 horas e implantadas bilateralmente con cánulas de doble pared en el NC anterodorsal o en la corteza parietal fueron expuestas, en la cámara de Skinner, por tres sesiones de automoldeamiento del tipo clásico-operante, una cada 24 horas; en estas sesiones se presentó una luz sobre la palanca por un lapso de 30 segundos, que en caso de ser presionada, cuando se encontraba iluminada, ésta se apagó de inmediato dando lugar a una luz en el bebedero, durante 4 segundos, la cual fue seguida de 0.3 ml de agua, por el mismo tiempo. Luego se dispuso un intervalo entre ensayo de 30 segundos, durante el cual las luces permanecieron apagadas, y entonces se inició el siguiente ensayo con la presentación de la luz sobre la palanca. En el caso de que el sujeto no la presionara mientras corrían los 30 segundos de su iluminación, de todas formas apareció la secuencia luz en el bebedero-agua, que fue seguida por otro intervalo entre ensayo, y nuevamente fue programada la luz en la palanca, hasta que finiquitaron 60 ensayos. Solamente al término de cada sesión de automoldeamiento clásico-operante las ratas recibieron inyecciones de 10 ug de colina o salina en el NC anterodorsal o en la corteza parietal. En la cuarta y quinta sesión los animales estuvieron expuestos a un programa de automoldeamiento operante, cuyos parámetros fueron idénticos a los del presente estudio; en estas sesiones los animales no recibieron tratamiento alguno.

Puede advertirse en la figura 4.3 que únicamente el grupo

que recibió microinyecciones de colina en el caudado manifestó un nivel lábil de adquisición en Ed en dos sesiones de automoldeamiento, de corte clásico-operante, y en las dos últimas sesiones de automoldeamiento, del tipo operante, todos los grupos manifestaron un despliegue notable de apretones, pero el grupo tratado con colina demostró mayor adquisición de la respuesta instrumental.

El estudio de Díaz del Guante y col. (1987) partió de un nivel de adquisición no estatuido en el sujeto, ya que los grupos de control en las sesiones de automoldeamiento clásico-operante mostraron escasas respuestas ante Ed; pero estos animales pudieron adquirir la tarea durante las sesiones de automoldeamiento operante, aunque a un ritmo más lento que el de los sujetos tratados con colina en el NC. Este hecho invalida el prejuicio de que los resultados obtenidos en el primer experimento de esta tesis pudieran tratarse de un artefacto experimental por el hecho de que los sujetos íntegros y los tratados con salina en el NC manifestaron un nivel nulo de adquisición, es decir, que la estimulación colinérgica del NC haya aumentado la actividad locomotora a tal grado que se hayan producido apretones de palanca accidentales.

Apretones en E^{Δ}

En la tabla 4.7 se ilustra el concentrado de datos para todas las comparaciones posibles entre los grupos controles y

experimentales, correspondientes a la primera sesión de automoldeamiento. Puede constatarse que los apretones durante los intervalos entre ensayos (E^A) fueron mayores para el grupo caudado tratado con colina y en menor grado para el grupo de corteza, tratado igualmente con colina. De todas formas, los incrementos de apretones obtenidos por estos dos grupos experimentales fueron los suficientes para diferenciarse de sus respectivos grupos de control: el grupo NC-CO difirió del grupo NC-SA ($U = 13.5$; $gI = 10,10$; $p < 0.01$) y del grupo integro ($U = 19$; $gI = 10,9$; $p < 0.025$); el grupo CTZ-CO difirió del grupo integro ($U = 21$; $gI = 9,9$; $p < 0.05$) y del grupo NC-SA ($U = 16$; $gI = 10,9$; $p < 0.01$).

En la segunda sesión de entrenamiento el grupo caudado tratado con colina elevó aún más el número de apretones de palanca, pero el grupo de corteza que recibió el mismo tratamiento decremento el número de apretones. De hecho el grupo NC-CO difirió del grupo NC-SA ($U = 6$; $gI = 10,10$; $p < 0.001$) y también del grupo integro ($U = 4$; $gI = 10,9$; $p < 0.001$). El grupo CTZ-CO no difirió de manera significativa del grupo CTZ-SA ($U = 39.5$; $gI = 9,10$; $p > 0.025$).

En la tercera sesión y en el resto de las sesiones (ver tablas 4.7 a 4.12) continuó progresando la adquisición del apretón de palanca por parte del grupo caudado tratado con colina; el grupo de corteza que recibió el mismo tratamiento prosiguió con los niveles bajos de apretones. La figura 4.4 patentiza esta tendencia.

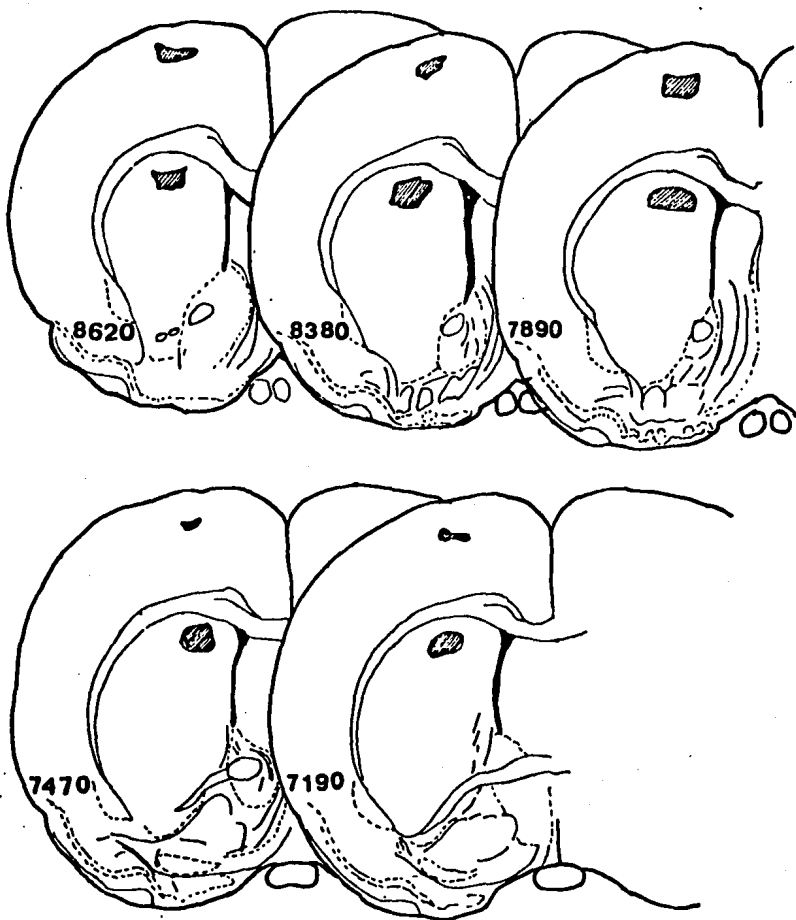


FIG. 4.1 Representación esquemática de sitios de inyección en el núcleo caudado y en la corteza parietal, señalados en áreas sombreadas; el rango de localizaciones de puntas de cánulas solamente representan al hemisferio derecho. Las secciones coronales fueron sacadas del atlas de König y Klippel (1963).

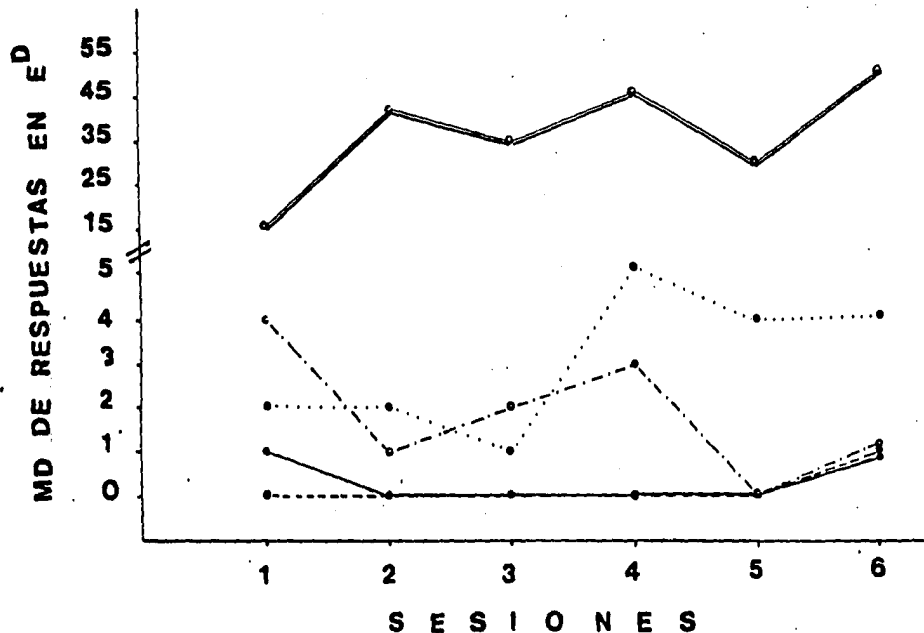


FIG. 4.2 La ordenada representa a las medianas (MD) de presiones de palanca reforzadas (E^D), exhibidas por los grupos de ratas inyectadas con colina en el núcleo caudado-putamen anterior (●—●), y en la corteza parietal (●- - - - ●); (●.....●), ratas inyectadas con salina en el núcleo caudado anterior; (●- · - · - ●), grupo de ratas tratadas con salina en la corteza parietal; (●—●), sujetos íntegros no tratados. Los tratamientos fueron dados 1 minuto después del entrenamiento al bebedero.

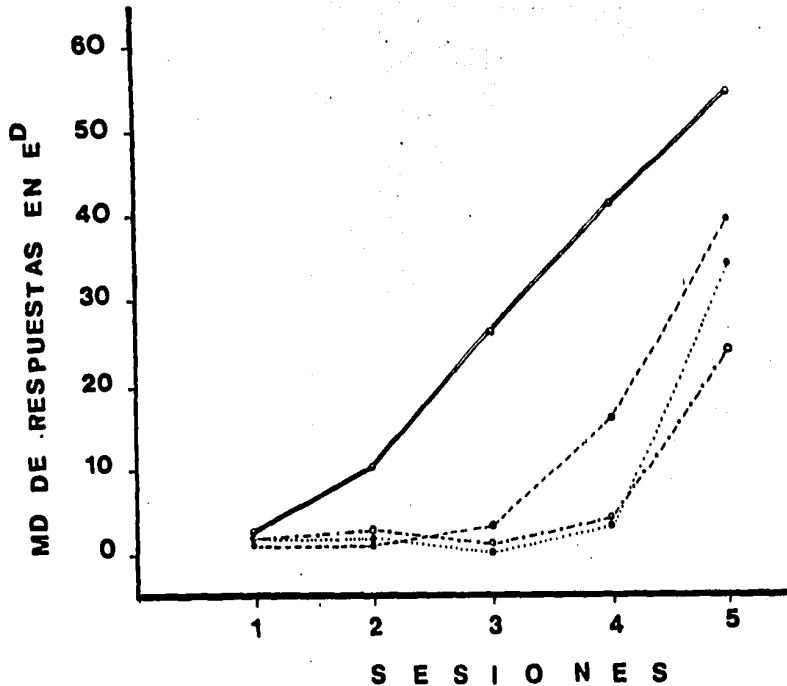


FIG. 4.3 Medianas de presiones de palanca reforzadas (E^D), manifestadas por los grupos de ratas inyectadas con colina en el núcleo caudado antero-dorsal (—●—) y en la corteza parietal (- - - ● - - -); (· · · · · ● · · · · ·) y (- · - · - ● - · - · -), grupos de ratas tratadas con salina en el caudado-putamen y en la corteza parietal, respectivamente. En las primeras tres sesiones estuvo vigente un programa de automoldeamiento clásico-operante; en la cuarta y quinta sesiones, uno de corte operante.

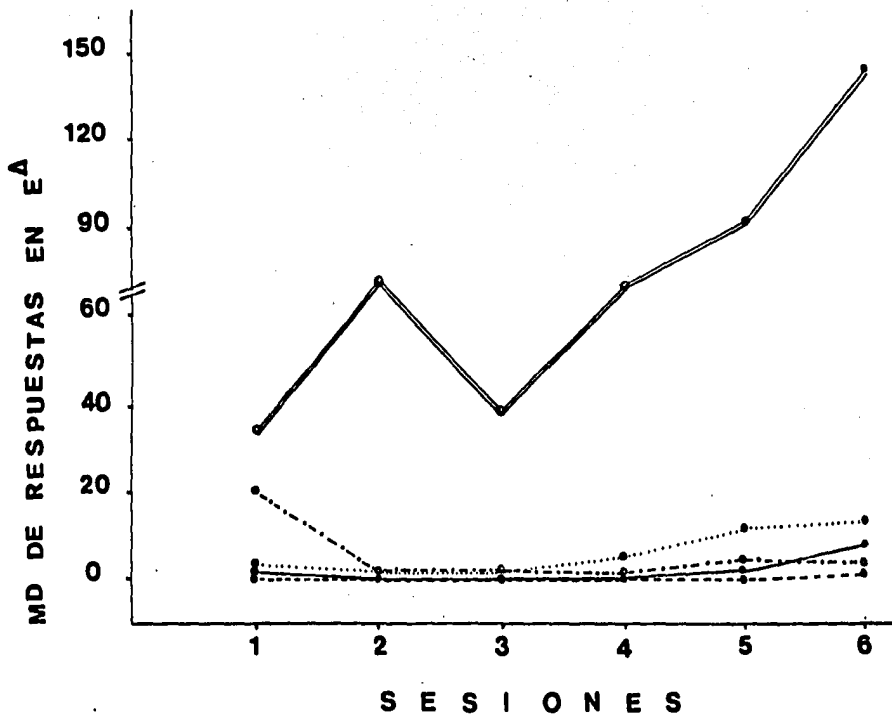


FIG 4.4 Medianas de presiones de palanca no reforzadas (E^A) de los grupos de ratas inyectados con colina en el núcleo caudado anterior (○—○), o en la corteza parietal (○- - -○), y con solución salina isotónica en el caudado-putamen anterior (○····○); (○-·-·-○), ratas con cánulas implantadas en la corteza parietal y tratadas con salina isotónica; (○- - -○), ratas no implantadas.

