

31962
2ej. 1

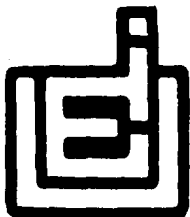


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**“ EVALUACION DE LOS EFECTOS DE LA ADMINISTRACION
CRONICA DE DICLORVOS SOBRE EL APRENDIZAJE
DE LUGAR, EN RATAS ”**

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRIA EN FARMACOLOGIA CONDUCTUAL
P R E S E N T A
MARTHA HERMELINDA CORDOVA OSNAYA



LOS REYES IZTACALA

LIBRO CON 1989
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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

	page
RESUMEN	1
INTRODUCCION	
1.- Aprendizaje de Lugar	3
2.- Neuropsicología	10
EXPERIMENTO I.- CERNIMIENTO FARMACOLOGICO	
Método	
.Sujetos	24
.Fármacos y Substancias	24
.Procedimiento	24
.Resultados	25
.Discusión	27
EXPERIMENTO II.- ADMINISTRACION CRONICA	
Y DETERMINACION BIOQUIMICA	
EXPERIMENTO PRELIMINAR.- SELECCION DE DOSIS SUBUMERALES	
Método	
.Sujetos	29
.Fármacos y Substancias	29
.Procedimiento	29
.Resultados	29
.Discusión	32
ADMINISTRACION CRONICA Y DETERMINACION	
BIOQUIMICA.	
Método	
.Sujetos	33
FASE I.- Administración Crónica.	

.Aparatos y Material	34
.Fármacos y Substancias	34
.Procedimiento	35
FASE II.- Entrenamiento Conductual	
.Aparatos y Material	35
.Fármacos y Substancias	36
.Procedimiento	36
FASE III.- Determinación Bioquímica	
SACRIFICIO DE LOS ANIMALES Y	
OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE TRABAJO	
.Aparatos y Material	41
.Fármacos y Substancias	42
.Procedimiento	42
DETERMINACION DE PROTEINAS	
EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO.	
.Aparatos y Material	44
.Fármacos y Substancias.....	44
.Procedimiento	
<i>Obtención de la Curva patrón</i>	45
<i>Obtención de Concentración de Proteínas</i>	
<i>en Homogeneizado de Cerebro.....</i>	46
ACTIVIDAD ESPECIFICA DE ACETILCOLINESTERASA	
EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO	
.Aparatos y Material	47
.Fármacos y Substancias	47
.Procedimiento	
<i>Obtención de la Curva Patrón</i>	
<i>de Acido Acético</i>	48

Obtención de la actividad

Específica de la Acetilcolinesterasa .. 48

.Resultados

Entrenamiento Conductual

<i>Confiability</i>	<i>50</i>
<i>Aprendizaje de Lugar.....</i>	<i>50</i>
<i>Porcentaje de Respuestas Correctas.....</i>	<i>52</i>
<i>Eficiencia Temporal</i>	<i>55</i>
<i>Categoría C</i>	<i>55</i>

Determinación Bioquímica

PROTEINAS EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO

<i>Curva Patrón</i>	<i>59</i>
<i>Concentración de Proteínas</i>	<i>60</i>

ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA

ACETILCOLINESTERASA

<i>Curva Patrón</i>	<i>62</i>
<i>Actividad Especifica de la</i>	
<i>Acetilcolinesterasa</i>	<i>63</i>

.Discusión *67*

BISCUSSION GENERAL *70*

TABLAS *74*

BIBLIOGRAFIA *94*

RESUMEN

El presente trabajo enfocó el estudio del aprendizaje desde un punto de vista psiconeurobiológico, considerado éste como una correlación entre la medición psicológica y la medición neurobiológica durante dicho proceso. La medición psicológica consistió del proceso de aprendizaje de lugar por ensayo y error en una "caja con hoyos" (extensión de los laberintos radiales). En esta tarea las ratas tenían que explorar una caja de 70 x 70 cm con 16 hoyos localizados en el piso cuatro de los cuales contenían alimento. La medición neurobiológica consistió en determinar la alteración de la cantidad de acetilcolina cerebral a través de la actividad específica de la acetilcolinesteras en forma indirecta mediante la cuantificación de ácido acético empleando un potenciómetro.

Se llevaron a cabo dos experimentos: Cernimiento Farmacológico, y Administración Crónica y Determinación Bioquímica. El primero fue necesario para el segundo experimento, que fue el formal y consistió de un diseño factorial 2X4. La determinación bioquímica que fue el primer factor estuvo integrado por dos niveles: análisis bioquímico sin entrenamiento conductual y análisis bioquímico con entrenamiento conductual. La administración crónica que fue el segundo factor estuvo integrado por cuatro niveles: agua, aceite, eserina y dieldrinas.

El análisis de datos mostró que los sujetos a quienes se les administró eserina y dieldrinas (grupos experimentales)

invirtieron menos sesiones para aprender los lugares donde había alimento que los sujetos de los grupos de agua y aceite (grupos controles). También los sujetos de los grupos experimentales mostraron una aceleración significativamente mayor en la velocidad de aprendizaje de lugar que los sujetos de los grupos controles, asimismo la actividad de la acetilcolinesterasa fué significativamente menor en los grupos experimentales que en los controles.

Los hallazgos de la presente investigación sugieren que la actividad colinérgica cerebral está involucrada en los procesos del aprendizaje de lugar.

Introducción

1.-Aprendizaje de Lugar

En terminos generales se entiende por aprendizaje al proceso, "en virtud del cual una actividad se origina o se cambia a través de la reacción a una situación encontrada, con tal de que el cambio registrado en la actividad no pueda explicarse con fundamento en las tendencias innatas de respuesta, la madurez o estados transitorios del organismo" (Hilgard y Bower, p. 14, 1976).

Existen diferentes teorías del aprendizaje las cuales en terminos globales estan comprendidas en tres grandes familias: las del estímulo-respuesta, las cognoscitivas y aquellas que no caen en alguna de las dos anteriores clasificaciones como es el caso de las teorías funcionalistas, psicodinámicas y las teorías probabilísticas de los constructos de modelos (Hilgard y Bower, 1976).

Respecto a las teorías del estímulo-respuesta éstas se dividen en dos grandes rubros; condicionamiento clásico y condicionamiento instrumental u operante. En éste último existe una forma de aprendizaje denominado ensayo y error, el cual tuvo su origen en los primeros experimentos realizados por Thorndike durante los años de 1898 a 1911, en éstos experimentos se usaron diferentes especies como gatos, perros y pollos, sin embargo los realizados con gatos son los más representativos, los cuales consistieron de 15 diferentes formas de "cajas-problema", éstas

cajas estaban divididas en dos secciones, en una de las cuales se colocaba el gato y el otro un trozo de comida (carne o pescado), el gato podía pasar a la sección donde estaba la comida siempre y cuando manipulara adecuadamente una alidaba, un anillo de alambre o cualquier otro dispositivo sencillo que atrancaba la puerta que dividía una sección de otra. En tales situaciones los gatos tenían que emitir una respuesta tras otra hasta quedar resuelto el problema (pasar a la sección donde se encontraba la comida), a este tipo de aprendizaje se le conoce como ensayo y error (Keller y Schoenfeld, 1979).

Sin embargo, el aprendizaje por ensayo y error a pesar de haber sido originado en el marco teórico de la teoría estímulo-respuesta, tuvo incidencia en la teoría cognitiva. Los teóricos cognitivos afirman que el organismo aprende relaciones signo-significado, es decir aprende la dirección de una conducta y no un patrón de movimientos y respuestas como lo afirma la teoría estímulo-respuesta, es decir crean representaciones cognitivas de las relaciones espaciales (mapa cognitivo), por lo que no aprenden movimientos sino significados. La anterior teoría cognitiva tuvo su origen en los años 30 de este siglo con Edward Tolman y se le denominó aprendizaje de signos.

Tanto la teoría estímulo-respuesta como la de signos, predicen el mismo resultado conductual, razón por la cual los teóricos cognitivos desarrollaron una serie de experimentos para demostrar que los sujetos estructuran un mapa cognitivo del cual se basan para emitir sus respuestas.

Dentro de este conjunto de experimentos se encuentran aquellos que se refieren al aprendizaje de lugar, considerado éste como otra forma de aprendizaje y entendido como el proceso por el cual se logra la identificación de un lugar mediante su localización espacial (Mackintosh, 1983), razón por la cual algunos investigadores usan indiscriminadamente los términos aprendizaje de lugar o aprendizaje espacial (Upchurch y Wehner, 1987; Merrill, 1969). Lashley y Ball (1929) después de entrenar a ratas a recorrer un laberinto eran lesionadas quirúrgicamente en el cerebelo y colocadas nuevamente en el laberinto, éste era recorrido correctamente pero las ratas lo hacían emitiendo círculos. También Macfarlane en 1930 entrenó a las ratas a recorrer un laberinto evitando obstáculos, posteriormente las ratas recorrían nadando correctamente el laberinto para llegar a la meta. Los resultados de los dos experimentos anteriores de acuerdo con los cognoscitivistas ejemplifican la estructuración por parte de los sujetos experimentales de un mapa cognitivo del lugar de la meta y no un encadenamiento de respuestas.

Los anteriores experimentos respecto al aprendizaje de lugar enfatizaron investigaciones de dicho tipo de aprendizaje contrastando un hábito de movimiento o respuesta y un hábito espacial. Tolman, Ritchie y Kalish (1946), elaboraron un laberinto en forma de cruz, en donde los extremos de la línea vertical correspondieron a las dos entradas al laberinto; al extremo anterior se le asignó el símbolo E1 y al extremo posterior E2, en los extremos de la línea horizontal se colocó alimento para

ratas, al extremo derecho se le denominó F1 y al izquierdo F2. Se usaron 16 ratas; ocho fueron entrenadas en un hábito de movimiento o respuesta y las restantes ocho en un hábito espacial. Las ocho ratas que fueron entrenadas en un hábito de movimiento eran introducidas al azar por cualquiera de las dos entradas E1 o E2, y encontraban siempre comida cuando daban vuelta hacia la derecha. Las restantes ocho ratas que fueron entrenadas a un hábito espacial también eran introducidas al azar a cualquiera de las dos entradas pero la comida siempre estaba en el mismo lugar. Este último grupo aprendió la localización de comida en 10 ensayos, mientras que el grupo que llevó a cabo el aprendizaje de lugar mediante el hábito de respuestas, 5 de las 8 ratas requirieron 72 ensayos para alcanzar el criterio de adquisición. Los resultados de esta investigación mostraron que el aprendizaje de lugar se realiza más rápido estableciendo hábitos de espacio que de respuesta.

Los resultados del anterior experimento enfatizaron por un lado, aquellas investigaciones que se refieren a un aprendizaje más rápido cuando se considera un hábito de espacio que un hábito de respuesta y por otro lado dieron origen a las investigaciones que se refieren al papel que juegan las señales en el aprendizaje de lugar. Al respecto Olton y Samuelson en 1976 demostraron la influencia de señales espaciales para un mejoramiento en la ejecución a través del laberinto radial de ocho brazos, en donde los sujetos fueron entrenados a correr por los brazos del laberinto hasta el final de éstos donde encontraban comida, el entrenamiento concluía cuando los animales llegaban al final de

los brazos del laberinto sin temblar (conducta que emiten las ratas cuando se les coloca en un espacio abierto), posteriormente los sujetos eran evaluados diariamente colocandolos en el centro del laberinto y dejando que eligieran libremente la entrada a los brazos del laberinto (al final de cada uno de los brazos había alimento). Los resultados de estos experimentos demostraron que los animales ejecutaron correctamente, es decir sin error la elección del lugar de los ocho brazos.

Poteriormente, Olton, Collison y Merz (1977) llevaron a cabo una replica del anterior experimento para demostrar hasta donde se obtenía correctamente una ejecución en laberintos radiales, para ello usaron un laberinto radial de 17 brazos en donde los sujetos eligieron en promedio correctamente 14 de los 17 lugares.

Las investigaciones de Olton y Samuelson (1974) condujo al cuestionamiento de si las señales usadas por los animales para la ejecución en una situación espacial como lo es el laberinto radial eran intralaberinto o extralaberinto.

Para ello Olton y Collison (1979) llevaron a cabo un experimento donde emplearon un procedimiento de reforzamiento diferencial en laberinto con señales intra y extralaberinto. Usaron cuatro ratas machos para el grupo de señales intralaberinto y otras cuatro del mismo sexo para el grupo de señales extralaberinto. Se empleó un laberinto radial de ocho.

brazos, donde la plataforma del centro estaba compuesta de ocho guillotinas que abrían y cerraban la entrada de los ocho brazos. El laberinto fué suspendido del techo mediante cuerdas para ser girado. Al grupo de señales intralaberinto se le colocó comida en comederos al final de cada brazo. Al grupo de señales extralaberinto se colocó comida en comederos situados al final de los brazos pero fuera de éstos a una distancia aproximada de 1 cm en unas pequeñas plataformas separadas del laberinto. El procedimiento estuvo compuesto de dos partes: control y experimental. En la situación control las ratas de ambos grupos, una por una eran colocadas en el centro del laberinto con las ocho puertas de las guillotinas cerradas, posteriormente todas las puertas eran levantadas simultáneamente, cuando la rata seleccionaba un brazo para obtener comida las demás puertas eran bajadas, al retornar la rata al centro de la plataforma la única guillotina abierta era cerrada, permaneciendo la rata en el centro durante 15 seg, posterior a este tiempo las guillotinas eran nuevamente abiertas. Este procedimiento era seguido hasta la captura de las ocho piezas de comida o un lapso total de 15 min. hasta alcanzar el criterio de 5 respuestas correctas en las primeras ocho elecciones por cinco días consecutivos. En la condición experimental, después de cada elección que realizaba la rata el laberinto era girado 45, 90, 135 y 180 grados, la dirección de rotación y la magnitud de ésta fué aleatoria. Con el anterior procedimiento al grupo de señales intralaberinto la comida era movida de lugar no así en el caso del grupo de señales extralaberinto. Los resultados mostraron que la ejecución del grupo de señales intralaberinto disminuyó de una ejecución promedio

de respuestas correctas de 7.5 a 3.8, fenómeno que no sucedió con el grupo de señales extralaberinto. Los resultados del anterior experimento sugieren que la ejecución de las ratas para hallar la localización donde se encuentra la comida en situaciones espaciales se debe al control de estímulos externos. El anterior resultado ha sido apoyado por otras investigaciones (Olton y Samuelson, 1976; Olton y cols, 1977).

Olton y cols, (1977) también evaluaron en sus experimentos el aprendizaje de lugar por ensayo y error. El procedimiento de este experimento fué el mismo descrito anteriormente en la investigación realizada por los autores con la excepción de que los animales no fueron habituados a la caja experimental sino evaluados directamente durante 26 días. Los resultados de esta investigación mostraron que los sujetos eligieron correctamente un promedio de 12 diferentes brazos en las primeras 17 elecciones. Este experimento reportó por primera vez el aprendizaje de lugar por ensayo y error. Fenómeno que no ha sido considerado hasta ahora por los investigadores, (sin embargo forma parte del objetivo terminal de la presente tesis).

En la actualidad ha tomado gran interés por parte de la investigación la evaluación de la memoria en situaciones espaciales, fenómeno que se conoce como memoria espacial (Oades, 1981; Stanes y Brown, 1976; Deutsch, 1983).

Las situaciones espaciales no han variado mucho a partir del modelo de Olton y Samuelson (1976) de los laberintos

radiales. Oades (1981) propuso una extensión de laberintos radiales, la cual llamó "caja con hoyos" debido a que los laberintos radiales presentan las siguientes desventajas:

1.- Los animales invierten mucho tiempo en el entrenamiento, debido a lo largo de los brazos (69 cm) y al número de éstos.

2.- Los animales son obligados a realizar elecciones discretas después de confinarlos en una área a la mitad de la caja.

Hasta aquí, se han señalado algunas investigaciones de una forma de aprendizaje conocida como aprendizaje de lugar, por lo que ahora resulta importante preguntarse: ¿qué ocurre en el cerebro mientras aprendemos? A pesar de que esta pregunta no había sido relevante para algunos teóricos del aprendizaje, ya que existe una gran aceptación entre ellos al respecto de que no es necesario saber acerca de los correlatos nerviosos del aprendizaje para estar seguros de que éste se produce (Hilgard y Bower, 1976), razón por la cual durante muchos años se denominó "caja negra" a lo que sucedía dentro del organismo cuando se llevaba a cabo cualquier aprendizaje (Swenson, 1980), en la actualidad la posible respuesta a esta pregunta forma parte de una área de investigación denominada neuropsicología que ha tenido un gran impulso en los últimos años a partir del desarrollo de técnicas bioquímicas y de estimulación cerebral.

2.-Neuropsicología

La neuropsicología se ubica en términos de una interacción

psiconeurobiológica, es decir, si un cambio neurobiológico ha de servir como base del aprendizaje entonces éste debe de correlacionarse con los cambios en el aprendizaje evaluado psicológicamente (Thompson, 1975).

La interacción psiconeurobiológica considera dos tipos de mediciones; la que se lleva a cabo en lo psicológico y la que se realice en lo neurobiológico, para posteriormente correlacionarlas obteniendo así una interacción. La elección de la medición de lo psicológico ya fué descrito en la primera parte de esta introducción, la cual consiste en aprendizaje de lugar por ensayo y error. Faltando por consiguiente definir la elección de la medición de lo neurobiológico.

Históricamente se ha tratado de localizar el evento neurobiológico responsable del aprendizaje. Desde tiempos de Cajal a principios de este siglo, existe la idea de que las sinápsis en el sistema nervioso central (SNC) tienen que ver de alguna manera con el aprendizaje y la memoria (Flood y Jarvik, 1976). Sin embargo, las investigaciones llevadas a cabo para conocer la base orgánica del aprendizaje y la memoria fueron iniciadas hasta la década de los sesenta de este siglo a partir de los trabajos de Hyden respecto a los ácidos nucleicos (Luria, 1974). Para Luria, tres han sido los niveles de estudio que han aportado resultados relevantes con relación al descubrimiento del sustrato neurobiológico del aprendizaje y la memoria:

1.- Las investigaciones que se han avocado al estudio de

las moléculas del DNA y del RNA.

2.- Los estudios que se han dedicado a la investigación de la glía.

3.- Aquellos trabajos que se han enfocado a nivel neurohistológico

Sin embargo, existe otro rubro de investigaciones que se han dedicado al estudio de cambios químicos y anatómicos del cerebro, que no fueron considerados por Luria probablemente porque han acumulado durante este siglo algunos resultados negativos (Rosenzweig, 1980). Rosenzweig enfatiza dos factores a los que quizá se deban los resultados negativos:

a).- Deficiencias en las técnicas o en los diseños experimentales.

b).- Los correlativos cerebrales con el entrenamiento de alguna tarea se han concentrado fundamentalmente en el aprendizaje de sujetos adultos, cuando los cambios bioquímicos y anatómicos cerebrales han llegado a la madurez.

De esta forma tenemos, que principalmente se han llevado a cabo investigaciones con el objeto de correlacionar los cambios químicos cerebrales con el aprendizaje en sujetos adultos (Rosenzweig, 1980), en este tipo de trabajos se han relacionado a los neurotransmisores con los procesos de aprendizaje y memoria, siendo la acetilcolina uno de los neurotransmisores más ampliamente estudiado, sin embargo resulta difícil medir esta substancia *in situ* debido a que su destrucción enzimática ocurre

rápidamente en el tejido cerebral (Flood y Jarvik, 1976; Koelle, 1978).

Razón por la cual se han realizado fundamentalmente dos tipos de investigaciones:


- Aquellas en donde los sujetos realizan una tarea de aprendizaje y *post mortem* se intenta medir la acetilcolina.

- Por otro lado las que usan agentes farmacológicos *in vivo* para alterar la acción neural colinérgica y así medir sus efectos en una tarea de aprendizaje.

A continuación se describen algunos estudios que ejemplifican estos dos tipos de investigaciones.

2.1.- Medición de la Acetilcolina después del aprendizaje

Rosenzweig, Krech y Bennett (1960) y Bennett, Diamond, Krech y Rosenzweig (1964), llevaron a cabo investigaciones en donde después de que los sujetos realizaron una tarea de aprendizaje, *post mortem* era medida la acetilcolina en forma indirecta a través de la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE), enzima que degrada a la acetilcolina.

Rosenzweig y cols, (1960), evaluaron el aprendizaje en un laberinto compuesto de cuatro secciones además de un cajón de salida y uno de meta, en cada sección existía una  en donde la parte superior que converge en V un extremo estaba iluminado y el otro apagado, el extremo iluminado era la elección correcta la mitad de las veces y el otro extremo la otra mitad, además el

extremo derecho era correcto la mitad de las veces y el izquierdo la otra mitad. Así, independientemente de las señales que usara el animal para seleccionar su camino, su ejecución en terminos de elecciones siempre tenían lugar a un nivel aleatorio. Los investigadores seleccionaron aquellos sujetos cuya ejecución estuvo determinada por preferencias visuales (dirigirse hacia lo iluminado o hacia lo oscuro) y preferencias de lugar (izquierda o derecha). Los animales fueron sacrificados, pesado y congelado el cerebro, después se cortaron bloques de tejido de áreas somatosensoriales, visuales y otras áreas para medir la actividad de la AchE por un método indirecto a través del pH (potencial hidrógeno). Los investigadores suponían que los cerebros de las ratas que usaron preferencias visuales la actividad de la AchE estaría incrementada en la zona visual del cerebro, así como en el área somatosensorial en las ratas cuyas preferencias fueron espaciales o de lugar. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que la AchE estuvo incrementada en todas las áreas corticales, lo que significa que no existe una localización cerebral específica con una mayor actividad de AchE correlacionada con el aprendizaje.

Este resultado condujo a las autoras a realizar experimentos donde utilizaron diversas tareas de aprendizaje en laberintos y medían la actividad de la AchE, encontrándose una correlación positiva entre el número de errores emitidos y la actividad de la AchE, es decir, conforme se incrementa el número de errores la actividad de la AchE se incrementa también. Este resultado se contrapone con otro experimento de los mismos

autores en donde compararon la actividad de la AchE en diferentes cepas de ratas, la cepa Tryon Maze Bright, criada precisamente por su gran habilidad para el aprendizaje en laberinto, tuvo una cantidad significativamente mayor de actividad de la AchE que otras cepas.

Continuando con experimentos que midieron la AchE, Bennett y cols, (1964) utilizaron dos grupos de ratas a partir del destete (21 días postparto); un grupo experimental que fue criado en un ambiente "rico" con gran estimulación ambiental y un grupo control sin estimulación. Cuando los sujetos llegaron a ser adultos (105 días) fueron sacrificados, pesado el cerebro y obtenido la actividad de la AchE mediante un método indirecto a través de la medición de pH. El grupo experimental tuvo una mayor actividad de la AchE así como un mayor peso en la corteza cerebral que el grupo control.

Los anteriores experimentos sostienen que cuando la actividad de la AchE se halla incrementada es un indicativo de que hay una mayor actividad colinérgica, por lo que es posible correlacionar este incremento de actividad con el aprendizaje.

2.2.- Evaluación del Aprendizaje en Situaciones Espaciales mediante la Alterción Colinérgica con Fármacos

El segundo tipo de investigaciones que se han desarrollado para el estudio de la función que ejerce la acetilcolina en el aprendizaje son aquellas que han usado agentes farmacológicos *in vivo* para alterar la acción colinérgica cerebral.

Lo que más se ha investigado en situaciones espaciales es la influencia de la actividad colinérgica sobre la memoria, dividiéndose fundamentalmente en dos tipos de investigaciones;

- Las que usan fármacos para mimetizar el sistema colinérgico.

- Aquellas investigaciones que emplean fármacos para bloquear la transmisión colinérgica.

La hipótesis de que la actividad colinérgica está involucrada en procesos de memoria espacial, ha supuesto la existencia de una correlación entre la actividad colinérgica y la memoria, es decir, si se incrementa la actividad colinérgica se incrementa la memoria espacial, supuesto que ha sido respaldado por varias investigaciones mediante el uso de fármacos que incrementan la actividad colinérgica como por ejemplo la eserina o fisostigmina y el disopropilfluorofosfato -DFP- (Stanes y Brown, 1976; Deutch, 1983), y el caso contrario, si se inhibe la acción colinérgica se decreta la memoria espacial, considerando que ha sido respaldado por varios experimentos mediante el empleo de fármacos que inhiben la acción colinérgica como por ejemplo la escopolamina y atropina (Beatty y Bierley, 1985; Wirsching, Beninger, Jhasandas, Boegman y EL-Defrawy, 1984).

En el caso ya no de la memoria sino del aprendizaje espacial los experimentos en que se han usado fármacos para inhibir la acción colinérgica han mostrado una relación clara ya que presentan un deterioro en el aprendizaje de lugar

(Sutherland, Whishaw y Regehr, 1982; Whishaw, 1985), sin embargo el uso de fármacos colinomiméticos, concretamente los anticolinesterásicos ha sido muy escaso, encontrándose sólo dos artículos después de una revisión bibliográfica desde Junio de 1966 a la fecha, el procedimiento y resultados de tales experimentos son descritos a continuación. Sin embargo, antes de iniciar la descripción de experimentos que han empleado sustancias anticolinesterásicas para observar su efecto en el aprendizaje de lugar, es importante señalar adelantándonos a un apartado posterior de esta introducción que los anticolinesterásicos inhiben a la enzima que degrada a la acetilcolina (la AChE), produciendo un incremento de acetilcolina cerebral (razón por la cual se conocen como colinomiméticos). Los anticolinesterásicos mayormente empleados en estudios de la memoria y aprendizaje de lugar han sido la eserina y el disopropilfluorofosfato -DFP- (un organofosforado). Merrill (1969) entreno 36 ratones albinos para hallar comida en uno de tres brazos de laberinto, formó seis grupos, antes del entrenamiento inyectó a los sujetos de los diferentes grupos; solución salina, 0.05, 0.075, 0.10, 0.125 o 0.15 mg/kg de eserina. La dosis más baja y la más alta (0.05 y 0.15) impidieron el aprendizaje de lugar, mientras que las dosis intermedias no tuvieron efecto. Upchurch y Wehner (1987) usaron crónicamente el DFP en el aprendizaje de una tarea de agua en 24 ratones, la tarea de agua consistió en la identificación por parte de los animales de una plataforma de 10.5 cm cuadrados sumergida en una piscina de 122 cm de diámetro la cual tenía agua opaca. La identificación consistió de nadar desde la superficie hasta colocarse encima de la plataforma, esta conducta originaba que

los animales fueran sacados de la piscina. Se emplearon cuatro grupos para la adquisición de la localización de la plataforma: dos grupos con solución salina y dos con DFP. Uno de los grupos de solución salina y de DFP, fueron entrenados para localizar la plataforma en presencia de un estímulo blanco visible saliendo del agua indicando su localización (plataforma visible). Los otros dos grupos (uno de solución salina y otro de DFP) fueron entrenados para localizar la plataforma sin ningún estímulo visual en el agua que indicara su localización (plataforma invisible). El DFP fue administrado por vía intraperitoneal cada tercer día con una dosis de 2 mg/kg durante 11 días antes del entrenamiento conductual, los animales control recibieron un volumen equivalente de solución salina (0.09%). Los resultados señalan que en la adquisición de la localización de la plataforma invisible no hubo diferencia significativa entre el grupo con DFP y el de solución salina. En el caso de la localización de la plataforma visible hubo una mejoría en la ejecución de los primeros cinco ensayos en el grupo de DFP, para posteriormente decrementar en comparación con el grupo de solución salina. De acuerdo a los anteriores resultados los autores señalan que no existe suficiente evidencia para demostrar que el impedimento observado para localizar la plataforma visible con la aplicación de DFP se debió a una deficiencia en el aprendizaje espacial.