TABLA 4.1
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. PRIMERA SESION.
APRETONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|-----------------------|---------|----------------------|----------------|--------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 15.5 | 2 | 4 | 1 |
| NC-CO | U = 13 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 33 NS | | U = 19 p < 0.01 | | |
| CTZ-CO | U = 19.5 p < 0.025 | | U = 35.5 NS | | |
| INT | U = 39 NS | | U = 14.5 p < 0.01 | | U = 31 NS |
| | | | | U = 21.5 NS | |

H = 14; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.1. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = integro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.2
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. SEGUNDA SESION.
APRETONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|--------------------|-----------------------|----------------|----------------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0.5 | 43 | 2 | 1 | 0 |
| NC-CO | U = 12 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 34.5 NS | U = 19.5 p < 0.025 | | | |
| CTZ-CO | U = 31.5 NS | U = 32.0 NS | U = 42.5 NS | | |
| INT | U = 37.5 NS | U = 13.0 p < 0.01 | U = 24.0 NS | U = 25.5 NS | |

H = 12.9; gl = 4; p < 0.01

Tabla 4.2. sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.3
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. TERCERA SESION.
APRETONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|----------------------|----------------------|--------------|-----------------------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0.5 | 35.5 | 1 | 2 | 0 |
| NC-CO | U = 13.5 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 44 NS | U = 17 p < 0.01 | | | |
| CTZ-CO | U = 26.5 NS | U = 27.5 NS | U = 31 NS | | |
| INT | U = 34.5 NS | U = 3.5 p < 0.001 | U = 27 NS | U = 14.5 P < 0.025 | |

H = 13.9; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.3. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.4
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. CUARTA SESION.
APRETONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|--|---------|----------|----------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 46 | 6 | 3 | 0 |
| NC-CO | U = 22 p < 0.025 | | | | |
| CTZ-SA | U = 34.5 U = 28.5 NS NS | | | | |
| CTZ-CO | U = 30.5 U = 39.5 U = 39.5 NS NS NS | | | | |
| INT | U = 41.5 U = 10.5 U = 28 U = 26 NS p < 0.01 NS NS | | | | |

$$H = 9.1; g1 = 4; p < 0.05$$

Tabla 4.4. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.5
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. QUINTA SESION.
APRÉTONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|--|---------|----------|----------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 30.5 | 4 | 0 | 0 |
| NC-CO | U = 23 p < 0.025 | | | | |
| CTZ-SA | U = 34.5 U = 32 NS NS | | | | |
| CTZ-CO | U = 34.5 U = 38 U = 43.5 NS NS NS | | | | |
| INT | U = 40.5 U = 10 U = 22.5 U = 27.5 NS p < 0.01 NS NS | | | | |

$H = 9.3; g1 = 4; p < 0.05$

Tabla 4.5. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.6
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. SEXTA SESION.
APRETONES ANTE LA LUZ-PALANCA (Ed).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|---------------|----------------------|--------------------|----------------|----------------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 1 | 50 | 4.5 | 1 | 1 |
| NC-CO | U = 18.5 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 36 NS | U = 37 NS | | | |
| CTZ-CO | U = 36 NS | U = 25 NS | U = 39.5 NS | | |
| INT | U = 34 NS | U = 5 p < 0.001 | U = 25.5 NS | U = 25.5 NS | |

$$H = 8.2; g1 = 4; p < 0.05$$

Tabla 4.6. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = integro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.7

AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. PRIMERA SESION.
 APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (E^A).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|----------------------|---------|-----------------------|---------------------|----------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 34.5 | 2.5 | 20 | 1 |
| NC-CO | U = 13.5 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 28 NS | | U = 26.5 p < 0.025 | | |
| CTZ-CO | U = 16 p < 0.01 | | U = 37.5 NS | | U = 25.5 NS |
| INT | U = 33.5 NS | | U = 19 p < 0.025 | | U = 32 NS |
| | | | | U = 21 *p < 0.05 | |

H = 13.9; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.7. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola. *Al nivel de 0.025 se acepta la hipótesis nula, pero al nivel de 0.05 se rechaza.

TABLA 4.8
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. SEGUNDA SESION.
APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (E⁴).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|--------------------|---------------------|----------------|--------------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 74 | 1.5 | 2 | 0 |
| NC-CO | U = 6 p < 0.001 | | | | |
| CTZ-SA | U = 33 NS | U = 18 p < 0.01 | | | |
| CTZ-CO | U = 22 NS | U = 18 P < 0.025 | U = 39.5 NS | | |
| INT | U = 42 NS | U = 4 p < 0.001 | U = 25.5 NS | U = 19 NS | |

H = 19.2; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.8. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.9
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. TERCERA SESION.
APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (E^A).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|-----------------------|---------|---------------------|--------------|--------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 39 | 1.5 | 2 | 0 |
| NC-CO | U = 21.5 p < 0.025 | | | | |
| CTZ-SA | U = 41 NS | | U = 20 p < 0.025 | | |
| CTZ-CO | U = 33.5 NS | | U = 24 P < 0.05 | | U = 36 NS |
| INT | U = 43 NS | | U = 11 p < 0.01 | | U = 31 NS |
| | | | | U = 22 NS | |

H = 11.6; gl = 4; p < 0.02

Tabla 4.9. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.10
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. CUARTA SESION.
APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (R⁴).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|----------------------|---------|----------------------|--------------|----------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 72.5 | 4.5 | 1 | 1 |
| NC-CO | U = 12.5 p < 0.01 | | | | |
| CTZ-SA | U = 36.5 NS | | U = 17.5 p < 0.01 | | |
| CTZ-CO | U = 36 NS | | U = 14.5 P < 0.01 | | U = 43.5 NS |
| INT | U = 43.5 NS | | U = 7.5 p < 0.001 | | U = 28.5 NS |
| | | | | U = 32 NS | |

$$H = 14.4; g1 = 4; p < 0.001$$

Tabla 4.10. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.11

AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. QUINTA SESION.

APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (E⁴).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|--------|---|---------|----------|----------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0 | 93 | 11 | 4 | 0 |
| NC-CO | U = 3.5 p < 0.001 | | | | |
| CTZ-SA | U = 24.5 U = 16.5 NS p < 0.01 | | | | |
| CTZ-CO | U = 26.5 U = 7 U = 39.5 NS P < 0.001 NS | | | | |
| INT | U = 38 U = 5 U = 19 U = 19 NS p < 0.001 p < 0.025 NS | | | | |

H = 22.6; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.11. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

TABLA 4.12
AUTOMOLDEAMIENTO OPERANTE. SEXTA SESION.
APRETONES DURANTE LOS INTERVALOS ENTRE ENSAYOS (E^A).

| GRUPOS | NC - SA | NC - CO | CTZ - SA | CTZ - CO | INT |
|---------------|----------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|-----|
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| Md | 0.5 | 147 | 12.5 | 2 | 0 |
| NC-CO | U = 9.5 p < 0.001 | | | | |
| CTZ-SA | U = 24 NS | U = 16.5 p < 0.01 | | | |
| CTZ-CO | U = 26.5 NS | U = 11 P < 0.01 | U = 34.5 NS | | |
| INT | U = 33.5 NS | U = 3 p < 0.001 | U = 15 P < 0.01 | U = 16.5 P < 0.025 | |

H = 21.8; gl = 4; p < 0.001

Tabla 4.12. Sujetos tratados inmediatamente después de la sesión de entrenamiento al bebedero. En la parte superior se presenta el tamaño de cada grupo (N) y su respectiva mediana (Md). En la parte inferior se muestra el valor H de Kruskal-Wallis. NC = núcleo caudado; CTZ = corteza; SA = salina; CO = colina; INT = íntegro; NS = no significativo al nivel de confianza prefijado de 0.025; prueba de una cola.

DISCUSION

La aplicación de 10 µg de colina en el NC anterior, región dorsomedial, entre 1 y 2 minutos posteriores de la única sesión de entrenamiento al bebedero facilitó de manera significativa, la adquisición del apretón de palanca durante las seis sesiones de automoldeamiento: altos niveles de respuestas ocurrieron tanto en presencia del estímulo discriminativo(Ed) como durante los intervalos en los cuales no hubo luces en la cámara de condicionamiento (E delta), y conforme avanzaron las sesiones hubo ascensos graduales en la adquisición en ambas situaciones.

La microinyección de colina en la corteza parietal produjo una leve adquisición de la respuesta, sobre todo ante el estímulo condicionado negativo (E delta), durante la primera sesión de automoldeamiento. Esta ligera instauración de la respuesta fue perdida en el transcurso del resto de las sesiones. Los grupos íntegros y los tratados con salina en la corteza parietal y en el NC evidenciaron en todas las sesiones de automoldeamiento un nivel casi nulo de apretones ante Ed y E delta.

En otros estudios se ha visto que la estimulación colinérgica del NC con acetilcolina mejora la adquisición (Brust-Carmona y col., 1974) y la ejecución (Prado-Alcalá y Cobos-Zepiain, 1979) del mismo tipo de conducta aprendida con dosis de 10 y 20 µg, respectivamente. De igual modo, inyecciones

intracaudadas de colina producen facilitación en la presión de palanca (Prado-Alcalá y Cobos-Zapain, 1979). Si bien estos estudios coinciden con los resultados del presente experimento, aquellos no partieron de un proceso de adquisición real, porque los sujetos ya sabían algo de la tarea, es decir, probablemente la estimulación colinérgica aceleró ciertos niveles de consolidación de la memoria. La importancia del presente experimento estriba en que se inició de un nivel de consolidación que no estaba estatuido en el sujeto. En estos estudios el apretón de palanca fue controlado por un programa de reforzamiento continuo y, es factible que los sujetos experimentales activaran un sistema de memoria basada en los datos, involucrando particularmente atributos de respuesta y senso-perceptuales.

En el presente experimento el sujeto requirió en un principio formar una estructura asimilatoria consistente en localizar espacialmente un estímulo discriminativo situado en el bebedero, que le informaba de la aparición de un reforzador positivo (recompensa líquida); posteriormente, debió modificar la estructura original: generalizar la búsqueda espacial del estímulo luminoso, ahora localizado en la palanca de respuesta; en esa búsqueda, un apretón de palanca le programó el estímulo luminoso situado en el lugar original, el bebedero, el cual fue seguido de la recompensa líquida; el animal debió formar otra

estructura: no acudir al lugar de la palanca, mientras no se encontraba iluminada, porque las respuestas no conseguirían la aparición del estímulo incondicionado. Nótese que esta situación de condicionamiento requiere de la operación de un sistema de memoria basada en los datos, pero con una importante interacción entre los atributos espaciales y de respuesta; por consiguiente se trata de una clase de memoria de localización egocéntrica (Kesner, 1986).

Dan impresión, estos resultados, que el incremento de ciertos niveles de acetilcolina del NC y no así en los de la corteza parietal son requeridos para la instauración del sistema de memoria basada en los datos, expresamente en aquella modalidad de memoria donde predomina la interacción de los atributos espaciales y de respuesta, y también en aquella clase de memoria en la que prevalecen los atributos senso-perceptuales y de respuesta.

Realmente, al hacer más efectivo un eslabón del procesador de memoria de localización egocéntrica, mediante la estimulación de la síntesis de acetilcolina y su consecuente liberación, en el preciso instante en que el sujeto se enfrenta al objeto de conocimiento se acelera ostensiblemente su proceso de adquisición, que en condiciones normales de entrenamiento resulta imposible adquirir el apretón de palanca.

Para que no quede duda de que el funcionamiento del sistema colinérgico del estriado es imprescindible tan pronto el sujeto opera sobre una tarea de aprendizaje de localización egocéntrica, hay otro estudio reportado por nosotros que confirma esta hipótesis (Díaz del Guante y col., 1987). En este estudio se encontró que aplicaciones bilaterales de colina en la misma región de la cabeza del caudado, inmediatamente después de sesiones de automoldeamiento, del tipo clásico-operante, produjo una mayor capacidad de adquisición del apretón de palanca, durante estas sesiones y en sesiones posteriores de automoldeamiento, de corte operante; asimismo, la inyección de colina a la corteza parietal fue inefectiva para mejorar la adquisición, que fue semejante a la obtenida por el tratamiento de salina en la corteza parietal.

De acuerdo con la estructura fina de las células nerviosas en el NC, Kaiya y col., (1980) las clasificaron en 6 tipos y además presentaron un modelo de circuitería novedoso. Las neuronas tipo I, II, III y IV son de tamaño mediano, la neurona tipo V es gigante y la de tipo VI es pequeña; de hecho casi todas las neuronas del estriado son colinoceptivas y dos de ellas sintetizan acetilcolina: las de tipo I y II.

Las neuronas tipo I son interneuronas colinérgicas que forman un circuito cerrado con las interneuronas colinérgicas

tipo II: éstas a su vez establecen contactos sinápticos con las neuronas de salida tipo III y V, una de las cuales envía axones GABAérgicos y la otra envía axones de substancia P (SP) hasta los cuerpos neuronales de la substancia nigra. Las neuronas dopaminérgicas de la substancia nigra compacta regresan a su vez la información procedente de estas salidas a las interneuronas colinérgicas del NC. Observamos así que entre las interneuronas colinérgicas, las neuronas eferentes GABAérgicas y las neuronas dopaminérgicas se establece otro circuito cerrado, pero más complejo. El tercer circuito cerrado se conforma entre las interneuronas colinérgicas, las neuronas eferentes de substancia P y las neuronas dopaminérgicas de la substancia nigra, las que bloquean la actividad de las interneuronas de acetilcolina.