Por consiguiente se puede señalar que los resultados de los dos anteriores experimentos no muestran una relación clara entre la administración de un antiAChE y el aprendizaje de lugar.

2.2.1.- Fármacos Anticolinesterásicos

Reciben el nombre de agentes anticolinesterasa (antiAChE) aquellas sustancias que inhiben a la enzima acetilcolinesterasa (AChE), es decir, impiden la hidrólisis de la acetilcolina por la AChE en los sitios colinérgicos (Bowman y Rand, 1984; Koelle, 1978; Taylor, 1982).

Los fármacos anticolinesterásicos hacen que la ACh se acumule en los receptores colinérgicos, razón por la cual son potencialmente capaces de producir efectos equivalentes a una excesiva estimulación de receptores colinérgicos.

Existe una amplia distribución de neuronas colinérgicas, por lo cual el uso terapéutico de fármacos anticolinesterásicos se reduce grandemente por su acción tóxica. (Bowman y Rand, 1984).

De acuerdo a su mecanismo de acción las agentes antiAChE se dividen en tres grupos: reversibles, "reversibles" e "irreversibles". Las sustancias reversibles son aquellas sustancias que tienen una acción muy breve en la unión con la AChE. Los antiAChE "reversibles" como la eserina son hidrolizadas por la AChE más lentamente que la ACh. Los antiAChE "irreversibles" como los organofosforados -siendo el diclorvos un ejemplo- son hidrolizados por la AChE todavía más lentamente que las sustancias "reversibles". Por lo que los términos "reversible" e "irreversible" solo reflejan diferencias cuantitativas temporales, siendo que ambas clases de fármacos reaccionan en forma covalente con la enzima, esencialmente en la

misma forma que lo hace la Ach (Taylor, 1982).

2.2.2.- Eserina

La eserina es un alcaloide obtenida del haba de calamar. Su primer uso terapeutico fué en el año de 1877 en el tratamiento del glaucoma, en la actualidad su principal uso terapeutico es en el tratamiento de la miastenia grave (Bowman y Rand, 1984; Taylor, 1982).

La eserina es una amina terciaria muy especifica a la acción de la AchE. Además se absorbe facilmente en el tracto gastrointestinal, cruza la barrera hematoencefalica por su gran liposubilidad, razón por la cual tiene efectos en el SNC. Este alcaloide se destruye principalmente por ruptura hidrolitica de la unión éster por las colinesterasas (Bowman y Rand, 1984).

2.2.3.- Diclórfos

Los organofosforados se descubrieron a partir de la segunda guerra mundial, sus primeros usos fueron como insecticidas agrícolas y después como agentes potenciales de la guerra química, son muy bien absorbidos por todas las vías de administración, atraviesan facilmente la barrera hematoencefálica, razón por la cual ejercen acciones tóxicas sobre el SNC (Koelle, 1978; Taylor, 1982).

El diclorvos es un insecticida organofosforado de acción especifica sobre la AchE, a pesar de ser muy tóxico para los mamíferos tiene muy poca persistencia, ya que se hidroliza

rápidamente en compuestos inactivos para dar lugar a metabolitos polares como el fosfato de metilo, el fosfato de dimetilo, y el ácido fosfórico, los cuales son eliminados por orina (Cremlyn, 1962).

Para concluir esta sección es importante señalar que la medición de lo neurobiológico en el trabajo de investigación de esta tesis consistió en la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (para conocer indirectamente la alteración de la cantidad de acetilcolina cerebral) a través de la exposición crónica en dosis bajas (subumbrales) de sustancias anticolinesterásicas en sujetos en proceso de crecimiento.

Correlacionando la medición psicológica y neurobiológica para dar lugar a una aproximación neuropsicológica el objetivo de investigación de la presente tesis fué el siguiente:

Evaluar el proceso del aprendizaje de lugar por ensayo y error en una extensión de laberintos radiales ("caja con hoyos") cuando se han alterado los niveles de acetilcolina cerebral a través de la exposición crónica de dosis subumbrales de sustancias anticolinesterásicas en sujetos en proceso de crecimiento.

El anterior objetivo sustenta las siguientes hipótesis:

a).- El incremento de la cantidad de Ach cerebral podrá ser evidenciada mediante la administración crónica a sujetos en proceso de crecimiento de dosis subumbrales de agentes antiAChE.

- b).- El incremento de la cantidad de acetilcolina cerebral sin la manifestación de cambios conductuales profundos facilitará el proceso de la adquisición del aprendizaje de lugar.
- c).- La administración crónica de dosis subumbrales de fármacos antiAChE tendrán efectos similares en el proceso del aprendizaje de lugar así como la presentación de una correlación entre cambios a nivel conductual y bioquímico

Para poder verificar estas hipótesis se realizaron dos experimentos, el primero denominado cernimiento farmacológico tuvo como finalidad separar la diversidad de efectos tóxicos de un antiAChE en el SNC; la finalidad del segundo experimento llamado administración crónica y determinación bioquímica consistió en llevar a cabo la evaluación del proceso del aprendizaje de lugar en una "caja con hoyos" y observar su correlato bioquímico al alterar los niveles de acetilcolina a través de la exposición crónica de sustancias antiAChE (diciorvos y eserina).

Para lograr el objetivo de este ditimo experimento, se siguió la estructura de un diseño factorial de grupos independientes de 2×4 , por lo que el diseño estuvo integrado por ocho grupos en total -Tabla No 1- (todas las Tablas se localizan después de la discusión general a partir de la página 74).

Los dos factores o variables independientes fueron:
determinación bioquímica y administración crónica.

El primer factor (determinación bioquímica) se integró por dos

niveles: determinación bioquímica sin entrenamiento conductual y determinación bioquímica con entrenamiento conductual.

El segundo factor, (aplicación crónica) estuvo integrado por cuatro niveles: agua destilada, aceite de maíz diclorvos y eserina.

Es importante señalar que la exposición de cada experimento incluye método, resultados y discusión en forma secuencial, ya que de éstos dos últimos apartados se deriva el experimento subsecuente.

Experimento I.- Cernimiento Farmacológico

El objetivo de este experimento consistió fundamentalmente en separar y conocer la variedad de efectos tóxicos del diclorvos sobre el SNC.

Método

Sujetos

Se emplearon 140 ratas machos Wistar de 200 a 300 g de peso, procedentes del bioterio general de la ENEP Iztacala. Los sujetos fueron alojados en grupos de dos o tres en cajas hogar de acrílico, con ciclos luz-obscuridad de 12/12 horas (ocho a ocho), con temperatura ambiente aproximada de $18^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y acceso libre al agua y al alimento (ratoncina purina).

Fármacos y Sustancias

Se utilizó aceite de Maíz (Premier) el cual se aplicó en un volumen no mayor a 0.5 ml. El diclorvos al 0.291% (1.4 g en 480 ml), en su administración se usó como vehículo aceite de maíz.

Procedimiento

Se emplearon 16 grupos tanto experimentales como controles

(n=5/grupo). La vía de administración fue intraperitoneal. A los sujetos experimentales y controles se les administró diclorvos y aceite de maíz respectivamente de acuerdo con su peso.

Se realizó primeramente con grupos experimentales piloto un muestreo de efectos presentados por los sujetos ante la administración de diferentes dosis de diclorvos -a cada grupo experimental se le aplicó una dosis diferente de dicha substancia- hasta encontrar la dosis que produjo la muerte de todos los integrantes del grupo piloto experimental.

A partir de la identificación de esta dosis (Dosis Letal -DL-100 = 7.2 mg/kg) se formaron los grupos experimentales y los grupos controles de tal forma que cada grupo experimental tenía su grupo control. Se aplicó la dosis de diclorvos anteriormente identificada al grupo experimental, y aceite de maíz al grupo control. A partir de aquí la dosis de diclorvos administrada a los grupos experimentales fue decrementada geométricamente hasta no obtenerse alguna manifestación de efecto observable. Se registraron los efectos que presentaron los sujetos como respuesta cuantitativa de todo o nada.

Resultados

Se encontraron los siguientes efectos generales: temblores; convulsiones y piloerección; pérdida de equilibrio y cianosis; y muerte. Para cada uno de los anteriores efectos se obtuvo una curva dosis respuesta a partir de la transformación de la

frecuencia acumulada de emisión del efecto cuantal a porcentaje (Fig. No 1) y las curvas Log Dosis Probit (Fig. No 2) mediante la transformación de la dosis en logaritmo y el porcentaje de respuestas acumulado en probit.

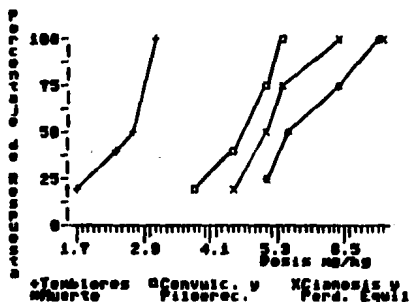


Fig. No 1.- Curvas dosis respuesta del diclorvos. La abscisa representa la dosis administrada de diclorvos (mg/kg) y la ordenada el porcentaje de la respuesta. La primera curva es de la conducta de temblores, la segunda de convulsiones y piloerección, la tercera de cianosis y pérdida de equilibrio y la última de muerte. Cada punto expresa el porcentaje acumulativo de animales que manifestaron conforme se incrementó la dosis.

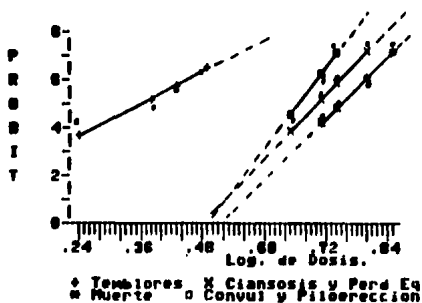


Fig. No 2. Curvas Log Dosis probit del Diclorvos. La abscisa representa el logaritmo de la dosis. La ordenada la transformación del porcentaje de respuesta acumulado a probit. La primera curva es de la conducta de temblores, la segunda de convulsiones y piloerección, la tercera de cianosis y pérdida de equilibrio y la última de muerte.

Discusión

En este experimento se detectaron los efectos tóxicos del diclorvos $DL50 = 5.7 \text{ mg/kg}$, conforme se incrementó la dosis también se incrementó la severidad de los efectos tóxicos. Hay una clara separación entre los efectos extremadamente tóxicos (muerte) y el efecto tóxico menor; temblores. También se observa que hay una sobreposición de las curvas dosis efecto.

**Experimento II.- Administración
Cronica y Determinación
Bioquímica**

Para realizar este experimento fué necesario llevar a cabo un experimento preliminar.

**Experimento Preliminar.- Selección
de Dosis Subumbrales**

El objetivo de este experimento consistió en seleccionar las dosis subumbrales de dos sustancias que inhiben a la acetilcolinesterasa; el diclorvos que es un insecticida organofosforado y la eserina que es una droga de uso terapéutico. Para ello, era necesario tener las curvas dosis respuesta del primer efecto observable de ambos fármacos.

De acuerdo a los resultados del experimento I, la primera manifestación observable de una sustancia que inhibe la acetilcolinesterasa (diclorvos) fue la conducta caracterizada por temblores, sin embargo, resultó necesario comprobar si esta conducta también era la primera manifestación conductual de la eserina así como determinar su curva dosis respuesta cuantitativa, y además obtener nuevamente la curva dosis respuesta del diclorvos, esto último por dos razones:

a).- Un cambio en la vía de administración: de intraperitoneal a intrafálica.

b).- Un cambio en la concentración de la sustancia de 0.291% a 93.2% para un mejor control de calidad y acceso de la misma.

Método

Sujetos

Se utilizaron 136 ratas en condiciones idénticas reportadas en el Experimento I.

Farmacos y Substancias

Se utilizó diclorvos al 93.2% (Bayer) y eserina (SIGMA); cuando fué necesario, éstas se diluyeron usando como vehículo aceite de maíz (Premier).

Procedimiento

El procedimiento para obtener las curvas dosis respuesta cuantales de la primera manifestación conductual observable tanto del diclorvos como de la eserina fué parecido al del experimento anterior con la excepción de que la vía de administración para ambas substancias fué intrafágica.

Resultados

Obtenida la curva dosis respuesta de la conducta de temblores tanto para el diclorvos como para la eserina, los porcentajes de respuesta fueron cambiados a expresiones probit (Goldstein, 1979), y las dosis a logaritmos de dosis. Estos valores fueron ajustados mediante la técnica estadística de mínimos

cuadrados, para poder extrapolar valores no manipulados experimentalmente, ya que se pretendía seleccionar dosis subumbrales. Esta selección se llevó a cabo cubriendo dos criterios; por un lado, que la dosis para los dos fármacos tuvieran un efecto conductual equivalente, y por otro, fuera una dosis subumbral. Figs 3 y 4.

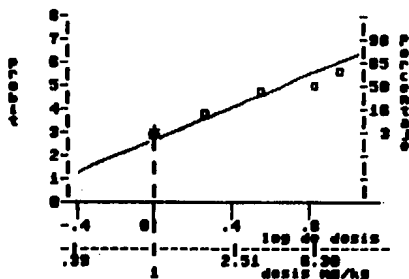


Fig. No 3.- Curva Log Dosis Probit para el Dieldrin. La primera escala de la abscisa representa el logaritmo de la dosis administrada de Dieldrin, la segunda escala representa la dosis de dicho fármaco en valores reales. La ordenada izquierda representa el porcentaje de respuesta transformado a Probit, y la ordenada derecha el porcentaje de respuesta (la función de esta escala es solo de referencia). Con (O) se representa la intersección entre Logaritmo de Dosis y Probit. La línea recta representa los valores estimados mediante el ajuste por mínimos cuadrados; con una pendiente de 3.32, una ordenada al origen de 2.62 y un coeficiente de determinación de 0.855. El X muestra el punto de selección de la dosis subumbral del dieldrin.

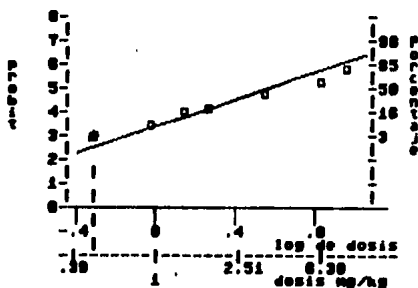


Fig. No 4.- Curva log dosis probit para la Eserina. La primera escala de la abscisa representa el logaritmo de la dosis administrada de Eserina, la segunda escala representa la dosis de dicho fármaco en valores reales. La ordenada izquierda representa el porcentaje de respuesta expresado en probit y la ordenada derecha el porcentaje de respuesta (nuevamente, la función de esta escala es solo de referencia). Con (O) se representa la intersección entre log de dosis y probit. La línea recta representa los valores estimados a través del ajuste por mínimos cuadrados; con una pendiente de 2.68, una ordenada al origen de 3.35 y un coeficiente de determinación de 0.890. El X muestra el punto de selección de la dosis subumbral del la eserina.

En base a los resultados expresados en las Figuras 3 y 4 se seleccionó en forma arbitraria dentro del rango de dosis subumbrales el efecto de aproximadamente 1% poblacional para ambos fármacos (que equivale a 2.67 de probit), esta extrapolación representa una dosis subumbral para el Diclorvos de 1 mg/kg y de 0.5 mg/kg para la Eserina.

Discusión

El hecho de realizar primero un cernimiento farmacológico (Experimento I) y posteriormente determinar la curva dosis-respuesta del primer efecto observable de ambos fármacos para de ahí seleccionar dosis subumbrales, fué necesario debido a que la literatura que a empleado en sus investigaciones eserina (fisostigmina) -no se ha usado hasta ahora diclorvos- no reportan mayor información de la dosis que seleccionan en sus experimentos.

Ya determinadas las dosis subumbrales de ambas sustancias se llevó a cabo la investigación formal, que es el experimento que a continuación se describe.

Aplicación Crónica y Determinación Bioquímica

El objetivo de este experimento fué llevar a cabo la evaluación del proceso del aprendizaje de lugar mediante ensayo

error en una "caja con hoyos" y observar su correlato bioquímico al alterar los niveles de acetilcolina a través de la exposición crónica de sustancias que inhiben la enzima que degrada dicho neurotransmisor. Para lograr el anterior objetivo el experimento consistió de tres fases que fueron: administración crónica, entrenamiento en la "caja de hoyos, y por último la determinación bioquímica.

Método

Sujetos

Se usaron 56 ratas machos Wistar como sujetos de estudio procedentes del Bioterio General de la ENEP Iztacala, con un peso aproximado de 60 ± 10 g. El mismo día de llegada al laboratorio eran asignados al azar a los grupos. Los sujetos fueron alojados en cajas-hogar de acrílico; en cada caja se hospedaron de 2 a 3 ratas. En el lugar de alojamiento permanecieron bajo ciclos luz-obscuridad de 12/12 horas a temperatura ambiente aproximada de 18°C a 20°C, y con acceso libre al agua durante toda la investigación hasta su sacrificio.

Los 56 sujetos fueron asignados al azar en 8 grupos independientes que formaron parte de un diseño factorial de doble entrada de 2x4 (Tabla No 1)

Durante la administración crónica los animales tuvieron acceso libre al alimento, no así durante el entrenamiento

conductual cuando a las ratas se les privó de alimento durante aproximadamente 22 horas, ya que posterior a la terminación de la sesión de entrenamineto se le proporcionó una hora de alimento libre.

Fase I. - Administración Crónica

Aparatos y Material

Cánula intrafágica, báscula, jeringas de insulina o tuberculina, hojas de papel.

Fármacos y Substancias

Agua Destilada. Se aplicó en volumen la milésima parte del peso.

Aceite de Maíz. (Premier). Se aplicó en volumen la milésima parte del peso.

Diclorvos al 93.2%. (Bayer). Se llevó a cabo la dilución de la substancia en aceite de maíz de tal manera que se les aplicó a las ratas una dosis de 1 mg/kg en un volumen según su peso entre 1000.

Eserina (No 8375 de SIGMA). Se llevó a cabo la dilución de la substancia en aceite de maíz de tal forma que se aplicó a las ratas una dosis de 0.5 mg/kg en un volumen según su peso entre 1000.

Procedimiento

La aplicación crónica se llevó a cabo durante 65 días consecutivos de 12 a 13 hrs por vía intrafágica, la substancia que se empleó dependió del grupo al que perteneció el sujeto a tratar; agua destilada, aceite de maíz, dicitiorvos, o eserina.

Concluidos los 65 días, uno de los dos grupos pertenecientes a la aplicación crónica pasó al entrenamiento conductual y el otro fué sacrificado para la obtención de material biológico para las determinaciones bioquímicas.

Fase II. - Entrenamiento Conductual

Aparatos y Material

Caja experimental (modificación del aparato reportado por Oades, 1981) de madera con dimensiones de 70 x 70 cm de largo y altura de 15 cm, pintada de color gris. En una de las paredes laterales está ubicada la caja de partida separada por una puerta de guillotina, en otra pared lateral en la proximidad al piso se encuentra una abertura de 1 cm cuya función fue la de facilitar la limpieza de la caja experimental, ya que por ahí se introducían y se sacaban los pisos de la caja. En el piso de la caja se localizan 16 hoyos de 4 cm de diámetro cada uno, separado uno de otro por un espacio de 10 cm, dichos hoyos tienen una profundidad de 1 cm y una base de plástico, por lo que funcionaron como comederos (fig. No 5). En algunos de los

comederos se colocaron pastillas de alimento convencional para roedores (ratoncina purina).

La caja experimental estuvo colocada durante todo el tiempo que duró la investigación en la esquina izquierda del cubículo No 3 del bioterio general de la ENEP Iztacala, donde siempre estuvo presente ruido consistente del sonido cotidiano emitido tanto por los demás animales como por la rutina de aseo del bioterio general.

Se usó un formato de registro (el cual se presenta en la página 94).

Fármacos y Substancias

Idéntico a los descritos previamente en el procedimiento de aplicación crónica.

Procedimiento

Se seleccionaron en forma aleatoria y por única ocasión cuatro de los 16 comederos de la caja experimental, y sólo en éstos se colocó una pastilla de alimento de 34 ± 2 mg en cada uno (comederos A), a lo largo de todo el entrenamiento se usaron siempre los mismos comederos A, éstos comederos se especifican en la figura No 5.

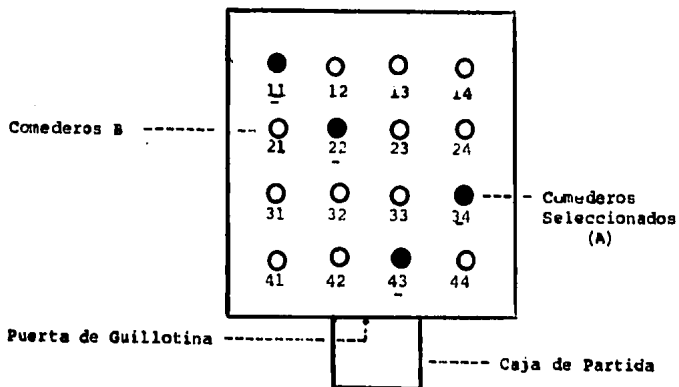


Fig. No 5. Piso de la caja experimental. Esta es representada en una escala de 1/10 cm². Los cuatro hoyos seleccionados en forma aleatoria en donde se colocó alimento fueron: 11, 22, 34 y 43.

Durante el entrenamiento conductual se continuó con la administración de las sustancias en condiciones idénticas a las descritas para la administración crónica.

Cada sesión experimental se inició con la administración intrafágica de la sustancia al sujeto; en cada caso se administró la misma sustancia que recibió durante la administración crónica.

Después de media hora de administración de la substancia se colocaron las pastillas de alimento en los comederos A, se introducía al animal a la caja de partida, se abría la puerta de guillotina, y se esperaba hasta que el sujeto entrara a la caja experimental e inmediatamente se cerraba la puerta de guillotina.

A partir del momento en que el sujeto entraba a la caja experimental, se registró el tiempo que el animal invertía en comer las cuatro pastillas colocadas en los comederos A y la secuencia de visitar los diferentes hoyos tuvieran o no comida, considerando como respuesta correcta cuando el sujeto introducía el hocico a los comederos que tenían alimento y lo consumían y, respuesta incorrecta cuando el animal introducía el hocico a los comederos que no tenían alimento (comederos B) incluyendo los comederos A cuando ya se había consumido la pastilla de alimento (comederos A').

El registro se llevó a cabo anotando en la hoja de registro el número del comedero al que la rata había introducido el hocico, en el caso en que el animal consumía la pastilla de alimento, el número registrado fue encerrado en un círculo.

Cuando el sujeto consumió la última pastilla de alimento colocada en la caja experimental se consideró concluido un ensayo por lo que se abría la puerta de guillotina y era cerrada cuando el animal entraba a la caja de partida. Inmediatamente se volvían

a colocar nuevamente las pastillas de alimento en los comederos A y se abría la puerta de guillotina para iniciar nuevamente otro ensayo, este procedimiento se repitió hasta completar 10 ensayos, ya que cada sesión estuvo integrada por 10 ensayos.

Concluida una sesión el sujeto era regresado a su caja hogar, se continuó con la sesión de otro sujeto del mismo grupo hasta completar una sesión de todos los integrantes de un grupo en el mismo día. Concluida la sesión del último sujeto del grupo, se proporcionó alimento libre a todos los sujetos durante una hora.

En el intervalo entre sesiones de un día a otro se lavaban los comederos con agua y jabón para posteriormente secarlos con un trapo. Además se cambiaba y lavaba el piso de la caja experimental.

Se daba por concluido el entrenamiento conductual hasta que el sujeto emitía como máximo cuatro respuestas incorrectas en una sesión de diez ensayos por tres sesiones consecutivas, considerando que en una sesión el sujeto tenía que emitir forzosamente 40 respuestas correctas, por lo cual el criterio fue de un 10% de errores.

La confiabilidad entre observadores fue obtenida por el método de Gottman (1980) para datos secuenciales, mediante la fórmula:

$$Z = \frac{P(y/x) - P_y}{\sqrt{(1 - P_x)P_y(1 - P_y)/N_x}}$$

En donde:

P_x es la probabilidad de emisión de la respuesta correcta.

P_y es la probabilidad de emisión de la respuesta incorrecta.

$P(y/x)$ es la probabilidad de que se haya emitido la respuesta correcta seguida de la respuesta incorrecta en k observaciones.

N_x número de veces que se emitió la respuesta incorrecta.

La anterior fórmula se aplicó en forma independiente para cada observador, de tal manera que si las Z 's para ambos observadores resulta mayor que 1.96 o menor que -1.96 tienen una confiabilidad del 95% en el registro de la estructura secuencial.

Fase III. - Determinaciones Bioquímicas.

Las determinaciones bioquímicas se realizaron en los ocho grupos. Estas consistieron de:

- A).- Determinación de Proteínas en *extracto* de Cerebro.
- B).- Actividad Específica de Acetilcolinesterasa en Homogeneizado de Cerebro.

En el caso de los cuatro grupos que no pasaron al entrenamiento conductual, al día siguiente de concluidos los 45 días de aplicación crónica los sujetos fueron sacrificados en promedio una hora antes de la hora en que se les administraba la substancia.

Por otra parte, el sacrificio de los restantes cuatro grupos a los cuales se les entrenó conductualmente, se llevó a cabo bajo las mismas condiciones que los que no habían sido entrenados conductualmente, pero hasta el día siguiente que cumplían el criterio de adquisición de entrenamiento conductual.

SACRIFICIO DE LOS ANIMALES Y OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE TRABAJO.

El sacrificio de los animales y la obtención de las muestras de trabajo para las determinaciones bioquímicas se llevaron a cabo con el siguiente procedimiento:

Aparatos y Material

Una centrifuga refrigerada de alta velocidad. B-20A.