Las neuronas de SP activan a las neuronas dopaminérgicas y éstas a su vez deprimen la actividad de las interneuronas de acetilcolina. De acuerdo con este mecanismo se alteraría la memoria cuando la actividad dopaminérgica nigroestriada fuese aumentada por la activación de la vía SP estriado-nigral, produciendo un efecto equivalente al observado por la aplicación de atropina o escopolamina en este núcleo (Prado-Alcalá y col., 1978; 1980a, b; 1981, 1984; 1985). En efecto, la inyección de SP en la substancia nigra no sirvió como reforzador positivo para el aprendizaje de preferencia de lugar en un laberinto T, e induce alteraciones en la memoria de prevención pasiva (Huston y Staubli, 1978; Staubli y Huston, 1985). En acuerdo con estas

suposiciones Neill y Herndon (1978) informan que aplicaciones directas en microgramos de d-anfetamina, o dopamina en la región antero ventral del neostriado de ratas decremanta la eficiencia de la respuesta en un programa de reforzamiento diferencial de tasas bajas, revelado por acortamientos de los intervalos entre respuestas y por disminuciones en el número de reforzamientos recibidos. Aplicaciones similares al estriado posterior o al globo pálido no alteran la eficiencia de la respuesta.

El presente estudio da idea de la complejidad de las interacciones neuroquímicas que se activan al interior del sistema nigroestriatal, como resultado de las operaciones que realiza el sujeto para conseguir aprendizaje, de al menos algunas tareas donde predomina el atributo de espacio, de respuesta y de tiempo. Los estudios antes descritos junto con los presentes resultados hacen sospechar que la actividad de las neuronas colinérgicas locales del sistema nigroestriatal constituyen el centro de las interacciones neuroquímicas durante el establecimiento de la memoria, inherente a algunas estrategias respuesta-reforzamiento positivo.

CAPITULO V

EXPERIMENTO II

Es necesario hacer hincapié que la acetilcolina estriatal no está aislada funcionalmente de otros sistemas neuroquímicos dentro del NC o fuera de él. A pesar de que aquí se sugiere que este transmisor intrínseco al estriado interviene en la formación del sistema de memoria basada en los datos, ello no significa que otros neurotransmisores relacionados con el sistema nigroestriatal no participen en dicho proceso. En el caso de este sistema, del cual se conocen sus conexiones aferentes y eferentes y sus mediadores químicos, resulta atractivo proponer circuitos neuroquímicos para el aprendizaje de evitación pasiva, en particular y para el aprendizaje operante, en general. El primer experimento demostró que la activación experimental de las neuronas colinérgicas estriatales hace posible instaurar programas operantes en el sujeto, y el segundo estudio da pie a la participación de algunos neurotransmisores del circuito estriado-nigro-estriatal.

El modelo de Carpenter (1984) nos dice que el GABA es un transmisor inhibitorio primordial en la comunicación de la información sináptica del NC hacia la sustancia nigra y al globo pálido; que las fibras GABAérgicas de proyección del NC establecen un contacto sináptico menor con el sistema dopaminérgico ascendente y un contacto sináptico mayoritario con las neuronas no dopaminérgicas de la sustancia nigra reticulada (SNR). Algunas de

estas neuronas no dopaminérgicas son interneuronas GABAérgicas, que en condiciones normales están inhibiendo a las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta (SNC); en otras palabras, las neuronas no dopaminérgicas de la SNR controlan a las neuronas dopaminérgicas de la SNC a través de mecanismos inhibitorios.

Scheel-Krüger (1986) ha descrito con más detalle las interacciones GABA-dopamina provenientes del núcleo accumbens y la del circuito nigro-pálido-talámico, además de la ya conocida interacción estriado nigral. De acuerdo con su modelo, el núcleo accumbens proporciona una aferencia menor a la SNR. La vía GABAérgica principal del estriado a la sustancia nigra es dirigida a la región de la SNR, que contiene neuronas eferentes GABAérgicas que se proyectan al tálamo ventromedial, colículo superior y formación reticular, y estas eferentes envían colaterales axónicas a la SNC; igualmente, las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales localizadas en la SNC reciben una proyección GABAérgica menor del estriado. Las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales están, de este modo, sujetas a una influencia muy compleja por el GABA y el efecto resultante podría depender del balance entre las aferentes GABAérgicas del núcleo accumbens y del estriado y del grado de inhibición recurrente mediada por las neuronas GABAérgicas eferentes de la SNR. Las neuronas de la SNC son además inhibidas por interneuronas GABA, que a su vez son influenciadas por la vía GABAérgica estriado nigral y por la vía GABAérgica estriado-pálido-nigral: el

componente GABA-érgico pálido-nigral termina en la zona reticulada.

Los nuevos aspectos de la interacción GABA-dopamina en la substancia nigra, zona compacta encajan en los siguientes hechos: se ha calculado que la unión al receptor GABA está asociada, principalmente, con aferentes y eferentes no dopaminérgicas de la SN, mientras que sólo el 30% de la unión al receptor GABA en la SN está asociada con las células dopaminérgicas (Gale y Casu, 1981). Los estudios electrofisiológicos han demostrado que las células no dopaminérgicas de la SNR son mucho más sensitivas a la inhibición por GABA que las células dopaminérgicas de la SNC (Grace y Bunney, 1979, 1985). Se ha demostrado que la aplicación directa de GABA o de agonistas del GABA tales como el muscimol en la SNR resulta en la inhibición de las neuronas de la SNR y en la activación de las neuronas dopaminérgicas de la SNC (Grace y Bunney, 1979, 1985; Waszczak y col., 1980, 1981). Por último, el GABA y el muscimol aplicados intranigralmente estimulan la liberación de dopamina en el NC (Martin y Haubrich, 1980; Kamata y col., 1986).

Una explicación razonable respecto de la liberación de dopamina en el estriado, dependiente de la dosis de GABA intranigral (Kamata y col., 1986) podría ajustarse a la siguiente secuencia de eventos: las neuronas no dopaminérgicas de la substancia nigra reticulada son inhibidas por la microinyección de GABA; la actividad decrementada de las neuronas no dopaminérgicas provoca desinhibición de las neuronas dopaminérgicas; y la actividad incrementada de las neuronas dopaminérgicas además de

inducir una liberación marcada de dopamina en el estriado produce la inactivación de las interneuronas de acetilcolina.

En estas condiciones experimentales es posible encontrar empeoramiento de la memoria por la aplicación local en la sustancia nigra de GABA o de sus agonistas; por el contrario, se esperaría que la aplicación de antagonistas del GABA produjeran mejoras en la adquisición de tareas de aprendizaje, pues el bloqueo de los receptores GABAérgicos localizados sobre los cuerpos y dendritas de neuronas eferentes e interneuronas no dopaminérgicas de la sustancia nigra reticulada (Carpenter, 1984) decrementaría la actividad dopaminérgica nigro-estriatal, y habría mayor liberación de acetilcolina.

Se esperaba en el segundo experimento que la aplicación en la sustancia nigra de dosis bajas de un antagonista del GABA, la picrotoxina, protegiera a los animales en contra de las deficiencias conductuales inducidas por la aplicación de atropina en el NC. Para probar esta posibilidad, grupos independientes de ratas recibieron microinyecciones simultáneas de 0.25 ug de picrotoxina en la sustancia nigra y diferentes dosis de atropina en el NC ipsilateral.

Antes de que se conformara el estudio se realizó un experimento piloto. Se diseñaron grupos independientes de ratas que recibieron, 10 minutos antes del entrenamiento de una tarea de prevención pasiva de un ensayo picrotoxina y salina en la sustancia nigra y en el NC ipsilaterales, respectivamente, y la

retención fue medida a las 24 y 48 horas posteriores; en cada grupo fue variada la dosis de picrotoxina. La administración de 0.25 µg de picrotoxina y salina en la substancia nigra y en el NC ipsilaterales no alteró la retención de evitación pasiva medida a las 24 y 48 horas posteriores; la aplicación de 0.40 µg de picrotoxina y salina en la SN y en el NC ocasionó en la mayoría de los animales una conducta de giro contralateral durante 20 a 40 minutos y un deterioro significativo en la retención; en este caso la primera prueba de retención fue conducida una vez que había desaparecido la conducta de giro; y la aplicación simultánea de 0.50 µg de picrotoxina y salina en la SN y en el NC ipsilaterales produjo en la mayoría de los animales crisis conductuales tónico-clónicas e igualmente un estado de annesia: las anomalías electrográficas, como se verá más adelante, aparecieron alrededor de los 6 minutos.

Una vez concluido este experimento piloto se procedió a realizar el estudio; en este caso se desecharon los grupos tratados con 0.40 y 0.50 µg de picrotoxina, en otras palabras, exclusivamente el grupo tratado con la dosis subumbral de picrotoxina (0.25µg) fue incluido en el estudio.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue determinar si la interferencia parcial con la actividad GABAérgica de la substancia nigra produce una protección contra las deficiencias en la retención de prevención pasiva cuando se le combina con diferentes

grados de interferencia de la actividad colinérgica estriatal. Se ha hecho constar que la interferencia de cualquiera de estos dos sistemas neuroquímicos (GABA nigral y acetilcolina estriatal) produce deterioros significativos en la memoria. Sin embargo, no existen reportes en los que se haya demostrado una interacción indirecta entre el GABA nigral y la acetilcolina estriatal en relación con el sistema de memoria basada en los datos, particularmente con aquella derivada del entrenamiento en prevención pasiva.

HIPOTESIS DE TRABAJO

1. El tratamiento conjunto de salina intranigral y de atropina intraestriatal producirá un decremento en la retención medida a las 24 y 48 horas posteriores del entrenamiento de la tarea; dicho efecto dependerá de la dosis de atropina utilizada.

2. La administración conjunta de una dosis subumbral de picrotoxina intranigral, 0.25 μ g, y de diferentes dosis de atropina en el NC ipsilateral producirá una protección contra las deficiencias en la retención. Dicha protección también se observará en el caso de tratamientos contralaterales.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos

Se utilizaron 107 ratas machos de la cepa *Norvegicus Albinus*

Wistar de 250 a 350 gramos de peso. Estas ratas fueron mantenidas en su confinamiento individual (jaulas de acrílico) con acceso libre de agua y comida (nutricubos Purina) y en condiciones de iluminación constante.

Cirugía

Con la técnica estereotáxica convencional, 86 ratas fueron implantadas, ipsilateralmente, con dos cánulas de acero inoxidable en el NC, región antero dorsal y en la SN, respectivamente. Los detalles de la construcción de estas cánulas están especificados en el primer estudio. En un grupo de 11 ratas las cánulas fueron introducidas en la SN y en el NC contralateral. Un grupo de 10 sujetos funcionó como control íntegro. La longitud de las cánulas para la sustancia nigra fue de 15 mm.

Para implantar las cánulas se utilizaron las coordenadas de Paxinos y Watson (1982), siendo respectivamente:

Núcleo caudado antero dorso lateral:

Antero posterior = Bregma 0.7 mm

Lateral = 3.6 mm

Profundidad = 4 mm

Substancia nigra:

Antero posterior = Bregma - 5.2 mm

Lateral = 2.3 mm

Profundidad = 7.2 mm.

Los detalles de la intervención quirúrgica ya están descritos en el primer estudio. Al finalizar la intervención quirúrgica se mantuvo a las ratas en sus jaulas individuales durante 6 días, para permitir su recuperación antes de iniciar el entrenamiento en prevención pasiva.

Aparatos

El entrenamiento y prueba de la tarea se llevó a cabo en una cámara de prevención pasiva que consta de dos compartimientos: uno de seguridad (CS) separado por una puerta deslizable del otro compartimiento, el de castigo (CC). El compartimiento de seguridad tiene barras paralelas en el piso y el de castigo está formado por dos láminas de acero inoxidable con una separación de 1.5 cm entre ellas; cada lámina está doblada formando las paredes laterales del compartimiento, y están conectadas a un estimulador de corriente eléctrica constante. Con la ayuda de un sistema de programación electromecánica se permitió la aplicación sistemática del choque eléctrico, así como la medición de las latencias.

Procedimiento de condicionamiento

El entrenamiento y prueba de la tarea consistió de tres sesiones. La primera sesión, llamada de adquisición (SA) consistió en lo siguiente: se introdujo al sujeto al compartimiento de seguridad y 10 segundos más tarde se subió la puerta que divide a

ambos compartimientos permitiendo al sujeto pasar al compartimiento de castigo. Una vez que las cuatro patas se encontraban en el CC, se cerró la puerta y se aplicó un choque de 0.20 mA. A los 5 segundos y manteniendo el choque, se abrió nuevamente la puerta, permitiendo el escape del animal al CS. Entonces se cerró la puerta, se desconectó el choque y 30 segundos después se sacó al animal, llevándolo a su jaula individual. Se midió la latencia entre el momento que se abrió la puerta por primera vez y el momento en que el sujeto entró al CC, y también la latencia de escape al choque.

Veinticuatro y cuarenta y ocho horas después de la sesión de adquisición se realizaron dos pruebas de retención: se introdujo al sujeto en el CS, a los 10 segundos se abrió la puerta y se tomó el tiempo que tardó en pasar el animal al CC, y sin aplicar el choque eléctrico se le regresó a su jaula. Si transcurrían 10 minutos sin que el sujeto pasara al CC se dió por terminada la sesión, regresándolo a su jaula-habitación, y se le asignó un puntaje de 600 segundos.

Microinyección

La picrotoxina, 0.25 μ g y el sulfato de atropina se diluyeron en solución salina isotónica y todas las microinyecciones fueron realizadas en un volumen constante de 1 μ l, durante 1 minuto. Ambas drogas, aplicadas simultáneamente en el NC antero dorso lateral y en la substancia nigra, respectivamente, fueron realizadas 10 minutos antes del entrenamiento de la tarea (SA). El

procedimiento para efectuar la microinyección fue idéntico al del primer estudio.

Grupos

Hubo un grupo de control que recibió salina tanto en el NC como en la substancia nigra; y otro grupo de control que recibió simultáneamente salina y picrotoxina, dosis subumbral, en el NC antero dorso lateral y en la SN ipsilateral; un grupo no operado no recibió tratamiento alguno. En la tabla 5.1 aparecen representados por los primeros números.

Los grupos 4 a 6 recibieron unilateralmente diferentes dosis de atropina en la región antero dorso lateral del NC y salina en la substancia nigra, ipsilateral al NC implantado. Los grupos 7 a 10 recibieron la dosis subumbral de picrotoxina en una substancia nigra y una dosis diferente de atropina en el NC ipsilateral, dependiendo del grupo que se tratara; el grupo 10 recibió en una substancia nigra picrotoxina, dosis subumbral y la dosis óptima de atropina en la región antero dorso lateral del NC contralateral: ello fue decidido porque existe una proyección contralateral, aunque no abundante, de la SN al NC.

En esencia, se estudió la interacción indirecta GABA-acetilcolina nigro-estriatal, mediante la aplicación simultánea de una dosis subumbral de un antagonista del GABA en una substancia nigra y dosis de 30, 40 y 60 µg, respectivamente de un antagonista de los receptores muscarínicos en el NC ipsilateral; los tratamientos combinados fueron aplicados 10

GRUPOS

| | N |
|--|----|
| 1. INTEGRO (INT)..... | 10 |
| 2. SUBSTANCIA NIGRA-SALINA Y NC-SALINA (S-S)..... | 10 |
| 3. SUBSTANCIA NIGRA-PICROTOXINA 0.25 µG Y NC-SALINA (P-S)... | 10 |
| 4. SUBSTANCIA NIGRA-SALINA Y NC-ATROPINA 30 µG (S-A 30) ... | 10 |
| 5. SUBSTANCIA NIGRA-SALINA Y NC-ATROPINA 40 µG (S-A 40)... | 12 |
| 6. SUBSTANCIA NIGRA-SALINA Y NC-ATROPINA 60 µG (S-A 60).... | 10 |
| 7. SUBSTANCIA NIGRA-PICROTOXINA 0.25 µG Y NC-ATROPINA 30 UG (P-A 30)..... | 10 |
| 8. SUBSTANCIA NIGRA-PICROTOXINA 0.25 µG Y NC-ATROPINA 40 UG (P-A 40)..... | 12 |
| 9. SUBSTANCIA NIGRA-PICROTOXINA 0.25 µG Y NC-ATROPINA 60 UG (P-A 60)..... | 12 |
| 10. SUBSTANCIA NIGRA-PICROTOXINA 0.25 µG Y NC CONTRALATERAL-ATROPINA 60 µG (P-A* 60)..... | 11 |

TABLA 5.1 Los tratamientos combinados fueron aplicados 10 minutos antes del único ensayo de entrenamiento de la tarea de aprendizaje.

minutos antes del único ensayo de entrenamiento en prevención pasiva y la retención fue medida a las 24 y 48 horas después.

La dosis subumbral de picrotoxina que se propuso para este experimento fue de 0.25 µg. Esta misma dosis aplicada bilateralmente, en idénticas condiciones de entrenamiento (0.20 mA), no produjo alteraciones en la retención de evitación pasiva, pero la inyección bilateral de una dosis elevada de 0.50 µg ocasionó crisis tónico-clónicas tanto electrográficas como conductuales y amnesia retrógrada. Para elegir la dosis subumbral de picrotoxina, como se expresó anteriormente, se realizó un experimento piloto para obtener una curva dosis respuesta. La dosis de 0.25 µg no produjo alteraciones en la memoria de largo plazo, ni anomalías conductuales, ni electrográficas.

La mitad de los sujetos de cada grupo recibieron los tratamientos combinados de salina-salina, picrotoxina-salina, salina-atropina y picrotoxina-atropina en la SN y en el NC izquierdos y la otra mitad en la SN y en el NC derechos.

Registro electrográfico

Para descartar si el efecto de los diversos tratamientos combinados generaban anomalías electrográficas o crisis convulsivas que pudiesen estar interfiriendo con la consolidación de la información adquirida durante el entrenamiento de prevención pasiva, se procedió a valorar este efecto mediante registros electrográficos.

Se utilizaron veinte ratas machos de la cepa *Norvegicus*

Albinus Wistar, cuyos pesos oscilaban entre los 250 y 300 gramos, los cuales fueron anestesiados con Ketalar intramuscular (60 mg/kg) e implantados crónicamente con electrodos de acero inoxidable en las siguientes regiones: amígdala basolateral: antero-posterior = bregma, lateral = 5.3 y profundidad 7.0 (Paxinos y Watson, 1982) corteza parietal y corteza frontal. Los electrodos corticales se fabricaron con alambre de acero inoxidable y fueron colocados en el cráneo para un registro electrocorticográfico epidural.

La actividad de las estructuras corticales (frontal y parietal) y subcorticales (amígdala basolateral) se filtraron en un rango de 1 a 30 Hz. La velocidad del papel para el registro de la actividad bioeléctrica fue de 5 mm/seg.

Previo a las aplicaciones de salina-salina, salina-picrotoxina, atropina-salina y picrotoxina-atropina en el núcleo caudado antero dorso-lateral y en la sustancia nigra, respectivamente se realizó un registro control durante 10 minutos y posteriormente se aplicaron con la bomba de infusión 1 μ l de estas sustancias a diferentes dosis, y manteniendo el registro constante 1 hora después de finalizada la microinyección.

Todas las ratas fueron sacrificadas y se les extrajo el cerebro para el análisis histológico, mediante la técnica anteriormente descrita.

Estadística

Se evaluaron los registros de las latencias de retención y de

escape para todos los grupos durante el entrenamiento y las dos sesiones de retención. Como los resultados mostraron homogeneidad de varianza (prueba de Barlett) entre los grupos se procedió al uso de pruebas paramétricas. La prueba F de Fisher fue usada para comparar los registros de las latencias de adquisición y de retención, y cuando hubo diferencias entre las medias de las latencias entre los grupos se procedió a detectar que grupo o grupos experimentales fueron los responsables de esas diferencias; para ello se utilizó una prueba de comparación múltiple de medias (prueba de la diferencia mínima significativa).

Se considera que existen diferencias significativas cuando el valor absoluto de $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ es mayor o igual que $t_{\alpha} \sqrt{\frac{1}{2} S\bar{x}_1 - \bar{x}_2}$. El criterio para obtener diferencia entre las medias es denominado diferencia mínima significativa (Dms), la cual está definida por:

$$Dms = t_{\alpha} \sqrt{\frac{1}{2} S\bar{x}_1 - \bar{x}_2} \quad \text{de donde}$$

$$S\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = \sqrt{S^2 \frac{r_1 + r_2}{r_1 r_2}}$$

La t es la t de Student para el nivel de significancia y el error de los grados de libertad elegidos, r_1 y r_2 son el número de observaciones en las dos medias que son comparadas y S^2 es el error de la varianza combinada.

Es una prueba para comparaciones planeadas, es decir no pueden hacerse comparaciones sugeridas por los datos; por esta razón decidimos, "antes de ver el comportamiento de los datos", comparar las medias de los grupos íntegro y salina-salina contra todos los

grupos. Así mismo se planearon realizar todas las comparaciones posibles entre los grupos tratados con salina en la SNR y atropina en el NC ipsilateral. A su vez, fueron comparados los grupos P-A30 vs S-A30, P-A40 vs S-A40, P-A60 vs S-A60 y P-A60* vs S-A60.

No obstante la posibilidad de que se nos hubiera escapado algún efecto sugerido por los datos, seguimos la recomendación de Edwards(1973): "al usarse la Dms para todas las comparaciones posibles de pares de medias se recomienda aplicar la prueba F de tratamientos y se procede a detectar que pares de medias difieren solo si F resulta ser significativa. A este procedimiento se le denomina: Dms de Fisher(protegida)".

Histología

A la terminación del experimento todas las ratas implantadas fueron anestesiadas y perfundidas intracárdicamente; los cerebros fueron extraídos y cortes coronales de 50 μ de grosor fueron teñidos, mediante la técnica de Nissl para determinar la localización de las puntas de las cánulas.

RESULTADOS

Histología.

Como se muestra en la figura 5.1 el análisis histológico puso en claro que las puntas de todas las cánulas implantadas en el NC anterior estuvieron en la división dorso lateral, rostral al

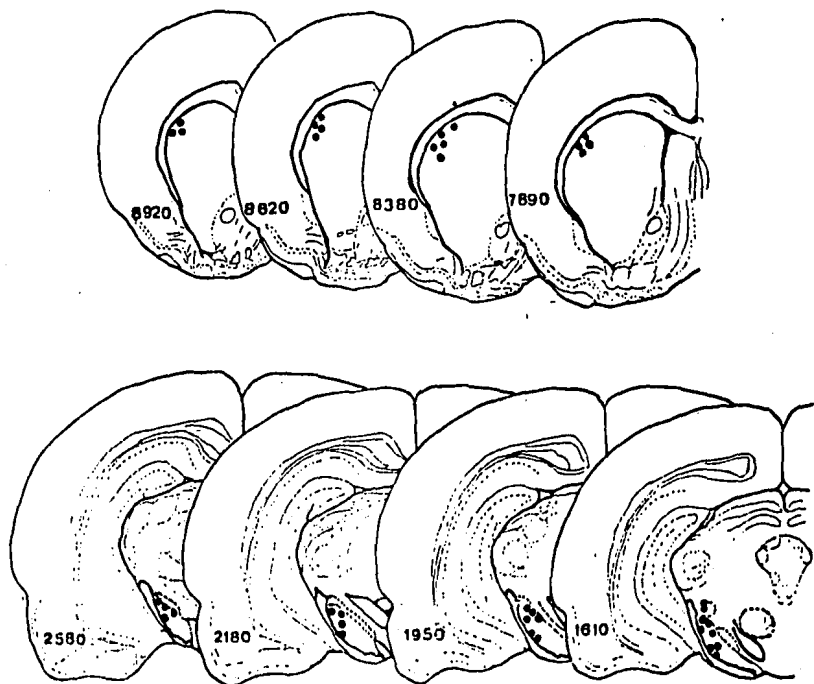


FIG. 5.1 Representación esquemática de sitios de inyección en la sustancia nigra, zona reticulada y en el núcleo caudado anterior. El número de localizaciones de puntas de cánulas mostradas es menor que el número total de cánulas implantadas, debido a que en los diferentes animales las puntas se encontraban en el mismo lugar. Solamente se representan localizaciones en el hemisferio izquierdo. Las secciones coronales están sacadas del atlas de König y Klippel (1963).

último vestigio de la comisura anterior; por esta razón la colocación de las cánulas estuvieron en los límites de la región anterior (Konig y Klippel, 1963).

En la substancia nigra las puntas de las cánulas se ubicaron principalmente en la zona reticulada, posterior a la primera demarcación del área tegmental ventral y rostral al último vestigio de los núcleos interfascicular y rafe rostral lineal: tendieron a quedar en la división medio-lateral de la SNR y en dirección rostro-caudal; algunas de ellas se encontraron también en la pars lateralis.

Registros electrográficos

La aplicación local de picrotoxina, 0.25 μ g, y salina en la SN y en el NC antero dorso lateral, respectivamente no produjeron anomalías electrográficas ni conductuales durante el periodo de inyección, ni tampoco a la primera hora, ni a las 24 horas posteriores de la inyección; consideramos que la dosis de picrotoxina de 0.25 μ g fue subumbral, porque no ocasionó detrimentos en la retención de largo plazo, ni perturbaciones locomotoras y electrográficas. En la figura 5.2 se ve que el patrón electrográfico en la situación control (A) es de una actividad peculiar de la vigilia, la cual se mantiene durante el periodo de inyección (B) y a los 15 y 60 minutos siguientes.

El tratamiento conjunto de picrotoxina intranigral, dosis subumbral, con diferentes dosis de atropina intraestriatal, que por separado habían generado amnesia tampoco produjeron

anormalidades electrográficas y conductuales, comportándose en forma similar a los grupos con tratamientos combinados de picrotoxina y salina. Lo mismo sucedió para los grupos con tratamientos combinados salina y atropina. En la figura 5.3, correspondiente al tratamiento simultáneo de picrotoxina intranigral y atropina, 60 µg. en el NC, se advierte que el patrón electrográfico en la situación control es similar al obtenido durante el periodo de inyección y a los 15 y 60 minutos ulteriores: en las cuatro situaciones hay una actividad electrográfica normal, inconfundible de la vigilia.

En la figura 5.4 se ilustran las anormalidades electrográficas en la corteza fronto parietal y de la amígdala basolateral, ocasionadas por la aplicación simultánea de 0.50 µg de picrotoxina en la SN y salina en el NC. El trazo electrográfico en la situación control es normal, al igual que durante el periodo de inyección; cerca de los 9 minutos, posterior al tratamiento, aparecen ondas lentas, mezcladas con algunas espigas puntiformes de mediana amplitud, las cuales aumentaron en frecuencia conforme avanza el tiempo de registro; poco más o menos a los 20 minutos se incrementa la amplitud de esta actividad epileptiforme, y en este instante, deviene una propagación de la amígdala hacia las cortezas: la descarga generalizada tiene una duración de alrededor de 30 segundos, y está compuesta de espigas de gran amplitud, que se coligan con crisis locomotoras tónico-clónicas.

La actividad espicular en la amígdala, de moderada amplitud,

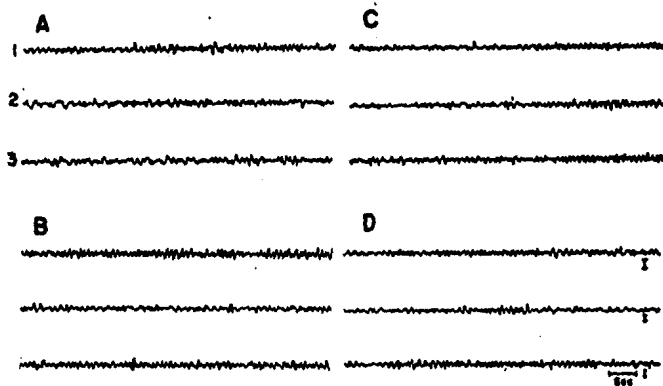


FIG. 5.2 Actividad electrocorticográfica y de la amígdala basolateral izquierda (canal de registro 2) en una rata tratada con 0.25 μ g de picrotoxina en la sustancia nigra, zona reticulada y salina en el núcleo caudado antero-dorso-lateral derechos. A y B registro electrográfico antes y durante las microinyecciones; C y D, a los 15 y 60 minutos después de los tratamientos simultáneos. 1 y 3, corteza fronto-parietal izquierda y derecha, respectivamente. Las barras verticales en D indican la calibración a 50 μ V.