DAMON/IEC.DIVISION.

Un redstato. ABCG. (Controvac. México).

Un taladro. Cat.7106. (Black & Decker. México).

Un homogeneizador. (Thomas PHILA. No B11647. USA).

Un agiador magnético. (Corning PC-353 STIRRER).

Un potenciómetro digital. (Conductronic. PH10).

Una cámara de vidrio para anestesia de 16x16 cm de lado y 20 cm de alto, un estuche de disección, cajas de Petri de 3.5 cm de diámetro, pipetas Pasteur, pipetas volumétricas de 10 ml, barras magnéticas de 2.5cm x 0.5cm, jeringas de insulina o tuberculina, algodón, tubos de ensayo, vasos de precipitado de 250 500 y 1000

ni, una guillotina, hielo.

Fármacos y Substancias

Agua destilada.

Oxalato de Potasio - $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$ - al 1%. (REY-MOL. S.A.).

Eter - C_2H_5O - (J.T. Baker, S.A.).

Hidroxitetil aminometano - $C_6H_{11}NO_2$ - (Merck-México S.A.).

Cloruro de Sodio -Na Cl- (Merck-México S.A.).

Acido Clorhidrico -H Cl- al 1N (J.T. Baker, S.A.).

Hidroxido de Sodio -Na OH- al 1N (Merck-México S.A.).

Procedimiento

Se colocó algodón impregnado con eter en la cámara de vidrio, en ésta se introdujo al animal hasta que perdió el reflejo de enderezamiento, después todavía latiendo el corazón del animal, se desprendió la cabeza mediante una guillotina, con equipo de disección apropiado se cortó el cráneo a nivel medio sagital desde la nuca siguiendo la línea media hasta el frontal, después se separaron los lados laterales y posteriormente se desprendió el cerebro por su base colocandolo en una caja de Petri que se encontraba sobre hielo. El tiempo máximo transcurrido entre el desprendimiento de la cabeza y la colocación del cerebro en la caja de Petri fué de tres minutos.

El cerebro fué congelado a una temperatura de $-4^{\circ}C$ durante un tiempo no mayor a 10 días.

Cuando se descongeló el cerebro se realizaron el mismo día las determinaciones bioquímicas: cantidad de proteínas y actividad específica de acetilcolinesterasa en homogeneizado de cerebro.

El homogeneizado de cerebro se obtuvo de la siguiente manera;

Siempre se trabajó el cerebro sobre hielo.

Se preparó el Buffer TRISNA de acuerdo a la técnica de Dahi, Holt y Schroder, 1977 (TRIS-H CL, .002 M, pH 8.3), el cual consiste en pesar 242 mg de hidroximetil aminometano más 9 g de cloruro de sodio y disolverlas en un litro de agua destilada. Esta mezcla se colocó en el agitador magnético con una barra magnética, y se ajustó el Potencial Hidrogeno (pH) a 8.3 con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio

Al cerebro se le extrajeron los bulbos olfatorios y el cerebelo.

El cerebro se colocó en el homogeneizador y se agregaron 6 ml de Buffer TRISNA.

El vástago del homogeneizador se ajustó a la cabeza del taladro, y éste a su vez se conectó a un reóstato ajustado a 40 rpm.

Prendido el redstato el vástago se introdujo al homogeneizador 13 veces.

Esta mezcla se vació a un tubo de ensayo para ser centrifugada en refrigeración a una temperatura de 2-4 C° a 15 000 rpm durante 10 minutos.

El sobrenadante se separó con una pipeta Pasteur para efectuar las determinaciones bioquímicas (homogeneizado o extracto de cerebro).

DETERMINACION DE PROTEINAS EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO.

Este procedimiento se llevó a cabo con el objetivo de determinar la cantidad de proteínas existentes en el extracto de cerebro.

Aparatos y Material

Un espectrofótometro. (UV-210A Shimadzu).

Un agitador para tubos de ensayo. (Super-Mixer, at. No 1290 Lab-Line Instruments, Inc.U.S.A).

Vasos de precipitado, pipetas de 1 ml, pipetas de 10 ml, tubos de ensayo.

Fármacos y Substancias

Agua destilada.

Homogeneizado de Cerebro.

Sulfato de Cobre Pentahidratado $-Cu SO_4 \cdot 5H_2O-$ al 0.5% (J.T. Baker, S.A.).

Tartrato de Sodio y Potasio $-K Na C_4 H_4 O_6 \cdot 4H_2O-$ al 2% (J.T. Baker, S.A.).

Carbonato de Sodio $-Na_2CO_3-$ al 2% (Productos Químicos Monterrey S.A.). Esta sustancia se preparó en Hidroxido de Sodio $-Na OH-$ al 0.1 N.

Hidroxido de Sodio (Na OH) al 0.1 N (Merck-México, S.A.).

Albumina de suero bovino fracc. V. (SIGMA de México S.A.).

Reactivo de Folín-Ciocalteu. Dilución 1 a 1. (SIGMA de México S.A.).

Procedimiento

Este procedimiento se llevó a cabo por el método de Lowry.

Rosebrangh, Farr y Randall (1951), el cual consistió de dos procedimientos:

- 1.- Obtención de la Curva Patrón
- 2.- Obtención de concentraciones de proteínas en Homogeneizado de Cerebro.

Obtención de la Curva Patrón

Se prepararon primeramente las soluciones "A" (sulfato de cobre pentahidratado) al 0.5%, "B" (Tartrato de Sodio y Potasio) al 2%, y la solución "C" (Carbonato de Sodio) al 2%, con éstas se preparó la solución "D", que consistió en la mezcla de un volumen

de la solución "A" más un volumen de la solución "B".

Posteriormente se preparó la solución "E", la cual consistió de 50 volúmenes de "C" y un volumen de "D".

Se colocaron 5 ml de solución "E" en 18 tubos de ensayo. Después en los primeros tres tubos se colocaron 1 ml en cada uno de agua destilada, en los siguientes tres tubos se vaciaron 1 ml de agua destilada que contenía 20 μg de proteína, a los siguientes tres tubos se le agregaron 1 ml de agua destilada que contenía 40 μg de proteína, y así sucesivamente con concentraciones de proteína de 60, 80 y 100 μg .

Posteriormente se agitó cada tubo. Se dejó reposar 10 minutos. Después se colocó a cada tubo 0.5 ml de Reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1 a 1. Se agitó cada tubo. Se dejó reposar 30 minutos y posteriormente se midió la absorbancia a 750 nm.

Obtención de Concentración de Proteínas en Homogeneizado de cerebro

Igual al procedimiento anterior con la excepción de que no se usó albumina de suero bovino, en su lugar se administró 5 μl de homogeneizado de cerebro adicionándose los mismos reactivos y volúmenes correspondientes como en la curva patrón.

La concentración de proteína se obtuvo por interpolación de la absorbancia en la curva patrón.

ACTIVIDAD ESPECIFICA DE ACETILCOLINESTERASA EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO.

Este método tiene como finalidad medir la actividad de la enzima indirectamente a través del ácido acético que produce la hidrólisis de acetilcolina, el ácido acético fue cuantificado mediante el cambio en el pH del medio de reacción.

Aparatos y Material

Un agitador magnético. (Corning PC-353. STIRRER).

Un potenciómetro Digital. (Conductronic. PH 10).

Barras magnéticas de 6cm x 1.5cm y 2.5cm x 0.5cm, hielo, pipetas de 1ml, pipetas de 10 ml, vasos de precipitado, tubos de ensayo.

Fármacos y Substancias

Además de las mencionadas para obtener las muestras de trabajo se requirió de Cloruro de Acetilcolina (No A-6625. SIGMA USA).

Procedimiento

Este se llevó a cabo por el método propuesto por Dahl y cols (1977), el cual consistió de dos procedimientos:

1.- Obtención de la Curva Patrón de Acido Acético.

2.- Obtención de la actividad específica de la Acetilcolinesterasa.

Obtención de la Curva Patrón de Acido Acético

Se construyó utilizando concentraciones desde 0.001 M a 0.0044 M de ácido acético, a estas concentraciones se les agregaron 6 ml de Buffer Trisma -0.002 M- (la preparación de esta mezcla se especificó en el procedimiento de sacrificio de los animales y obtención de las muestras de trabajo), posteriormente se midió el pH utilizando un potenciómetro.

Obtención de la Actividad Específica de la Acetilcolinesterasa

Se preparó Cloruro de Acetilcolina a una concentración de 9×10^{-6} M en Buffer TRISMA, su pH osciló entre 8.19 a 8.22.

En un vaso de precipitado se colocó 1 ml de extracto de homogeneizado de cerebro más 6 ml de cloruro de acetilcolina en Buffer TRISMA, se dejaron transcurrir 3 minutos sin registro alguno, durante este tiempo y a la brevedad posible se colocó a dicha substancia la pequeña barra magnética sobre el agitador magnético y se introdujo el electrodo del potenciómetro. Exactamente en el minuto cuatro se inició a registrar el PH de la substancia cada minuto hasta tener 30 minutos de actividad.

Resultados

Para mayor claridad en la exposición de los resultados es importante recordar que este experimento estuvo integrado por tres fases:

- I.- Administración Crónica.
- II.- Entrenamiento Conductual.
- III.- Determinación bioquímica.

En la fase I que corresponde a la administración crónica no se requirió de un análisis de datos debido a que fué un procedimiento de tratamiento en donde solo se administró a los sujetos una substancia, siendo ésta Fase necesaria para la subsiguiente Fase.

En la fase de entrenamiento conductual se llevó a cabo el cálculo y análisis de las siguientes variables:

- a).- La Confiabilidad entre observadores.
- b).- El número de ensayos invertidos por cada sujeto para lograr el aprendizaje de lugar.
- c).- Porcentaje de Respuestas Correctas = $\frac{A}{A + A' + B} \times 100$

e).- Eficiencia Temporal= $\frac{\text{Numero de Resp. Correctas}}{\text{Tiempo Total (Seg.)}}$

Donde:

A= Número de veces que el animal introdujo el hocico a los comederos que tenían alimento y lo consumía; Respuesta correcta.

A'= Número de veces que el animal introdujo el hocico a los comederos A, cuando ya había sido consumido el alimento; Respuesta incorrecta.

B= Número de veces que el animal introdujo el hocico a aquellos comederos que nunca se les colocó alimento; Respuesta incorrecta.

A continuación se describen cada una de las mediciones y la forma en que se llevó a cabo el análisis de resultados.

CONFIABILIDAD

El registro de dos observadores para obtener la confiabilidad entre estos se llevó a cabo tres veces a la semana en forma aleatoria. La confiabilidad fue calculada de acuerdo a la fórmula de Gottman señalada anteriormente por sesión en cada uno de los sujetos. Los valores de las Z's obtenidas oscilaron de 1.30 a 1.90, lo que indica que hubo una confiabilidad entre observadores de 80% a 94%.

APRENDIZAJE DE LUGAR

El número de ensayos invertidos por cada sujeto para lograr el aprendizaje de lugar, consistió en contar las sesiones que

cada sujeto necesitó para alcanzar el criterio de adquisición (emisión máxima de cuatro respuestas incorrectas en la sesión durante tres sesiones consecutivas). Los resultados se muestran en la tabla No 2.

El análisis estadístico del número de sesiones empleadas por los sujetos se llevó a cabo mediante un análisis de varianza completamente aleatorizado de una vía (administración crónica), cuyos resultados se presentan en la Tabla No 3, en dicha Tabla se observa que la diferencia entre los grupos resultó significativa con una $p < 0.05$, resultado que condujo a realizar una prueba de comparaciones múltiples de Tukey para obtener todas las comparaciones pareadas entre promedios. La prueba de Tukey cuantificó las siguientes diferencias significativas entre grupos con una $p < 0.05$: agua-diclorvos; agua-eserina; aceite-diclorvos; aceite-eserina. No encontrándose diferencia significativa entre los grupos de agua-aceite; eserina-diclorvos.

El resultado anterior explicita que los datos señalan suficiente evidencia estadística (con una confiabilidad del 95%) como para poder afirmar que los sujetos que integraron los grupos experimentales invirtieron significativamente un número menor de sesiones para lograr el aprendizaje de lugar que los grupos de agua y aceite, fenómeno que se observa visualmente en la fig No 6:

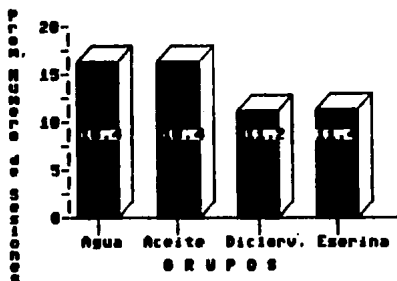


Fig. No 6. Gráfica del promedio de sesiones que cada grupo invirtió para lograr el aprendizaje de lugar. El eje de la abscisa representa los diferentes grupos, y el eje de la ordenada el promedio de sesiones empleadas por grupo en el aprendizaje de lugar. El dato expresado dentro de cada barra es el promedio específico por grupo. La diferencia que se observa entre los grupos control y los experimentales fué significativa con una $p < 0.05$

A continuación se describe la forma en que fué cuantificado y analizado el porcentaje de respuestas correctas y la eficiencia temporal, por ello es importante aclarar que el primer ensayo de la primera sesión no fué considerado para dicho análisis, sin embargo, los resultados de éste ensayo se presentarán posteriormente por razones que serán explicadas en su momento.

PORCENTAJE DE RESPUESTAS CORRECTAS

La cuantificación del porcentaje de respuestas correctas se

llevó a cabo por sesión (10 ensayos) en cada uno de los sujetos de acuerdo a la fórmula señalada anteriormente. Los resultados se presentan en la Tabla No 4. Con éstos datos se realizó un ajuste lineal por mínimos cuadrados de la ejecución emitida por cada sujeto, así como una prueba t^* de student para demostrar significancia de la recta obtenida del ajuste, el resultado de tal análisis se expresa en la Tabla no 5.

En la Tabla No 5 se advierte que las pendientes resultaron significativas ($p < 0.01$); las t^* calculadas fueron mayores que las t^* teóricas), lo que indica que existe una línea recta que representa el proceso del aprendizaje de lugar, por consiguiente, las pendientes de dichas rectas son representativas y significativas, de ahí que se consideraran éstas para comparar la ejecución de los diferentes grupos respecto al proceso del aprendizaje de lugar. La comparación de las pendientes entre grupos se llevó a cabo mediante un análisis de varianza completamente aleatorizado de una vía (administración crónica), cuyos resultados se presentan en la Tabla No 6.

El resultado del análisis de varianza para encontrar diferencias grupales entre pendientes, resultado que es expresado en la Tabla No 6, cuantificó la existencia de diferencia entre los grupos con una $p < 0.01$, debido a ello se continuó con el cálculo de comparaciones múltiples (Prueba de Tukey), encontrándose diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los siguientes grupos: agua-diclorvos; agua-eserina; aceite-diclorvos; aceite-eserina. No hallando diferencia

significativa entre los grupos: agua-aceite; eserina-diclorvos.

Por lo tanto, se puede afirmar estadísticamente (con una confiabilidad del 99%), que el grupo de diclorvos y el de eserina tuvieron una pendiente mayor (una inclinación más pronunciada) que los grupos de agua y aceite, es decir, los grupos de diclorvos y eserina tuvieron una aceleración mayor (velocidad mayor de adquisición) en el proceso de aprendizaje de lugar que los grupos de agua y aceite, dicho resultado se observa gráficamente en la fig No 7:

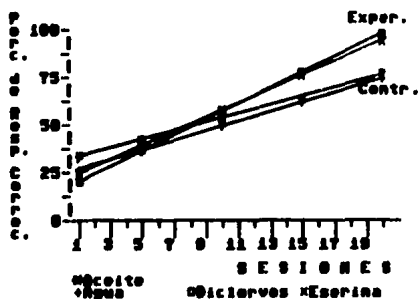


Fig. No 7. Gráfica del promedio por grupo de las pendientes del aprendizaje de lugar. El eje de la abscisa representa las sesiones, el eje de la ordenada el porcentaje de respuestas correctas. La diferencia que se observa entre los grupos experimentales con respecto a los controles fué significativa ($p < 0.01$).

EFICIENCIA TEMPORAL

La cuantificación y análisis de la eficiencia temporal se realizó de la misma forma que el porcentaje de respuestas correctas, ver Tablas No 7, 8 y 9.

En la Tabla No 9 se evidencia que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los grupos con respecto a las pendientes, en otras palabras, los grupos tratados son iguales respecto al proceso de la eficiencia temporal, fenómeno que se observa gráficamente en la fig No 8;

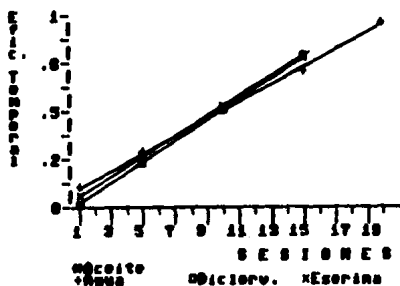


Fig. No 8. Gráfica del promedio por grupo de las pendientes de la eficiencia temporal. En el eje de la abscisa se representa a las sesiones, en el eje de la ordenada la eficiencia temporal. No hubo diferencia significativa entre los grupos.

CATEGORIA "C"

Por otra parte, el ensayo No 1 de la primera sesión no fue incluido para realizar los tres últimos análisis debido a que se presentó el siguiente fenómeno: sólo en el primer ensayo, es decir

en el inicio de la fase de entrenamiento conductual, todos los sujetos emitieron una categoría de respuesta no considerada en la investigación, la cual consistió en visitar los comederos que tenían comida y no consumirla (categoría C), todos los animales consumieron el alimento tiempo después de permanecer en la caja experimental, por lo cual, el análisis de resultados que se llevó a cabo de este primer ensayo fue el porcentaje de emisión de esta categoría C y la eficiencia temporal.

En la Tabla No 10 se presentan los resultados del porcentaje de respuesta de la categoría C.

En la Tabla No 11 se expresan los resultados del análisis de varianza completamente aleatorizado de una vía para comparar los grupos con respecto al porcentaje de respuesta de la categoría C, encontrándose diferencia significativa al nivel de 0.05 ($p < 0.05$), debido a ello se llevó a cabo un análisis de Comparaciones Múltiples de Tukey, arrojando ésto diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos: agua-enserina; aceite-enserina. No se encontró diferencia significativa entre los grupos: agua-aceite; agua-diclorvos; aceite-diclorvos y diclorvos-enserina.

Lo cual significa que existe diferencia entre los grupos controles (agua y aceite) con respecto a uno de los grupos experimentales (enserina) en relación al porcentaje de visitas a los comederos que tenían comida y no consumirla en el primer ensayo del entrenamiento conductual, resultado que puede visualizarse en la Fig. No 9:



Fig. No 9. Gráfica del porcentaje promedio de emisión de la categoría C en el primer ensayo. En el eje de la abscisa se representa a los diferentes grupos, en el eje de la ordenada el porcentaje promedio por grupo de la categoría C. Sólo se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el grupo experimental que recibió eserina y los grupos controles.

Continuando con el análisis del primer ensayo, en la Tabla No 12 se representa la eficiencia temporal de cada uno de los sujetos.

En la Tabla No 13 se expresan los resultados del análisis de varianza completamente aleatorizado de una vía que se llevó a cabo

para evaluar la eficiencia temporal del primer ensayo entre los grupos, encontrándose que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre ellos, en otras palabras, los sujetos de los diferentes grupos son iguales respecto a la eficiencia temporal emitida en el primer ensayo, es decir, la diferencia obtenida entre grupos se debe a eventos aleatorios, factor que puede observarse en la Fig. No 10:

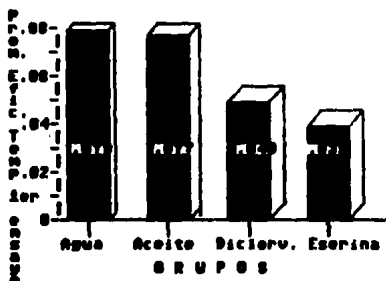


Fig. No 10. Gráfica del promedio por grupo de la eficiencia temporal en el primer ensayo. El eje de la abscisa representa a los diferentes grupos, el eje de la ordenada el promedio de la eficiencia temporal. El dato expresado dentro de cada barra es el promedio específico por grupo en el primer ensayo. No se encontró diferencia significativa entre los grupos.

La fase III que corresponde a las determinaciones bioquímicas, se llevó a cabo la cuantificación y análisis de:

DETERMINACION DE PROTEINAS EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO.

Curva Patrón

Obtención de Concentraciones de Proteínas.

ACTIVIDAD ESPECIFICA DE ACETILCOLINESTERASA

Curva Patrón del Acido Acético.

Actividad Específica de la Acetilcolinesterasa

Por lo cual, la exposición de los resultados y análisis de datos se llevará a cabo en el orden citado, además, es importante recordar que las determinaciones bioquímicas se realizaron en los ocho grupos (4 grupos sin entrenamiento conductual y 4 grupos con entrenamiento conductual).

DETERMINACION DE PROTEINAS EN HOMOGENEIZADO DE CEREBRO.

Curva Patrón.

Esta se obtuvo a partir de realizar un ajuste lineal por mínimos cuadrados de la relación concentración de proteínas-absorbancia a 750 nm. En la fig. No 11 se muestra la curva patrón de proteínas:

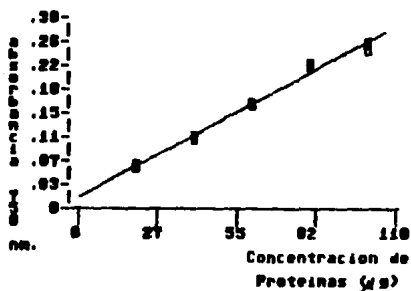


Fig. No 11. Curva patrón de proteínas. En el eje de la abscisa se representa la concentración de proteínas expresadas en µg, y en el eje de la ordenada la absorbancia medida a 750 nanómetros. Con (Q) se representa la intersección entre la concentración de proteínas y la absorbancia, con la línea recta los valores estimados mediante el ajuste por mínimos cuadrados; con una pendiente de 0.02, una ordenada al origen de 0.01 y un coeficiente de determinación de 0.99.

Concentración de Proteínas.

Los valores obtenidos con este procedimiento por cada uno de los sujetos fué por duplicado, por lo que se obtuvo el valor promedio de las dos mediciones en cada sujeto, posteriormente, dicho valor (absorbancia) fué interpolado a la curva patrón de proteínas, para conocer la concentración de proteínas expresada en µg. Después, mediante una regla de tres se calculó para cada valor la concentración de proteínas en µg por mililitro.

Los anteriores resultados se muestran en la Tabla No 14.

El análisis de resultados que se llevó a cabo fue un análisis de varianza de doble entrada (determinación bioquímica X administración crónica) para diseños factoriales, los resultados de este análisis se muestran en la Tabla no 15, no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) en alguno de los factores, por lo que se puede afirmar que estadísticamente la concentración de proteínas no difiere por el tratamiento proporcionado (agua, aceite, diclorvos y eserina), ni tampoco por el entrenamiento conductual, es decir, los ocho grupos son iguales, en otras palabras las diferencias que se observaron son producto de eventos aleatorios, fenómeno que puede visualizarse en la Fig. No 12.

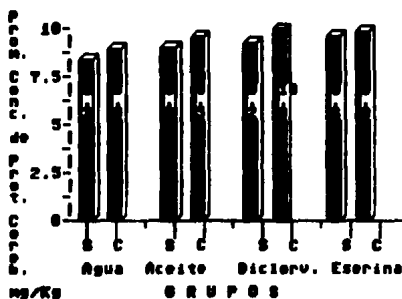


Fig. No 12. gráfica del promedio por grupo de la concentración de proteínas en homogeneizado de cerebro. S significa sin entrenamiento conductual y C con entrenamiento conductual. No se encontró diferencias significativas entre los grupos.

ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA ACETILCOLINESTERASA

Curva Patrón del Acido Acético.

Esta se obtuvo a partir de realizar un ajuste líneal por mínimos cuadrados de la relación concentración de ácido acético-potencial hidrógeno (pH). En la Figura No 13 se muestra dicha curva:

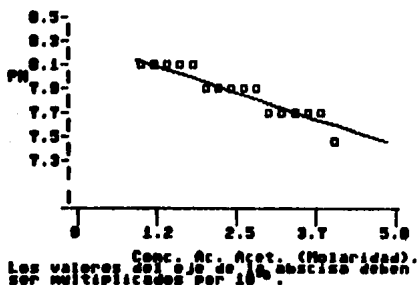


Fig. No 13. Curva patrón del ácido acético. En el eje de la abscisa se representa la concentración de ácido acético expresado en molaridad (M), y en el eje de la ordenada el pH. Con (□) se representa la intersección entre estas dos variables, la línea recta representa los valores estimados mediante el ajuste por mínimos cuadrados; con una pendiente de -0.018 , una ordenada al origen de 8.39 y un coeficiente de determinación de 0.91 .

Actividad Específica de la Acetilcolinesterasa.

Primeramente fueron interpolados los 30 valores de pH de cada sujeto a la curva patrón de ácido acético para conocer la concentración de ácido acético (molaridad) que correspondió al pH medido, quedando una relación de minutos-molaridad de ácido acético por cada sujeto. Con esta relación se realizó un ajuste lineal por mínimos cuadrados para conocer la pendiente de esos 30 pares de datos por cada sujeto, las Tablas No 16 y No 17 muestran los resultados de este análisis con sujetos que no fueron y fueron entrenados en el aprendizaje de lugar respectivamente. En las dos anteriores Tablas se observa que las pendientes resultaron significativas ($p < 0.01$), lo que nos demuestra en términos estadísticos de que existe una relación lineal entre minutos-concentración de ácido acético, por consiguiente, las pendientes son representativas y significativas.

Debido al resultado anterior, la pendiente de cada sujeto fue dividida por la concentración de proteínas obtenida para ese sujeto, este producto representa la actividad específica de la acetilcolinesterasa, Tabla No 18. El análisis de resultados que se llevó a cabo fue un análisis de varianza de doble entrada (determinación bioquímica X administración crónica) para diseños factoriales, cuyos resultados se representan en la Tabla No 19.

Los resultados de este análisis arrojaron diferencias significativas en la actividad específica de la acetilcolinesterasa ($p < 0.01$) entre los diferentes tratamientos a los que estuvieron expuestos los sujetos (agua, aceite, diclorvos y eserina), no así antes y después del entrenamiento conductual ($p > 0.05$).