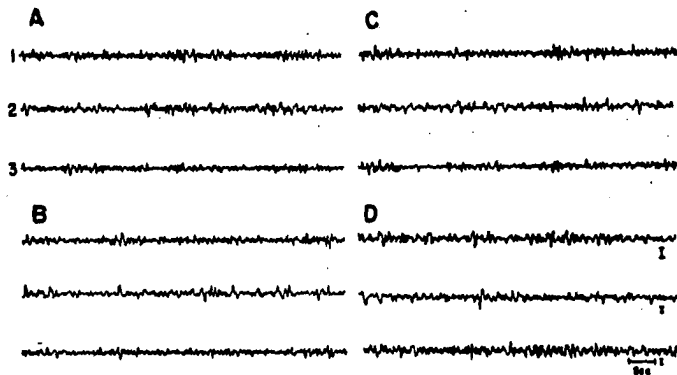


FIG. 5.3 Actividad electrocorticográfica y de la amígdala basolateral izquierda (canal de registro 2) en una rata tratada con 0.25 μ g de picrotoxina en la SNR y 60 μ g de atropina en el NC antero-dorso-lateral derechos. A y B, situación de registro antes y durante las microinyecciones; C y D a los 15 y 60 minutos después de los tratamientos simultáneos; 1 y 3 corteza fronto-parietal izquierda y derecha, respectivamente. Las barras verticales indican la calibración a 50 μ V.

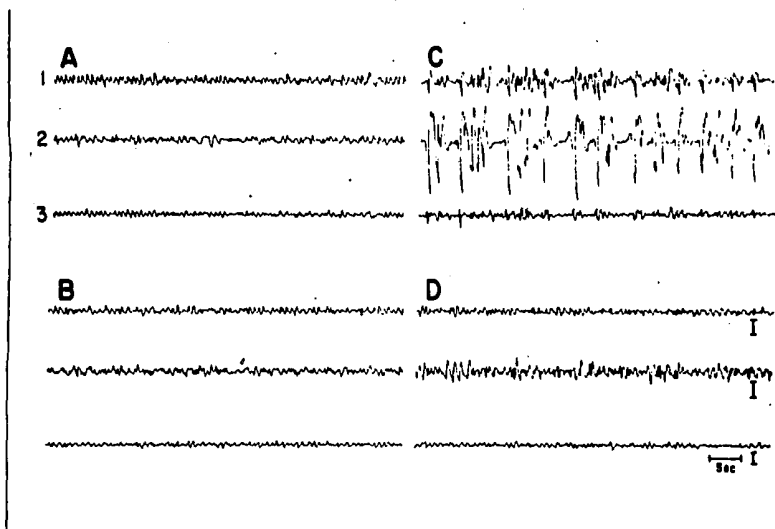


FIG. 5.4 Actividad electrocorticográfica y de la amígdala basolateral izquierda (canal de registro 2) de una rata tratada con 0.50 µg de picrotoxina en la sustancia nigra reticulada y salina en el NC antero-dorso-lateral izquierdos. A y B, situación de registro antes y durante las microinyecciones; C y D a los 20 y 60 minutos después de los tratamientos simultáneos; 1 y 3 corteza fronto-parietal izquierda y derecha, respectivamente. Las barras verticales indican la calibración a 50 µV.

es continua antes y después de la descarga epiléptica, y se normaliza la actividad electrográfica aproximadamente a las dos horas de registro.

Sesión de adquisición

Al aplicar la prueba de Barlett se encontró equivalencia de varianzas entre todos los grupos estudiados ($\chi^2 = 9.3$; $gl = 10$; $p = 0.5049$); por este motivo se procedió a comparar la retención de todos los grupos entre sí, mediante la prueba F de Fisher y no se exhibieron disparidades significativas: las latencias de retención para los diferentes grupos variaron entre 13.3 y 15.98 segundos.

La comparación de las latencias de escape al choque entre todos los grupos no acusaron diferencias significativas.

Primera sesión de retención.

La aplicación de la prueba de homogeneidad de varianzas (Barlett) estableció similares variaciones en la distribución de los puntajes de retención entre todos los grupos ($\chi^2 = 4.371$; $gl = 10$; $p = 0.9286$). El hecho de que se haya aceptado la hipótesis de igualdad de varianzas justificó el uso de la prueba de comparación de más de dos medias (F de Fisher). Se halló que los diferentes tratamientos combinados de salina y atropina, y picrotoxina y atropina produjeron efectos disímiles en la capacidad de retención ($F(10,108) = 3.154$; $p < 0.001$).

Una vez aparecidas las diferencias de las medias de latencias

de retención entre los grupos se procedió a detectar que grupos produjeron las divergencias; para ello se utilizó la prueba de la diferencia mínima significativa. Utilizaremos en adelante el símbolo d_m para representar la diferencia de medias observada, que resulta al comparar las medias de retención de un par de grupos.

Se obtuvo un estado de amnesia que dependió de la dosis de atropina utilizada (ver figura 5.5); de esta forma, el tratamiento simultáneo de salina y 30 μg de atropina no causaron perturbaciones en la retención de la tarea; el tratamiento simultáneo de salina en el SN y de 40 μg de atropina en el NC produjo un estado mediano de amnesia, que explicó las diferencias altamente significativas obtenidas al comparar este grupo con el grupo íntegro y S-A30 (p 's < 0.01) y con el grupo de salina-salina ($d_m = 247.1$; $D_m = 223.6$; $p < 0.02$). Del mismo modo, el tratamiento de salina y 60 μg de atropina en la SNR y en el NC ipsilateral, respectivamente produjo un estado marcado de amnesia, que lo hizo diferente del grupo tratado con salina-salina e íntegro (p 's < 0.001) (ver tabla 5.2).

La aplicación simultánea de picrotoxina, 0.25 μg , en la SNR y de salina en el NC ipsilateral, respectivamente no indujo alteraciones en la retención.

Fue evidente que la dosis subumbral de picrotoxina protegió a los animales en contra de las deficiencias en la retención que habían sido producidas por atropina. El tratamiento simultáneo de picrotoxina y atropina en dosis subumbrales (0.25 y 30

PRIMERA SESION DE RETENCION

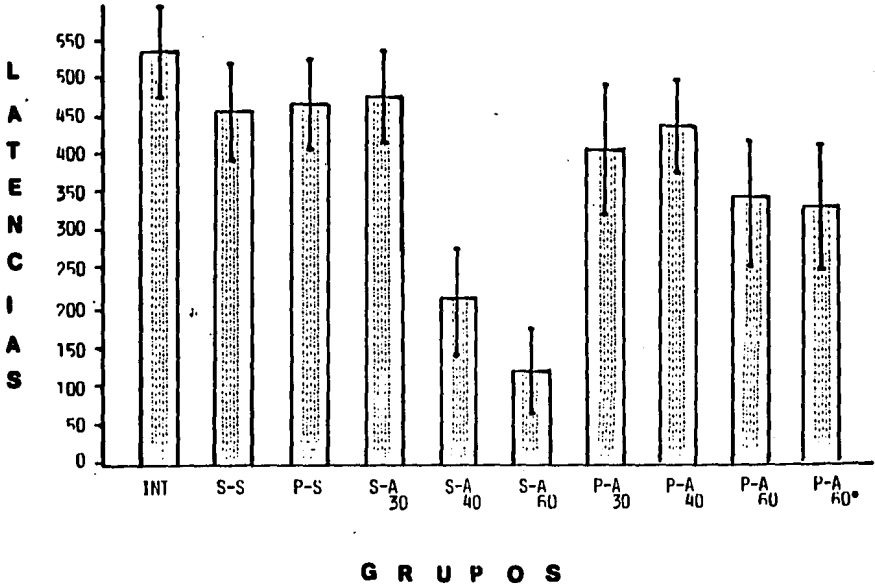


FIG. 5.5 Medias de retención manifestadas por los grupos probados 24 horas después del entrenamiento. Las abreviaciones significan lo siguiente: INT, ratas no implantadas que recibieron choque en el pie, pero que no fueron tratadas con substancia alguna; S-S, ratas inyectadas con salina en la substancia nigra reticulada (SNR) y salina en el núcleo caudado (NC) ipsilateral; P-S, tratamiento de picrotoxina, 0.25 ug en la SNR y salina en el NC ipsilateral; S-A 30, 40, 60, grupos de animales tratados con salina en la SNR y 30, 40 y 60 µg de atropina en el NC ipsilaterales; P-A 30, 40, 60, grupos de ratas que recibieron 0.25 µg de picrotoxina en la SNR y 30, 40 y 60 µg de atropina en el NC ipsilateral; P-A 60*, animales inyectados con picrotoxina en la SNR y 60 µg de atropina en el NC contralateral. Todos los animales implantados fueron tratados 10 minutos antes del entrenamiento de la tarea.

PRIMERA SESION DE RETENCION

| | INT | S - S | P - S | P - A 30 | P - A 40 | P - A 60 | P - A ^a 60 | S - A 30 | S - A 40 | S - A 60 |
|----|-------|-------|-------|-------------|-------------|-------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 10 | 12 | 12 | 11 | 10 | 12 | 10 |
| R | 530.8 | 461.1 | 471.4 | 409.0 | 439.2 | 335.4 | 333.4 | 478.4 | 214.0 | 122.6 |
| S | 186.3 | 209.2 | 192.9 | 269.2 | 203.0 | 251.1 | 270.6 | 190.9 | 235.6 | 175.4 |
| SR | 58.9 | 66.1 | 61.0 | 85.1 | 58.6 | 72.5 | 81.6 | 60.3 | 68.0 | 55.4 |

| | da | Dms | | da | Dms | | |
|---------------------------|-------|--------|-----------|-----------------------------|-------|--------|-----------|
| INT vs S-S | 69.7 | 196.8; | NS | S-A30 vs S-A40 | 264.4 | 248.4; | NS |
| INT vs P-S | 59.4 | 196.8; | NS | S-A30 vs S-A60 | 356.4 | 335.0; | p < 0.001 |
| INT vs P-A30 | 121.8 | 196.8; | NS | S-A40 vs S-A60 | 91.4 | 188.4; | NS |
| INT vs P-A40 | 91.6 | 188.4; | NS | | | | |
| INT vs P-A60 | 205.4 | 188.4; | p < 0.05 | | | | |
| INT vs P-A60 ^a | 197.4 | 192.3; | p < 0.05 | P-A30 vs S-A30 | 31.6 | 196.8; | NS |
| INT vs S-A30 | 52.4 | 196.8; | NS | P-A40 vs S-A40 | 295.0 | 236.8; | p < 0.01 |
| INT vs S-A40 | 316.8 | 248.4; | p < 0.01 | P-A60 vs S-A60 | 212.8 | 188.4; | p < 0.05 |
| INT vs S-A60 | 408.2 | 335.0; | p < 0.001 | P-A60 ^a vs S-A60 | 210.8 | 192.4; | p < 0.05 |

| | | | |
|---------------------------|-------|--------|-----------|
| S-S vs P-S | 10.3 | 196.8; | NS |
| S-S vs P-A30 | 52.1 | 196.8; | NS |
| S-S vs P-A40 | 21.9 | 188.4; | NS |
| S-S vs P-A60 | 125.7 | 188.4; | NS |
| S-S vs P-A60 ^a | 127.7 | 199.3; | NS |
| S-S vs S-A30 | 17.3 | 196.8; | NS |
| S-S vs S-A40 | 247.1 | 223.6; | p < 0.02 |
| S-S vs S-A60 | 338.5 | 335.0; | p < 0.001 |

TABLA 5.2 Resultados estadísticos obtenidos al comparar las medias de algunos pares de grupos. La abreviaciones significan lo mismo que las de la figura 5.5. Dms quiere decir diferencia mínima significativa, da, diferencia de medias observada en un par de grupos, y NS quiere decir no significativo. En la parte superior de la tabla se presentan las medias de retención, la desviación estandar y el error estandar de cada grupo, probados 24 horas después del entrenamiento.

microgramos, respectivamente) no ocasionó decrementos en la retención, como se esperaba inicialmente, de acuerdo con los modelos tradicionales de interacciones estriado nigrales GABA-dopamina (Kaiya y col., 1980); sin embargo, el tratamiento conjunto de picrotoxina, dosis subumbral, y 40 µg de atropina en la SNR y NC, respectivamente produjo retención equivalente a la de los sujetos íntegros y tratados con salina-salina, pero difirió este grupo respecto del grupo tratado con salina y atropina, 40 ug ($d_m = 295$; $Dms = 236.8$; $p < 0.01$).

Los animales tratados con la combinación de picrotoxina intranigral con la dosis amnésica más efectiva de atropina (60 µg) en el NC ipsi o contralateral mostraron una protección de las deficiencias en la retención ligeramente menor a la exhibida por el grupo de picrotoxina y atropina, 40 µg (ver figura 5.5); esta afirmación se fundamenta en las diferencias significativas halladas entre el grupo íntegro y los grupos de picrotoxina en la SN y atropina, 60 µg, ipsi o contralateral ($p's < 0.05$). A su vez estos grupos discreparon de manera altamente significativa con respecto del grupo salina-atropina, 60 µg ($p's < 0.05$).