Debido a los anteriores hallazgos se realizaron comparaciones múltiples con una prueba de Tukey para diseños factoriales con un nivel de significancia de 0.01 para conocer los grupos específicos que estadísticamente fueron diferentes con respecto a la actividad específica de la acetilcolinesterasa, los resultados de este análisis arrojaron diferencias significativas entre los grupos: agua-diclorvos; agua-eserina; aceite-diclorvos, aceite-eserina, no encontrando diferencias significativas en los grupos agua-aceite y diclorvos-eserina.

Por lo que podemos señalar que de los anteriores datos emerge evidencia estadística para poder concluir que la actividad específica de la acetilcolinesterasa fue menor en los sujetos que estuvieron expuestos crónicamente a fármacos cuyo mecanismo de acción inhibe a la acetilcolinesterasa, resultado que puede observarse en la Fig. No 14.

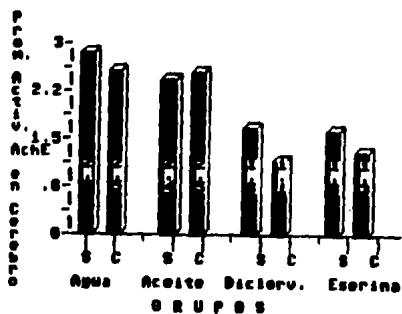


Fig. No. 14. Gráfica del promedio por grupo de la actividad específica de la acetilcolinesterasa en homogenado de cerebro. En la abscisa se representa a los diferentes grupos usados para la administración crónica, y en la ordenada el promedio de la actividad de la acetilcolinesterasa. El dato dentro de cada barra es el promedio específico por grupo, expresado en $M_{10}^{-5} \text{ x min}^{-1} \text{ x } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína. El análisis de datos arrojó diferencia significativa ($p < 0.01$) entre los grupos controles con respecto a los experimentales.

Para finalizar este apartado a continuación se presentan una serie de puntos a manera de conclusión respecto a los hallazgos de la presente investigación:

1.- Los grupos experimentales (diclorvos y eserina) invirtieron significativamente ($p < 0.05$) menos sesiones para lograr el aprendizaje de lugar que los grupos controles (agua y aceite).

2.- Los grupos controles mostraron una aceleración significativamente mayor ($p < 0.01$) en el aprendizaje de lugar que los grupos controles.

3.- El análisis de la eficiencia temporal no arrojó diferencia significativa entre grupos.

4.- Respecto al análisis del primer ensayo, el porcentaje de emisión de la categoría C, resultó significativo el grupo de eserina con relación a los demás grupos ($p < 0.05$), es decir, el grupo de eserina tuvo un mayor porcentaje de emisión de la categoría C que los demás grupos.

5.- Continuando con los resultados del análisis del primer ensayo, no se encontró diferencia significativa entre los grupos con respecto a la eficiencia temporal.

6.- No se encontró diferencia significativa en la cantidad de proteínas en extracto de cerebro entre los grupos administrados crónicamente.

7.- No se halló diferencia significativa en la cantidad de proteínas en el homogeneizado de cerebro en los sujetos que no fueron y fueron entrenados conductualmente.

8.- Se halló diferencia significativa ($p < 0.01$) en la actividad específica de la acetilcolinesterasa en los grupos experimentales con respecto a los controles, es decir, los grupos de dieldrivos y eserina tuvieron una menor actividad específica de la acetilcolinesterasa.

9.- No se encontró diferencia significativa en la actividad específica de la acetilcolinesterasa entre los sujetos que no fueron y fueron entrenados conductualmente.

Discusion

En la presente investigación fué necesario realizar experimentos preliminares para llevar a cabo la investigación formal objetivo de ésta tesis debido a que se empleó una dosis subumbral; por lo que fué menester conocer la curva dosis-respuesta cuantitativa del primer efecto conductual observable de las dos sustancias anticolinesterásicas empleadas (dieldrivos y eserina).

La dosis subumbral elegida para cada fármaco fue arbitraria considerando solo que la dosis para las dos sustancias tuvieran un efecto conductual equivalente (1 mg/kg para el diclorvos y 0.05 mg/kg para la eserina).

Los animales tratados diariamente con diclorvos o eserina en dosis subumbrales desde el destete hasta llegar adultos, adquirieron más rápidamente el aprendizaje de lugar por ensayo y error que aquellos sujetos a los que no se les administró dichas sustancias ($p < 0.05$). Este resultado puede correlacionarse directamente con la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa, la cual fue menor en los sujetos que estuvieron expuestos tanto al diclorvos como a la eserina ($p < 0.01$), lo que nos indica indirectamente que la cantidad de acetilcolina cerebral fue mayor en estos sujetos. Por ello, se puede concluir que la facilidad para aprender de los sujetos expuestos al diclorvos y a la eserina se puede correlacionar con el incremento de la cantidad de acetilcolina cerebral.

Estos hallazgos difieren de los de Merrill (1969) y Upchurch y Wehner (1987) probablemente por la administración del fármaco, en el caso de Merrill porque fue aguda, y en el caso de Upchurch y Wehner porque a pesar de haber administrado crónicamente el antiAChE (DFP), no fue administrado en forma continua durante el crecimiento de los sujetos, siendo que en la investigación de esta tesis los anticolinesterásicos fueron administrados en sujetos en proceso de crecimiento durante 65 días antes del entrenamiento conductual y durante el mismo.

Además es importante señalar que el experimento de Merrill (1969) como el de Upchurch y Wehner (1987) no midieron la actividad de la AchE para determinar una correlación con la ejecución obtenida en la ejecución del aprendizaje de lugar.

Por otra parte, los resultados de la investigación de esta tesis pueden ser relacionados en forma parcial con uno de los experimentos que llevaron a cabo Oiton y cols (1977). La relación consiste en que los citados autores reportaron en forma bastante escueta, que los animales al ser expuestos sin entrenamiento previo al laberinto no consumían el alimento en forma inmediata, fenómeno que en la presente investigación se designó como categoría C. Los autores no realizaron ningún registro, ni análisis de dicho fenómeno. Por lo que los resultados de la presente investigación deja cuestionamientos abiertos para futuras investigaciones.

Discusión General

El aprendizaje de lugar es otra forma de aprendizaje el cual requiere para que se lleve a cabo de situaciones espaciales.

La adquisición de este aprendizaje se ha estudiado mediante evitación (Morris, 1984), aproximaciones sucesivas (Olton y Samuelson, 1976) y por ensayo y error (Olton y cols, 1977).

La adquisición por ensayo y error del aprendizaje de lugar sólo se ha realizado en un experimento reportado por Olton y cols (1977), en donde los resultados obtenidos por los autores muestran una relación lineal significativa del proceso de aprendizaje, es decir, con pendiente lineal (la pendiente indica el promedio de aceleración del proceso), razón por la cual el proceso de adquisición del aprendizaje de lugar por ensayo y error medida en la investigación de esta tesis fue analizada mediante una relación lineal, tomando como parámetro las pendientes, en donde es un requisito indispensable que resulten significativas para la comparación entre los grupos. Los grupos de eserina y diclorvos tuvieron una aceleración mayor (una inclinación de la pendiente más pronunciada) en el proceso de adquisición que los grupos de agua y aceite.

En términos de la metodología y medición bioquímica los resultados del presente estudio pueden relacionarse con la investigación llevada a cabo por Rosenzweig (1980). El cual a

pesar de que no empleó fármaco alguno, usó un procedimiento de estimulación ambiental (enriquecimiento ambiental) con exposición crónica desde el destete hasta la adultez de los sujetos experimentales, para posteriormente realizar una evaluación bioquímica y anatómica, consistente en medir la actividad de la acetilcolinesterasa y pesar el cerebro respectivamente.

Los resultados del experimento de Rosenzweig (1980) reportaron un incremento en la actividad de la acetilcolinesterasa en los sujetos experimentales.

El hallazgo de Rosenzweig respecto a un incremento en la actividad de la acetilcolinesterasa en sujetos expuestos crónicamente a un medio ambiente enriquecido, y el resultado de la presente investigación de un decremento en la actividad de la acetilcolinesterasa por medios farmacológicos originando que los sujetos aprendieran más rápidamente conduce al siguiente cuestionamiento: ¿acaso un incremento en la cantidad de la acetilcolina origina una mayor actividad de la acetilcolinesterasa como fue el caso del experimento de Rosensweig?, la respuesta a la anterior interrogante queda abierta para futuras investigaciones.

Hasta la escritura de este trabajo en la literatura no existen reportes del uso del diclorvos en procesos de aprendizaje o de memoria, por otra parte, la eserina o fisostigmina es la substancia anticolinérgica mayormente empleada en las investigaciones para evaluar memoria a través de

la retención de una respuesta, sin embargo, ésta sustancia no ha sido explorada para evaluar procesos de adquisición de aprendizaje por ensayo y error.

En consecuencia, debido a la selección arbitraria de las dosis subumbrales de ambas sustancias anticolinesterásicas y al objetivo de la presente investigación, es importante preguntarse ¿hasta dónde el efecto de facilitación en un proceso de adquisición de aprendizaje es posible con dosis subumbrales más bajas o más altas de éstos anticolinesterásicos?

Por otra parte, la evaluación de la adquisición del aprendizaje de lugar se llevó a cabo a través de mediciones discretas (respuestas correctas y respuestas incorrectas) como la han realizado los investigadores que han trabajado con el modelo de memoria espacial (Olton y Samuelson, 1976; Olton y cols, 1977; Oades, 1981), sin embargo, tanto en los laberintos radiales como en la "caja con hoyos" los animales ejecutan una secuencia conductual originando patrones de ejecución secuencial específica. Fenómeno que no ha sido evaluado ni analizado por los investigadores (Papini, 1984).

De ahí que sea importante señalar que la evaluación, análisis y confiabilidad entre observadores de eventos secuenciales en el aprendizaje de lugar deben de llevarse a cabo en futuras investigaciones.

Se puede afirmar que la "caja con hoyos" representa una

alternativa de evaluación dentro del aprendizaje espacial en donde resta mucho por investigar.

Finalmente, se puede señalar que las tres hipótesis planteadas al inicio de este trabajo fueron corroboradas.

T A B L A S

Tabla No 1. Diseño factorial 2x4

	Admón. crónica de agua	Admon. crónica de aceite	Admón. crónica de diclorvos	Admón. crónica de escrina
Determinación bioquímica sin entrenamiento conductual	Grupo No 1.	Grupo No.2.	Grupo No 3.	Grupo No 4.
Determinación bioquímica con entrenamiento conductual	Grupo No 5.	Grupo No 6.	Grupo No 7.	Grupo No 8.

Tabla No 2. Número de sesiones invertidas por cada sujeto
en el aprendizaje de lugar

Agua (Sesiones)	Aceito (Sesiones)	Diclorvos (Sesiones)	Escrina (Sesiones)
14	16	11	11
19	23	12	9
21	15	13	13
16	13	9	11
13	15	11	13

Tabla No 3. Resultado del análisis de varianza de las sesiones invertidas por los sujetos en el aprendizaje de lugar

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Tratamientos	3	43.38	5.76
Error	16	7.52	
Total	19		

$$F(3,16) = 5.76, p < 0.025 \quad (\alpha = 0.05)$$

ESTA TESIS
 NO DEBE
 SALIR DE LA
 BIBLIOTECA

Tabla No 4. Porcentaje de respuestas correctas

		S e s i c n e s													
Sujeto		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
- 84 -	Agua	2	31	58	63	72	80	86	1	86	90	86	88	97	
		3	29	45	38	51	62	71	90	95	1	85	86	95	
		4	24	47	45	62	72	68	90	76	1	86	86	1	
		6	37	61	55	81	90	88	97	95	85	86	1	70	
		7	24	48	66	71	70	74	97	1	83	88	97	1	
		1	36	31	33	65	51	58	55	63	57	64	85	85	85
		2	31	48	52	47	62	62	66	76	71	67	78	71	71
3	32	45	51	52	74	88	87	93	83	1	1	75	75		
4	28	38	43	57	54	54	67	85	62	88	97	1	1		
7	28	56	52	70	74	56	88	87	80	93	83	81	81		
Eserina	Diclorvos	1	28	47	49	44	37	55	88	78	90	95	90	95	
		2	29	43	60	49	61	70	75	1	87	93	95	95	
		4	30	34	47	39	52	45	66	60	80	75	90	93	
		6	41	48	57	51	58	88	93	97	93				
		6	41	48	57	51	58	88	93	97	93				
Eserina	Aceite	1	28	34	48	40	45	76	81	68	95	90	95		
		2	40	47	62	78	72	81	90	93	93				
		3	42	56	76	80	79	66	88	95	97	85	97	95	
		4	34	45	44	43	74	80	67	80	90	90	95	95	
		5	26	34	53	57	62	53	54	95	80	85	90	90	

Tabla No 4. Porcentaje de respuestas correctas
(continuación)

		S e s i o n e s										
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Agua	Sujeto											
	2	97	95									
	3	80	85	83	93	98	93					
	4	95	85	85	86	93	88	93	95	95		
	6	88	1	90	95							
	7	97										
Aceite	1	88	95	97	97							
	2	85	81	81	80	90	76	90	88	93	90	93
	3	1	97	95								
	4	95										
	7	1	97	1								
Diclorvos	1											
	2											
	4	90										
	6											
Eserina	1											
	2											
	3	97										
	4											
	5	90										

Tabla No 5. Resultados del ajuste por mínimos cuadrados del porcentaje de respuestas correctas