Segunda sesión de retención

La prueba de Bartlett hizo ver varianzas homólogas entre los grupos ($X^2 = 4.331$; $gl = 10$; $p = 0.9307$); la comparación entre las medias de las latencias para los diferentes grupos estudiados demostró efectos diferenciales de los distintos tratamientos combinados salina-atropina y picrotoxina-atropina ($F(10,108) =$

SEGUNDA SESION DE RETENCION

L
A
T
E
N
C
I
A
S

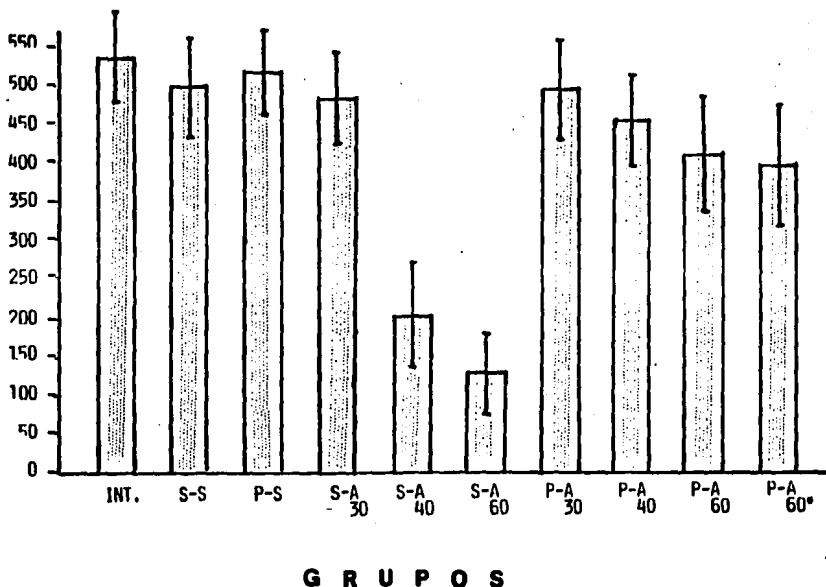


FIG. 5.6 Medias de las latencias de retención expresadas por los grupos a las 48 horas posteriores del entrenamiento. Las abreviaciones significan lo mismo que aquellas de la figura 5.5. Los tratamientos combinados de salina y atropina, picrotoxina y salina, picrotoxina y atropina, y salina-salina, en la SNR y NC, respectivamente fueron administrados 10 minutos antes del entrenamiento de la tarea.

SEGUNDA SESION DE RETENCION

| | INT | S - S | P - S | P - A 30 | P - A 40 | P - A 60 | P - A* 60 | S - A 30 | S - A 40 | S - A 60 |
|----|-------|-------|-------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| N | 10 | 10 | 10 | 10 | 12 | 12 | 11 | 10 | 12 | 10 |
| X | 540.6 | 499.7 | 518.6 | 496.3 | 453.7 | 403.7 | 393.3 | 485.2 | 204.9 | 130.7 |
| S | 107.5 | 212.5 | 178.0 | 205.2 | 216.5 | 263.6 | 271.6 | 188.1 | 240.0 | 178.3 |
| SR | 59.3 | 67.2 | 56.3 | 64.9 | 62.5 | 76.1 | 81.9 | 59.5 | 59.3 | 56.4 |

| | | dm | Das | | | dm | Das | | | | |
|-----|----|--------|-------|--------|-----------|--------|-----|-------|-------|--------|-----------|
| INT | vs | S-S | 40.9 | 196.8; | NS | S-A30 | vs | S-A40 | 280.3 | 248.4; | p < 0.01 |
| INT | vs | P-S | 22.0 | 196.8; | NS | S-A30 | vs | S-A60 | 354.5 | 335.0; | p < 0.001 |
| INT | vs | P-A30 | 44.3 | 196.8; | NS | S-A40 | vs | S-A60 | 74.2 | 188.4; | NS |
| INT | vs | P-A40 | 86.9 | 188.4; | NS | | | | | | |
| INT | vs | P-A60 | 136.9 | 188.4; | NS | | | | | | |
| INT | vs | P-A60* | 147.3 | 192.3; | NS | P-A30 | vs | S-A30 | 11.1 | 196.8; | NS |
| INT | vs | S-A30 | 55.4 | 196.8; | NS | P-A40 | vs | S-A40 | 248.8 | 236.0; | p < 0.01 |
| INT | vs | S-A40 | 335.7 | 320.7; | p < 0.001 | P-A60 | vs | S-A60 | 273.0 | 188.4; | p < 0.01 |
| INT | vs | S-A60 | 409.9 | 335.0; | p < 0.001 | P-A60* | vs | S-A60 | 262.6 | 253.5; | p < 0.01 |

| | | | | | |
|-----|----|--------|-------|--------|-----------|
| S-S | vs | P-S | 18.9 | 196.8; | NS |
| S-S | vs | P-A30 | 3.4 | 196.8; | NS |
| S-S | vs | P-A40 | 46.0 | 188.4; | NS |
| S-S | vs | P-A60 | 96.0 | 188.4; | NS |
| S-S | vs | P-A60* | 106.4 | 199.3; | NS |
| S-S | vs | S-A30 | 14.5 | 196.8; | NS |
| S-S | vs | S-A40 | 294.8 | 248.4; | p < 0.01 |
| S-S | vs | S-A60 | 369.0 | 335.0; | p < 0.001 |

ANEXO 5.3 Valores de la diferencia de medias (dm) y de la diferencia mínima significativa (ms) obtenidos al comparar las medias de retención de algunos pares de grupos. Las abreviaciones significan lo mismo que aquellas de la figura 5.5. NS, no significativo. En la parte superior de la tabla se muestran las medias de retención, la desviación estándar y el error estándar de cada grupo, probados a las 48 horas posteriores del entrenamiento.

3.79; $p < 0.001$).

Nuevamente la atropina indujo empeoramientos en la retención dependientes, de la dosis (ver figura 5.6); el grupo salina-atropina, 30 μg , manifestó una retención normal, parecida a la de los grupos íntegro y salina-salina; el grupo salina-atropina, 60 μg , desplegó un estado amnésico mayor que la del grupo salina-atropina, 40 μg ; el primer grupo sostuvo diferencias altamente significativas con respecto del grupo íntegro y del tratado con salina-salina (p 's < 0.001) y el segundo, también mantuvo diferencias altamente significativas con el grupo íntegro ($d_m = 335.7$; $D_m = 320.7$; $p < 0.001$) y con el grupo salina-salina ($d_m = 294.8$; $D_m = 248.4$; $p < 0.01$).

La aplicación de picrotoxina, 0.25 μg , y salina no indujo cambios en la retención (ver figura 5.6 y tabla 5.3); los animales tratados con la combinación de picrotoxina y la dosis amnésica menos efectiva (40 μg) produjo una retención normal de la tarea; este grupo mantuvo diferencias altamente significativas del grupo salina-atropina, 40 μg ($d_m = 248.8$; $D_m = 236.8$; $p < 0.01$); los grupos tratados con picrotoxina juntamente con la dosis amnésica más efectiva de atropina (60 μg) en el NC ipsi o contralateral expresaron, ahora, una retención normal de la tarea: estos grupos se diferenciaron de manera altamente significativa del grupo salina-atropina, 60 μg (p 's < 0.01).

DISCUSION

La administración de salina y atropina, juntamente en la substancia nigra y en el NC produjo un estado de anestesia; efecto que dependió de la dosis de atropina utilizada. La administración simultánea de salina en la substancia nigra y de atropina 30 μ g en el NC produjo una excelente ejecución de la tarea, que fue equivalente a la del grupo control tratado con salina en la substancia nigra y en el NC, y a la del grupo íntegro, que no recibió tratamiento.

El grupo tratado conjuntamente con las dosis mínimas de picrotoxina (0.25 μ g) y atropina (30 μ g), que por separado no produjeron alteraciones en la retención de largo plazo, ni anomalías conductuales, ni electrográficas, también exhibió excelente retención de la tarea.

El modelo de Kaiya (1980) predice que la activación de los receptores GABAérgicos nigrales inhiben la liberación de dopamina en el estriado, y esto se traduciría en un incremento en la liberación de acetilcolina. Siguiendo tal razonamiento, el bloqueo parcial de los receptores GABAérgicos nigrales por la aplicación de una dosis inefectiva de picrotoxina (0.25 μ g), al limitar algo la influencia inhibitoria que el GABA estriado-nigral ejerce directamente sobre las neuronas dopaminérgicas, se incrementaría parcialmente la liberación de dopamina, y esta no sería suficiente para inhibir en su totalidad la actividad de las neuronas colinérgicas; de manera que la parte de neuronas colinérgicas que

quedaran aún activas serían suficientes para lograr la consolidación de la memoria. Los resultados del grupo P-S estaban en esa tónica.

Pero la inhibición de una cierta cantidad de neuronas colinérgicas ejercida por la acción indirecta del bloqueo parcial de los receptores GABAérgicos, combinado con el bloqueo funcional de aquellas neuronas colinérgicas que quedaran aún activas, resultaría, según el modelo de Kaiya, en un estado de amnesia. En teoría esto debería de lograrse al combinar una dosis mínima de picrotoxina intranigral y otra dosis mínima de atropina intra-NC. Sin embargo, los resultados no fueron los esperados: el grupo P-A 30 mostró una excelente retención de la tarea.

La esperanza de encontrar una interacción entre el GABA nigral y la acetilcolina estriatal que estuviera a tono con los modelos tradicionales de interacciones neuroquímicas del sistema nigro-estriatal (Kaiya y col., 1980; Penny y Young, 1983) se guardaba aún en el grupo P-A 40. El razonamiento seguido para este grupo experimental fue que si se combinaba una dosis de atropina (que por separado había producido un estado de amnesia, pero no total) con otra dosis mínima de picrotoxina que no había alterado la retención produciría un estado de amnesia total, o bien que fuera equivalente a la del grupo tratado simultáneamente con salina intranigral y 60 µg de atropina en el NC. Nuevamente los resultados no fueron los esperados; el grupo P-A 40 manifestó excelente retención de la tarea.

Fue evidente que la administración de una dosis baja de picrotoxina protegió a los animales en contra de un estado amnésico producido por la aplicación de atropina en el NC. En los grupos tratados simultáneamente con una dosis baja de picrotoxina intranigral 0.25 μg . y una dosis óptima de atropina, 60 μg . en el NC ipsilateral o contralateral (que por sí sola había producido un estado marcado de amnesia) fue observada a las 24 horas una protección menor contra las deficiencias de la memoria, pero a las 48 horas la protección fue completa.

Una explicación asequible de la protección contra las deficiencias en la memoria de largo plazo, suscitada por la inyección de picrotoxina en la SNR, minutos antes del entrenamiento de la tarea, puede expresarse en la siguiente secuencia de hechos: las neuronas no dopaminérgicas de la sustancia nigra reticulada fueron desinhibidas por la microinyección de picrotoxina intranigral; la actividad aumentada de estas neuronas provocó inhibición de las neuronas dopaminérgicas; la actividad decremada de estas neuronas significó la liberación decremada de dopamina en el estriado ipsi y contralateral, resultando en un incremento en la liberación de acetilcolina. Consecuentemente, a los 10 minutos en los que se realizó el entrenamiento de la tarea resulta verosímil que estuviera en su apogeo la liberación de acetilcolina; y no obstante de que una buena porción de receptores muscarínicos estaban siendo bloqueados por la atropina, la acetilcolina liberada tal vez activó algunos receptores muscarínicos que quedaron aún libres y un suficiente número de receptores

nicotínicos los cuales fueron suficientes para permitir la consolidación de la memoria.

Suficientes evidencias están en favor de esta explicación:

1) Las neuronas positivas a la descarboxilasa del ácido glutámico están localizadas en la pars reticulada de la substancia nigra (Ribak, 1981); son neuronas pequeñas y medianas, de circuito local; algunas envían proyecciones a través de la substancia nigra y otras son eferentes que dan origen a colaterales axónicas (Jurasca y col., 1977). Estas neuronas parecen enviar colaterales a las neuronas dopaminérgicas de la pars compacta (Beart, 1984). Las neuronas pequeñas (10 a 12 μ m) están consideradas como interneuronas; comprenden casi el 10% en la substancia nigra compacta y el 40% en la substancia nigra reticulada (Carpenter, 1984).

2) Casi todas las fibras estriado-nigrales terminan sobre los cuerpos y dendritas de la substancia nigra reticulada (Kemp, 1970); una buena parte de estas proyecciones se originan de neuronas espinosas tipo I que contienen neurotransmisores inhibitorios: GABA y encefalina.

3) Las neuronas de la substancia nigra reticulada, comparativamente a las neuronas de la región compacta exhiben una sensibilidad pronunciada a la acción inhibitoria del GABA aplicado iontoforéticamente (Waszczak y col., 1981).

4) El GABA aplicado iontoforéticamente en la substancia nigra reticulada incrementa el disparo de las células dopaminérgicas de la substancia nigra compacta, debido probablemente a una

desinhibición (Grace y Bunney, 1979).

5) La microinyección de GABA o de muscimol en la substancia nigra reticulada aumenta la liberación de dopamina en el estriado (Martin y Haubrich, 1980; Kawata y col., 1986).

Todo este cuerpo de hechos insinúa que la liberación de GABA estriado-nigral inhibe a interneuronas GABAérgicas inhibitorias de la substancia nigra reticulada y compacta; la actividad decrementada de las interneuronas GABAérgicas nigrales o bien de colaterales de las neuronas GABAérgicas de proyección nigral induce desinhibición de las neuronas dopaminérgicas; a su vez la actividad incrementada de las neuronas dopaminérgicas induce una liberación marcada de este neurotransmisor en el estriado, lo que trae como resultado un decremento en la actividad de las neuronas colinérgicas estriatales.

Partiendo de este razonamiento se esperaría que la aplicación local de agonistas del GABA o bien de GABA minutos antes del entrenamiento de evitación pasiva produjera un estado de amnesia equivalente al producido por la aplicación de atropina o escopolamina en el NC. Hay datos experimentales indirectos que parecen apoyar esta afirmación. Los estudios de evitación condicionada indican que la elevación del GABA cerebral está asociado con un decremento significativo en la respuesta de evitación y con un decremento en la presión de palanca, con una dosis ip de gama-acetilen-GABA que no causa deficiencias locomotoras o conductuales (Palfreyman y col., 1979).

CAPITULO VI

DISCUSION GENERAL

En 1968 Brown y Jenkins descubrieron un procedimiento de adquisición instrumental que transformó radicalmente nuestras ideas acerca del aprendizaje. El procedimiento consistió en iluminar, cada 60 segundos, una tecla de respuesta durante 8 segundos, la cual fue seguida por la entrega de alimento, a pichones privados de comida; lo sorprendente de esto fue que aún cuando la entrega del alimento fue independiente de las acciones todos los pichones empezaron a picotear la tecla iluminada, después de sólo algunos apareamientos de tecla iluminada y alimento. Una vez que el picotazo ocurrió, cada picotazo en la tecla iluminada extinguió la luz de la misma y produjo entrega inmediata de comida. Desde ese entonces, se pensó que la topografía de la respuesta condicionada debería ser similar a la de la respuesta incondicionada para que fuese posible el automoldeo.

Aquí reportamos un procedimiento de automoldeamiento similar al utilizado por Brown y Jenkins, excepto que desde el primer palancazo operaron las contingencias de reforzamiento. De hecho, confirmamos observaciones previas (Bernúdez-Rattoni y col., 1986) de que el automoldeamiento es posible aunque difiera la topografía de la respuesta condicionada e incondicionada.

Suponemos que debe haber una topografía similar entre el

estímulo condicionado original (luz en el bebedero) y el nuevo estímulo condicionado (luz en la palanca) para que se instaure una respuesta condicionada de topografía diferente a la respuesta incondicionada; en este caso la luz en el bebedero se vuelve redundante y ahora, la luz en la palanca predice la aparición del estímulo incondicionado, pues esta información está disponible a la rata antes de que se ilumine el bebedero (Doré, 1983).

Las funciones mnémicas de la acetilcolina estriatal han sido estudiadas con la ayuda de la técnica de inyección intracerebral local. Los resultados obtenidos por nuestros y otros laboratorios justifican que un cierto nivel de funcionamiento de las interneuronas de acetilcolina es imprescindible para la formación de memorias que acentúan atributos de afecto y tiempo, como la evitación activa y pasiva; de atributos senso-perceptuales y de respuesta, como la presión de palanca controlada por un programa de reforzamiento continuo y el recorrido de un laberinto; y de atributos de respuesta y de espacio, como la alternación espacial y el automoldeamiento (Cfr. Prado-Alcalá, 1985). De acuerdo con la teoría neurobiológica de Kesner (1986) todas estas tareas de aprendizaje formarían parte del sistema de memoria basada en los datos y específicamente corresponderían a memorias de contexto interno, de asociación estímulo-respuesta y de localización egocéntrica.

Siendo así nos encontramos que el caudado es una estructura

no tan especializada para la representación exclusiva de una clase de información; puede tratarse de ciertas estructuras relacionadas con el sistema nigroestriatal en las que cualquier neurona configura algunos patrones independientes de asociaciones, es decir, toda neurona es muy versátil para la representación de diversos significados. En los términos de Robert Miller (1981) el caudado es una estructura omniconectada, porque sus unidades individuales (neuronas) influyen todo el resto; en esta estructura cerebral pueden existir, para él, "neuronas en las que residen el centro excitatorio de dos gestalts parecidas, mientras que en otras neuronas puede encontrarse el fondo inhibitorio de ambas gestalts, y en otras, pueden residir, al mismo tiempo, el centro excitatorio de algunas gestalts y el fondo inhibitorio de otras".

Los estudios mencionados en el párrafo anterior parecen encajar en el último principio de Robert Miller: el centro excitatorio e inhibitorio de varias gestalts parecen codificarse por una población particular de neuronas colinérgicas.

Robert Miller (1981) dice que antes de una experiencia particular de aprendizaje las unidades azarosamente interconectadas se encuentran en un estado inerte, pero durante el periodo crítico de consolidación se inicia y se fortalece la seguridad sináptica de las unidades interconectadas. ¿De qué manera las interneuronas colinérgicas inician y desarrollan la seguridad sináptica, necesaria para la adquisición de tareas de aprendizaje?

El modelo de Scheel-Krüger (1986) referente a las interacciones GABA-dopamina del sistema nigroestriatal puede ayudarnos a dar respuesta a la interrogante planteada:

La estimulación de la actividad colinérgica estriatal, mediante el tratamiento de colina, ocasionaría la excitación de interneuronas GABA, las cuales inhibirían a las neuronas GABA eferentes, que hacen contacto sináptico con neuronas e interneuronas de la sustancia nigra reticulada; este efecto produciría desinhibición de las colaterales de neuronas GABA eferentes y de interneuronas, que también contienen GABA, lo que traería como resultado una menor actividad sináptica de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales; de esta forma, al restar el efecto inhibitorio que las neuronas dopaminérgicas ejercen sobre las interneuronas de acetilcolina se acentuaría la seguridad sináptica de estas interneuronas.

De los dos experimentos planteados se puede dejar claramente establecido que los procesos de consolidación de la memoria basada en los datos, denominada por Olton (1983) memoria de trabajo, realizados en el sistema nigroestriatal dependen no sólo del fortalecimiento sináptico del circuito reverberante establecido entre las interneuronas de acetilcolina (y consecuentemente, de los niveles de acetilcolina), sino también de una interacción neuroquímica dentro de la cual se encuentran involucrados el GABA nigral y la dopamina y la acetilcolina nigroestriatales. En el

segundo estudio se afectaron a los sistemas GABA nigral y colinérgico estriatal, dando por sentado que las neuronas dopaminérgicas de la zona compacta nigral también serían afectadas, por estar situadas en el intermedio de esos eslabones extremos: GABA estriado nigral y acetilcolina estriatal.

En este estudio se encontró que tratamientos de salina y atropina en la SN y en el NC, respectivamente produjeron un estado amnésico dependiente de la dosis de atropina; la aplicación de picrotoxina (0.25 µg) y salina no indujo cambios en la memoria; sin embargo, los grupos de animales tratados con la combinación de picrotoxina con las dosis amnésicas de atropina (40 y 60 µg) mostraron una retención normal de la tarea de prevención pasiva. Estos resultados sugieren que el sistema colinérgico-GABAérgico estriado-nigral y el dopaminérgico-colinérgico nigroestriatal interactúan modulándose reciprocamente durante el periodo crítico de la instauración de las operantes.

En el capítulo anterior se propuso un mecanismo de interacción GABA-dopamina estriado-nigral y dopamina-acetilcolina nigroestriatal para explicar el porque la picrotoxina protegió a los animales en contra de la amnesia producida por atropina intra-caudada. Para ello se acudió al modelo de Carpenter (1984) y al de Scheel- Krüger (1986). Se concluyó que la inhibición de la vía GABAérgica estriado-nigral, así como la dopaminérgica nigroestriatal eran indispensables para el fortalecimiento

sináptico del circuito reverberante establecido entre las interneuronas de acetilcolina (Kaiya y col., 1980).

Los estudios funcionales apoyan la hipótesis de que la estimulación del receptor de la dopamina activa las vías GABAérgicas eferentes, por ejemplo, las vías estriado-entopeduncular, estriado-SNR, núcleo accumbens-pálido ventral, y posiblemente las vías accumbens-SNR y accumbens-área tegmental ventral. Probablemente, la interacción entre las neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales y las neuronas GABAérgicas eferentes estriado-nigrales pueda implicar a interneuronas GABA estriatales (Bolas y col., 1985). Tendríamos pues, que la inyección de picrotoxina en la zona reticulada de la SN disminuiría la liberación de dopamina en el estriado, gracias a la desinhibición de las neuronas GABA locales y eferentes de la SNR; debe recordarse que estas neuronas establecen contacto sináptico con las neuronas dopaminérgicas de la SNC. La función dopaminérgica decremada en el estriado debería, de acuerdo con el modelo de Carpenter (1984), desinhibir a las interneuronas GABA locales e inhibir, adicionalmente a las neuronas GABA eferentes estriado-SNR.

Por último, sugerimos que la sustancia nigra puede presentar, al igual que el estriado (Prado-Alcalá, 1985) una heterogeneidad funcional sobre los procesos de aprendizaje; tal sugerencia la proporcionan los estudio anatómo-funcionales, a

saber: las principales vías GABAérgicas que se originan del núcleo accumbens son dirigidas a la parte rostral y medial de la sustancia nigra, zona compacta (Scheel-Krüger (1986), y las principales vías GABAérgicas estriado-nigrales terminan en la SNR (Brownstein y col., 1977). Probablemente, la inyección de la dosis subumbral de picrotoxina en la SNC, juntamente con una dosis subumbral de atropina en el NC habría generado un estado amnésico.

Al principio, para entender la fisiología del aprendizaje tuvo que simplificarse, desglosar circuitos neuroquímicos en elementos simples (análisis); ahora estamos en la etapa de recombinar esas partes para reconstruir una teoría neurobiológica del aprendizaje. Creo que nos acercamos al viejo sueño de Teitelbaum (1968): nos encontramos en el tiempo adecuado "para que las metodologías fisiológica y operante se unan en ataque experimental e intelectual concertado sobre los niveles de integración de la operante".

BIBLIOGRAFIA

- Abraham, L., Potegal, M. and Miller, S., Evidence for caudate nucleus involvement in an egocentric spatial task: Return from passive transport, *Physiological Psychology*, 11 (1983) 11-17.
- Alemán, V., Camacho, J.L., Bermúdez-Rattoni, F. and Prado-Alcalá, R.A., Differential (³S) methionine incorporation into protein of different brain areas of the rat during a learning task, *Behavioral and Neural Biology*, 36 (1982) 137-145.
- Ardila, R., *Psicología Fisiológica*, Ed. Trillas, 2da. edición, 1981.
- Baker, J.L., Kesner, R.P. and Michael, R.E., Differential effects of a reminder cue on amnesia induced by stimulation of amygdala and hippocampus, *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 95 (1981) 312-321.
- Barker, L.A., Glick, S.D., Green, J.P. and Khandelwal, J.K., Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one-trial passive training, *Neuropharmacology*, 21 (1982) 183-185.
- Beart, P.M., Basal ganglia transmitter and receptors. In J.S. McKenzie, R.E. Kemm and L.N. Wilcock (Eds.), *The Basal Ganglia Structure and Function*. New York: Plenum Press, 1984, 261-296.
- Berman, R.F., Studies of memory processes using electrical brain stimulation. In J.L. Martinez and R.P. Kesner (Ed.), *Learning and Memory. A Biological View*. New York: Academic Press, 1986, 341-372.
- Bermúdez-Rattoni, F., Mújica-Gonzalez, M. and Prado-Alcalá, R.A., Is cholinergic activity of the striatum involved in acquisition of positively-motivated behaviors, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24 (1986) 715-719.
- Black, J.E. and Greenough, W.T., Developmental approaches to the memory process. In J.L. Martinez and R.P. Kesner (Ed.), *Learning and Memory. A Biological View*. New York: Academic Press, 1986, 55-80.
- Bolam, J.P., Powell, J.F., Wu J-Y and Smith A.D., Glutamate decarboxylase-immunoreactive structures in the rat neostriatum: A correlated light and electron microscopic study including a combination of golgi impregnation with immunocytochemistry *Journal of Comparative Neurology*, 237 (1985) 1-20.

- Brown, P.L and Jenkins, H.M., Auto-shaping of the pigeon s key-peck, *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 11 (1968) 1-8.
- Brownstein, M.J., Mroz, E.A., Tappaz, M.L., Leeman, S.E., On the origin of substance P and glutamic acid decarboxylase (GAD) in the substantia nigra, *Brain Research*, 135 (1977) 315-323.
- Brust-Carmona, H., Prado-Alcalá, R.A., Grinberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, F.J. and Zarco-Coronado, J., Modulatory effects of acetylcholine and catecholamines in the caudate nucleus during motor conditioning. In *Neurohumoral Coding of Brain Function*, edited by R.D. Myers and R.R. Druker-Collin. New York: Plenum Press, 1974, 171-187.
- Byers, D., Davis, R.L. and Keiger, J.A., Defect in cyclic AMP-phosphodiesterase due to the dunce mutation of learning in *Drosophila melanogaster*, *Nature*, 289 (1981) 79-81.
- Carpenter, M.B., Interconnections between the corpus striatum and brain stem nuclei, In J.S. McKenzie, R.E. Kemm and L.N. Wilcock (Ed), *The Basal Ganglia*. New York: Plenum Press, 1984, 1-68.
- Cobos-Zapiain, G., Prado-Alcalá, R.A., Aplicación de picrotoxina en la sustancia nigra reticulada: efectos sobre la memoria de largo plazo en una tarea sobreentrenada, *XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Guanajuato, México, 1986.
- Cook, D.G. and Kesner, R.P., Memory for egocentric spatial localization in an animal model of advanced Huntington s disease, *Neuroscience Abstracts*, 10 (1984) 133.
- Cools, A.R., Jaspers, R., Schwartz, M., Sontag, K.H., Vrijmoed-de Vries, M. and Van den Bercken, J., Basal ganglia and switching motor programs, In J.S. McKenzie, R.E. Kemm and L.N. Wilcock (Ed.), *The Basal Ganglia*. New York: Plenum Press, 1984, 513-544.
- Coyle, J.T. and Schwartz, R., The use of excitatory amino acids as selective neurotoxins. In A. Bjorklund and T. Hokfet (Ed.), *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, vol. 1, *Methods in Chemical Neuroanatomy*, Elsevier Science, Publishers, New York, 1983, 508-527.
- Chavéz-Martínez, M.E. y Prado-Alcalá, R.A., Núcleo caudado y Aprendizaje. XXVII. Interferencia con la memoria de largo plazo por la aplicación de agentes bloqueadores del GABA, *XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Guanajuato, México, 1986.

- Diamond, M.C., Extensive cortical depth measures and neuron size increases in the cortex of environmentally enriched rats, *Journal of Comparative Neurology*, 131 (1967) 357-364.
- Díaz del Guante, M.A., Carbonell, C. y Galindo, A., Núcleo caudado y aprendizaje. II. Efectos de la inyección de colina sobre la adquisición de una respuesta instrumental, *XXX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Xalapa, México, 1987.
- Díaz del Guante, M.A. y Prado-Alcalá, R.A., Efectos de la microinyección de escopolamina en el núcleo caudado sobre los procesos de la memoria de corto y largo plazo, *XXIX Congreso Internacional de Psicología*, Acapulco, México, 1984.
- Díaz del Guante, M.A. y Prado-Alcalá, R.A., Núcleo Caudado y Aprendizaje. XXI. Efectos del bloqueo colinérgico sobre el mantenimiento de una conducta de prevención pasiva, *XXV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Colima, México, 1983.
- Díaz del Guante, M.A. y Prado-Alcalá, R.A., Memoria y mecanismos colinérgicos del núcleo caudado, *III Congreso Nacional de Análisis de la Conducta*, México, 1982.
- Divac, I., Rosvold, H.E. and Szwarcbat, M., Behavioral effects of selective ablation of the caudate nucleus, *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 63 (1967), 184-190.
- Doré, F. *L'Apprentissage. Une approche Psycho-Ethologique*, Maloine, Editeur, Paris, 1983.
- Dudai, Y., Mutations effect storage and use of memory differentially in *Drosophila*, *Proceeding of the National Academy of Sciences*, U.S.A., 80 (1983), 5445-5448.
- Dunnet, S.B. and Iversen, S.D., Learning impairments following selective kainic acid-induced lesions within the neostriatum of rats, *Behavioral Brain Research*, 2 (1981), 189-209.
- Dunnet, S.B. and Iversen, S.D., Neurotoxic Lesions of ventrolateral but not anteromedial neostriatum in rats impair differential reinforcement of low rates (DRL) performance, *Behavioral Brain Research*, 6 (1982), 213-216.
- Edwards, A.L., *Statistical Methods*. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc. 1973.

- Gale, K. and Casu, M., Dynamic utilization of GABA in substantia nigra: regulation by dopamine and GABA in the striatum, and its clinical and behavioral implications, *Molecular and cellular Biochemistry*, 39 (1981), 369-405.
- Giordano, M. and Prado-Alcalá, R.A., Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen. Protective effect of the negative reinforcer, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24 (1986), 905-909.
- Grace, A.A. and Bunney, B.S., Low doses of apomorphine elicit two opposing influences on dopamine cell electrophysiology, *Brain Research*, 333 (1985), 285-298.
- Grace, A.A. and Bunney, B.S., Paradoxical GABA excitation of nigral dopaminergic cells: Indirect mediation through reticulata inhibitory neurons, *European Journal of Pharmacology*, 59 (1979), 211-218.
- Haycock, J.W., Deadwyler, S.A., Sideroff, S.I. and McLaugh, J.L., Retrograde amnesia and cholinergic systems in the caudate-putamen complex and dorsal hippocampus of the rat, *Experimental Neurology*, 41 (1973), 201-213.
- Hebb, D. O., *The Organization of Behavior*. New York: Wiley, 1949.
- Huston, J.P. and Stanbli, U., Retrograde amnesia produced by post-trial injection of substance P into substantia nigra, *Brain Research*, 159 (1978), 468-472.
- Jope, R.S., Conditioned avoidance response and acetylcholine and choline levels in rat brain, *Journal of Neurochemistry*, 30 (1978), 1625-1626.
- Juraska, J.A., Wison, C.J. and Groves, P.M., The substantia nigra of the rat: A Golgi study, *Journal of Comparative Neurology*, 172 (1977), 585.
- Kaiya, H. Kreutzberg, G.W. and Namba, M., Ultrastructure of acetylcholinesterase synthesizing neurons in the neostriatum *Brain Research*, 187 (1980), 369-382.
- Kanata, K., Sugimoto, A., Kameyama, S., Effect of chronic haloperidol on dopamine release following microinjection of GABA into the substantia nigra zona reticulata in the rat, *Brain Research*, 380 (1986), 1-6.

- Kandel, R.E., Cellular mechanisms of learning and the biological bases of individuality, In E.R. Kandel and J.H. Schwartz (Ed.), *Principles of Neural Science*. New York: Elsevier Science Publishing, 1985, 810-813.
- Kapp, B. S. and Pascoe, J.P., Memory: Vertebrate model systems. In J.L. Martinez and R.P. Kesner (Ed.), *Learning and Memory. A Biological View*. New York: Academic Press, 1986, 299-335.
- Kemp, J.M., The termination of strio-pallidal and strio-nigral fibers, *Brain Research*, 7 (1970), 125.
- Kesner, R.P., Neurobiological views of memory, In J.L. Martinez and R.P. Kesner (Ed.), *Learning and Memory. A Biological View*, New York: Academic Press, 1986, 399-435.
- Kesner, R.P. and Andrus, R.G., Amygdala stimulation disrupts the magnitude of reinforcement contribution to long-term memory *Physiological Psychology*, 10 (1982), 55-59.
- Kim, H.J. and Routtenberg, A., Retention disruption following post-trial picrotoxin injection into the substantia nigra, *Brain Research*, 113 (1976) 620-625.
- Koning, J.F.R. and Klippel, R.A., *The Rat Brain: A stereotaxic Atlas*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1963.
- Kupfermann, I., Learning. In E. R. Kandel and J.H. Schwartz (Ed.), *Principles of Neural Science*. Second edition. New York: Elsevier Science Publishing Co., 1985, 805-815.
- Lynch, G. and Baudry, The biochemistry of memory: A new and specific hypothesis, *Science*, 224 (1984), 1057-1063.
- Marler, P. Bird song and speech development: could there be parallels?, *American Scientist*, 58: 669-673, 1970.
- Martin, G.E. and Haubrich, D.R., GABAergic mechanisms in the substantia nigra, *Nature (London)*, 283 (1980), 697-698.
- McDonough, J.R. and Kesner, R.P., Amnesia produced by brief electrical stimulation of the amygdala or dorsal hippocampus in cats, *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 77 (1971), 171-178.
- McKenzie, J.S., Structure and function of the basal ganglia. A point of view, In J.S. McKenzie, R.E. Kemm and L.N. Wilcock (Ed.), *The Basal Ganglia*. New York: Plenum Press, 1984, 545-556.

- Miller, R., *Meaning and purpose in the Intact Brain*, New York: Oxford University Press, 1981.
- Mishking, M., A memory system in the monkey, *Philosophical transactions Royal Society of London B.*, 298 (1982), 85-95.
- Morris, R.G.M., An attempt to dissociate "spatial-mapping" and "workin-memory" theories of hippocampus function. In W. Seifert (Ed.), *Neurobiology of the hippocampus*. New York: Academic Press 1983.
- Neill, D.B. Herdon, J.G., Anatomical specificity within rat striatum for the dopaminergic modulation of DRL responding and activity, *Brain Research*, 153 (1978), 529-538.
- Olton, D.S., Memory functions and the hippocampus. In W. Seifert (Ed.), *Neurobiology of the hippocampus*. New York: Academic Press 1983.
- O'keffe, J. and Nadel, L., *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Oxford University Press, 1978.
- Palfreyman, M.G., Huot, S., Lippert, B., Schechter, P.J., Gaba-dopamine interactions studies using a new enzyme-activated irreversible inhibitor of GABA-transaminasa, γ -acetylenic GABA, In P. Krosggaard-Larsen, J. Scheel-Küger and H. Kofod (Ed.), *GABA-Neurotransmitter. Pharmacochemical, Biochemical and Pharmacological Aspects*. Copenhagen: Munksgaard and New York: Academic Press, 1979, 432-446.
- Paxinos, G. and Watson, CH., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press, 1982.
- Penny, J.B. and Young, A.B. Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders, *Annual Review of Neuroscience*, 6 (1983), 73-94.
- Pérez-Ruiz, C. y Prado Alcalá, R.A., Núcleo caudado y Aprendizaje. Efectos de la aplicación de un anestésico local sobre los procesos de memoria de corto y de largo plazo dependientes de la magnitud del reforzador negativo, *XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Guanajuato, México, 1986.
- Piaget, J., Development and learning, *The Journal of Research Science Teaching*, vol. 2, 3, 176-186, 1964.
- Piaget, J., *Six Etudes de Psychologie*, Editions Gonthier, Ginebra, 1964.
- Polgar, S., Sanberg, P.R. and Kirby, R.J., Is the striatum involved in passive avoidance behavior? A commentary, *Physiological psychology*, 9 (1981) 354-358.

- Prado-Alcalá, R.A., Is cholinergic activity of the caudate nucleus involved in memory?, *Life Sciences*, 37 (1985), 2135-2142.
- Prado-Alcalá, R.A., Bernúdez Rattoni, F., Velázquez-Martínez, D.N. and Bacha, M.G., Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: Overtraining induced protection against behavioral deficits, *Life Sciences*, 23 (1978) 889-896.
- Prado-Alcalá, R.A., Cepeda, G., Verduzco, L., Jiménez, A. and Vargas-Ortega, E., Effects of cholinergic stimulation of the caudate nucleus on active avoidance, *Neuroscience Letters*, 15 (1984), 31-36.
- Prado-Alcalá, R.A., and Cobos Zapáin, G.G., Improvement in learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus, *Neuroscience Letters*, 14 (1979), 253-258.
- Prado-Alcalá, R.A., Cruz-Morales, S.E., López-Miro, F.A., Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors, *Neuroscience Letters*, 18 (1980), 339-345.
- Prado-Alcalá, R.A., Fernández-Samblancat, M. and Solodkin-Herrera, M., Injections of atropine into the caudate nucleus impair the acquisition and the maintenance of passive avoidance, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22 (1985), 243-347.
- Prado-Alcalá, R.A., Grinberg-Zylberbaum, J., Alvarez-Leefmans, F.J., Gómez, G., Singer, S. and Brust-Carmona, H., A possible caudate cholinergic mechanism in two instrumental conditioned responses, *Psychopharmacologia*, 25 (1972), 339-346.
- Prado-Alcalá, R.A., Kaufman, A.P. and Moscona, R., Scopolamine and KCl injections into the caudate-putamen. Overtraining-induced protection against deficits of learning, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 12 (1980), 249-253.
- Prado-Alcalá, R.A., Signoret, L. and Figueroa, M., The time dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 15 (1981), 633-636.
- Prado-Alcalá, R.A., Signoret-Edward, L., Figueroa, M. Giordano, M. and Barrientos, M.A., Post-trial injection of atropine into the caudate nucleus interferes with long-term but not with short-term retention of passive avoidance, *Behavioral and Neural Biology*, 42 (1984), 81-84.

- Rasmussen, K. and Jacobs, B.L., Single unit activity of locus coeruleus neurons in the freely moving cat. II. Conditioning and Pharmacologic studies, *Brain Research*, 371 (1986), 335-344.
- Ribak, C.E., The GABAergic neurons of the extrapyramidal system as revealed by immunocytochemistry, In G. Dichiaro and G.L. Gessa (Ed.) *GABA and the Basal Ganglia. Advances in Biochemistry and Psychopharmacology*. New York: Academic Press, 1981.
- Ribot, T.H. *Las enfermedades de la memoria*, Ed. Daniel Jorro, Madrid, 1927 (edición original en francés).
- Rivas-Ariancibia, S. y Prado-Alcalá, R.A., Núcleo caudal y Aprendizaje. XXIV. Interacción entre los sistemas dopaminérgico y colinérgico en los procesos de memoria, *XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Guanajuato, México, 1986.
- Rolls, E.T., Responses of neurons in the different regions of the striatum of the behaving monkey, In J.S. McKenzie, R.E. Kemm and L.N. Wilcock (Eds), *The Basal Ganglia*. New York: Plenum Press, 1984, 467-494.
- Rosenzweig, M.R., Bennet, E.L. and Diamond, M.C., Chemical and anatomical plasticity of brain: replications and extensions. In J. Gaito (Ed.), *Macromolecules and Behavior*, 2nd edn., Appleton Century Crofts, New York, 1971, 205-278.
- Salado-Castillo, R. y Prado-Alcalá, R.A., Núcleo caudado y Aprendizaje. XXIX. Regulación regional GABAérgica de la memoria de largo plazo, *XXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Xalapa, Ver., 1987.
- Sanberg, P.R., Pisa, M. and Fibiger, H.C., Avoidance, operant and locomotor Behavior in rats with neostriatal injections of kainic acid, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 10 (1978), 137-144.
- Sandberg, K. Sanberg, P.R., Haning, I., Fisher, A., and Coyle, J.T., Cholinergic lesion of striatum impairs acquisition and retention of a passive avoidance response, *Behavioral Neuroscience* 98 (1984), 162-165.
- Scheel-Krüger, J., Dopamine-GABA interactions: evidence that GABA transmits, modulates and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and the limbic system, *Acta Neurobiológica Scandinavica*, Supplementum No. 107, 73 (1986).

- Siegel, S., *Estadística no paramétrica*, Ed. Trillas, 5ta. edición, 1979 (Edición original en inglés, 1956).
- Skinner, B.F., *Contingencies of Reinforcement. A Theoretical Analysis*, Prentice-Hall, Inc, USA., 1969.
- Staubli, S. and Huston, J.P., Central action of substance P: Possible role in reward, *Behavioral and Neural Biology*, 43 (1985), 100-108.
- Steward, O., Goldschmit, R.B. and Sutula, T., Neurotoxicity of colchicine and other tubuling-binding agents: a selective vulnerability of certain neurons of the disruption of microtubules, *Life Science*, 35 (1984), 43-51.
- Tanabe, G., Remediating maze deficiencies by the use of environmental enrichment, *Developmental psychology*, 7 (1972), 224.
- Teitelbaum, P., Niveles de integración de la operante, en W.K. y J. ER. Staddon (Edits.), *Manual de Conducta Operante*, (Obra original en inglés), 1983, 21-46.
- Thompson, R.F. and Donegan, N.H., The search for the engram, In J.L. Martinez and R.P. Kesner (Ed.), *Learning and Memory. A Biological View*, New York: Academic Press, 1986, 3-48.
- Tinbergen, N. *L'étude de l'instinct*, Payot, Paris, 1971 (edición original en inglés, 1951).
- Waszczak, B.L., Bergstrom, D.A., Walters, J.R., Single unit responses of substantia nigra and globus pallidus neurons to GABA agonists and antagonists drug, In G. Dichiaro, G.L. Gessa (Ed.), *GABA and the basal ganglia. Advances in Biochemistry and psychopharmacology*, 30 (1981), 79-84.
- Waszczak, B.L., Eng, N. and Walters, J.R., Effects of muscimol and picrotoxin on single unit activity of substantia nigra neurons, *Brain Research*, 188 (1980), 185-197.