	Sujeto	Pendiente	Ordenada	El error estándar de la estimación	Coefficiente de determinación	t Calc.	t. ($\alpha/2 = 0.005$)	
-64- Agua	2	3.75	52.50	0.1119	0.6802	5.0525	t 12 = 3.0545	
	3	3.30	45.20	0.1378	0.6350	5.2761	t 16 = 2.9208	
	4	2.51	51.92	0.1311	0.5981	5.3102	t 19 = 2.8609	
	6	2.47	61.35	0.1387	0.4357	3.2882	t 14 = 2.9768	
	7	4.99	43.73	0.1226	0.7328	5.4935	t 11 = 3.1058	
	Aceite	1	4.49	28.04	0.0765	0.8933	10.8278	t 14 = 2.9768
		2	2.25	45.92	0.0676	0.8425	10.5992	t 21 = 2.8314
3		4.24	44.19	0.1279	0.7032	5.5501	t 13 = 3.0123	
4		5.86	25.69	0.0781	0.9032	10.1350	t 11 = 3.1058	
7		4.02	44.13	0.1044	0.7616	6.4461	t 13 = 3.0123	
Diclorvos	1	6.76	23.14	0.1091	0.8243	6.4996	t 9 = 3.2498	
	2	6.07	31.93	0.0852	0.8709	8.5229	t 10 = 3.1693	
	4	5.52	22.92	0.0625	0.9281	11.9207	t 11 = 3.1058	
	6	7.73	30.88	0.0861	0.8734	6.9503	t 7 = 3.4995	
Eserina	1	7.19	20.43	0.0901	0.8862	8.3724	t 9 = 3.2498	
	2	6.81	18.80	0.0628	0.9096	8.3957	t 7 = 3.4995	
	3	3.78	54.49	0.0961	0.7193	5.3098	t 11 = 3.1058	
	4	6.27	29.81	0.0800	0.8824	8.2197	t 9 = 3.2498	
	5	5.18	31.30	0.1094	0.7878	6.3908	t 11 = 3.1058	

Tabla No 6. Resultados del analisis de varianza de las pendientes del porcentaje de respuestas correctas

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razon F
Tratamientos	3	0.00133	16.88
Error	16	0.00008	
Total	19		

$F(3, 16) = 16.88, p < 0.005 (\alpha = 0.01)$

Tabla No 7. Eficiencia temporal

		S e s i o n e s											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Agua	Sujeto												
	2	0.01	0.07	0.10	0.15	0.19	0.15	0.25	0.32	0.25	0.41	0.34	0.29
	3	0.02	0.09	0.12	0.19	0.35	0.33	0.40	0.73	0.42	0.51	0.34	0.45
	4	0.02	0.14	0.15	0.24	0.16	0.13	0.27	0.43	0.27	0.38	0.39	0.35
	6	0.05	0.20	0.28	0.51	0.67	0.40	0.70	0.71	0.48	0.48	0.77	0.54
	7	0.02	0.07	0.13	0.14	0.20	0.11	0.36	0.35	0.45	0.56	0.34	0.37
	1	0.02	0.05	0.06	0.18	0.18	0.22	0.24	0.31	0.38	0.52	0.55	0.46
Aceite	2	0.05	0.10	0.04	0.12	0.14	0.17	0.20	0.31	0.18	0.27	0.42	0.48
	3	0.04	0.11	0.08	0.14	0.22	0.39	0.56	0.64	0.39	0.04	1.15	0.71
	4	0.01	0.03	0.09	0.17	0.13	0.23	0.17	0.37	0.28	0.40	0.36	0.67
	7	0.01	0.14	0.04	0.13	0.14	0.12	0.37	0.36	0.35	0.49	0.70	0.52
	1	0.02	0.12	0.08	0.06	0.12	0.19	0.26	0.19	0.30	0.30	0.28	
Diclorvos	2	0.01	0.09	0.09	0.16	0.15	0.20	0.22	0.31	0.45	0.37	0.29	0.23
	4	0.02	0.07	0.10	0.11	0.27	0.18	0.27	0.21	0.35	0.34	0.38	0.41
	6	0.03	0.11	0.15	0.28	0.35	0.74	0.78	1.00	0.82			
	1	0.02	0.06	0.13	0.09	0.24	0.46	0.48	0.48	0.66	0.68	0.72	
Eserina	2	0.02	0.15	0.20	0.31	0.36	0.36	0.45	0.60	0.58			
	3	0.01	0.07	0.54	0.33	0.37	0.28	0.53	1.00	0.76	0.42	0.69	0.78
	4	0.02	0.08	0.20	0.13	0.18	0.28	0.43	0.30	0.47	0.42	0.43	
	5	0.01	0.06	0.24	0.34	0.31	0.27	0.18	0.55	0.54	0.58	0.55	0.71

Tabla No 7. Eficiencia temporal
(continuación)

S e s i o n e s

Sujeto	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Agua	2	0.55	0.68								
	3	0.36	0.74	0.66	0.79	0.98	1.04				
	4	0.29	0.67	0.80	0.85	0.89	0.98	0.95	1.00	0.99	
	6	0.50	1.12	0.76	0.90						
	7	0.56									
	1	0.42	0.88	0.68	0.57						
	2	0.33	0.59	0.53	0.40	0.52	0.48	0.53	0.60	0.66	0.88
Aceite	3	1.14	1.19	1.02							
	4	0.70									
	7	0.85	0.69	0.48							
Eserina Diclorvos	1										
	2										
	4	0.53									
	6										
Eserina	1										
	2										
	3	0.90									
	4										
	5	0.67									

Tabla No 8. Resultados del ajuste por mínimos cuadrados de la eficiencia temporal

Sujeto	Pendiente	Ordenada al origen	El error estándar de la estimación	Coefficiente de determinación	t Calc.	t. ($\alpha/2 = 0.025$)		
Agua	2	-0.0406	-0.0363	0.0765	0.8425	8.0139	t ₁₂ = 2.1788	
	3	0.0488	0.0087	0.1418	0.7821	7.9802	t ₁₆ = 2.1199	
	4	0.0517	-0.0764	0.1168	0.8882	12.2891	t ₁₉ = 2.0930	
	6	0.0429	0.2014	0.1795	0.5818	4.4135	t ₁₄ = 2.1448	
	7	0.0416	-0.0100	0.0863	0.7936	6.5046	t ₁₁ = 2.2010	
	Aceite	1	0.0471	-0.0482	0.1007	0.8417	8.6280	t ₁₄ = 2.1448
		2	0.0344	-0.0256	0.0852	0.8871	12.8480	t ₂₁ = 2.0796
3		0.0887	-0.1217	0.1732	0.8496	8.5708	t ₁₃ = 2.1604	
4		0.0524	-0.0896	0.0836	0.8669	8.4654	t ₁₁ = 2.2010	
7		0.0521	-0.0578	0.1217	0.7980	7.1681	t ₁₃ = 2.1604	
Diclorvos	1	0.0279	0.0065	0.0422	0.8432	6.9577	t ₉ = 2.2622	
	2	0.0296	0.0178	0.0776	0.6764	4.5722	t ₁₀ = 2.2281	
	4	0.0371	-0.0107	0.0453	0.9174	11.0532	t ₁₁ = 2.2010	
	6	0.1258	-0.1558	0.1185	0.9061	8.2227	t ₇ = 2.3646	
Eserina	1	0.0279	0.0065	0.0422	0.8432	6.9577	t ₉ = 2.2622	
	2	0.0689	-0.0083	0.0402	0.9618	13.2790	t ₇ = 2.3646	
	3	0.0618	0.0807	0.1956	0.6232	4.2659	t ₁₁ = 2.2010	
	4	0.0437	0.0049	0.0627	0.8556	7.3032	t ₉ = 2.2622	
	5	0.0544	0.0042	0.0924	0.8517	7.9498	t ₁₁ = 2.2010	

Tabla No 9. Resultados del análisis de varianza de las pendientes de la eficiencia temporal

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Tratamientos	3	0.00011	0.18
Error	<u>16</u>	0.00059	
Total	19		

$F(3,16) = 0.18, p > 0.025 (\alpha = 0.05)$

**Tabla No 10. Porcentaje de respuesta de las visitas a los comederos
que tenían alimento sin consumir (categoría C)
en cada uno de los sujetos**

Agua	Aceite	Diclorvos	Heerina
3.33	3.44	12.24	13.33
6.25	10.00	13.33	15.38
13.33	3.22	13.63	20.45
7.69	7.40	5.00	10.00
3.33	6.89	11.05	9.30

Tabla No 11. Resultados del análisis de varianza del porcentaje de respuestas de las visitas a los comederos que tenían alimento sin consumirlo (categoría C)

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Tratamiento	3	63.79	4.39
Error	<u>16</u>	14.50	
Total	19		

$F(3,16) = 4.39, p < 0.025 (\alpha = 0.05)$

Tabla No 12. Eficiencia temporal del 1^{er} ensayo de cada sujeto

Agua	Aceite	Diclorvos	Esarina
0.0657	0.0592	0.0319	0.0628
0.1015	0.1225	0.0199	0.0189
0.0619	0.0390	0.0765	0.0375
0.0824	0.0884	0.0660	0.0271
0.0877	0.0773	0.0511	0.0528

Tabla No 13. Resultados del análisis de varianza de la eficiencia temporal del 1^{er} ensayo

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Tratamientos	3	0.002010	3.78
Error	16	0.00053	
Total	19		

$F(3,16) = 3.78, \quad p > 0.025 \quad (\alpha = 0.05)$

**Tabla No 14. Determinación de proteínas en Homogeneizado de Cerebro
(mg/ml)**

	Agua	Aceite	Diclorvos	Neerina	
Sin entrenamiento	7.40	7.20	9.00	10.20	
	9.90	12.30	8.90	9.40	
	10.30	11.24	8.70	8.50	
	conductual	5.80	6.01	11.20	9.00
	8.40	8.50	8.60	11.00	
Con entrenamiento	8.60	9.00	9.60	9.70	
	8.60	10.00	9.20	9.20	
	8.20	9.70	10.00	10.30	
	conductual	10.00	9.24	11.40	10.40
	9.30	9.90	10.05	9.90	

Tabla No 15. Resultado del análisis de varianza de la determinación
de proteínas en Homogeneizado de Cerebro
($\mu\text{g/ml}$)

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Factor A (hilera)	1	2.88	1.61 *
Factor B (columna)	3	2.53	1.41 **
Interacción	3	0.10	0.05 ***
Error	32	1.78	

* $F(1,32) = 1.61$, $p > 0.025$ (= 0.05)

** $F(3,32) = 1.41$, $p > 0.025$ (= 0.05)

*** $F(3,32) = 0.05$, $p > 0.025$ (= 0.05)

Tabla No. 16 Resultados del ajuste por mínimos cuadrados de la relación minutos-concentración ácido acético de extracto de cerebro en sujetos que no fueron entrenados conductualmente

Sujeto	Pendiente	Ordenada al origen	El error estándar de la estimación	Coefficiente de determinación	t Calc.	t. ($\alpha/2 = 0.005$)
Agua	1	2.03*	2.57**	0.36***	1.00	267.32
	2	2.61	3.06	1.20	0.99	103.11
	3	2.91	1.71	1.84	0.99	74.97
	4	2.20	3.05	0.91	0.99	114.61
	5	1.88	2.43	0.66	0.99	135.04
Aceite	1	1.97	2.95	0.81	0.99	115.30
	2	2.46	3.42	1.99	0.99	58.60
	3	2.15	3.26	1.00	0.99	101.92
	4	1.94	2.18	0.39	2.00	235.82
	5	1.92	2.75	0.31	1.00	293.82
Diclorvos	1	1.79	3.46	0.41	0.99	206.97
	2	1.65	3.77	0.60	0.99	130.37
	3	1.97	3.70	0.91	0.99	102.63
	4	1.12	3.26	0.32	0.99	165.92
	6	1.13	3.29	0.45	0.99	119.04
Pzerina	1	1.29	3.69	0.52	0.99	117.60
	3	1.77	4.77	0.47	0.99	178.53
	4	1.81	4.07	0.62	0.99	138.40
	5	1.52	3.98	0.43	0.99	167.58
	6	1.39	4.01	0.67	0.99	98.35

t₂₈ = 2.7564****

* Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10⁻⁴
 ** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10⁻³
 *** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10⁻⁴
 **** Este valor es el mismo para todos los sujetos.

Tabla No 17. Resultados del ajuste por mínimos cuadrados de la relación minutos-concentración ácido acético de extracto de cerebro en sujetos que fueron entrenados conductualmente

	Sujeto	Pendiente	Ordenada al origen	El error estándar de la estimación	Coefficiente de determinación	t Calc.	t _c $\alpha/2 = 0.005$ t ₂₈ = 2.7564****
Agua	2	1.78*	3.39**	0.67***	0.99	125.94	
	3	2.33	3.87	1.50	0.99	73.64	
	4	2.20	3.52	0.70	0.99	148.99	
	6	2.51	4.74	1.77	0.99	67.22	
	7	2.70	4.06	2.04	0.99	94.35	
Aceite	1	2.29	3.21	0.45	1.00	241.25	
	2	2.70	4.06	2.04	0.99	62.74	
	3	2.31	3.90	1.67	0.99	65.57	
	4	2.39	4.15	0.87	0.99	130.23	
	7	2.50	4.53	1.61	0.99	73.61	
Diclorvos	1	1.25	2.94	0.64	0.99	92.59	
	2	1.13	2.88	0.61	0.99	87.82	
	4	1.16	3.88	0.62	0.99	88.69	
	6	1.13	3.72	0.42	0.99	127.54	
Eserina	1	1.22	3.78	0.63	0.99	91.80	
	2	1.29	3.92	0.48	0.99	127.40	
	3	1.42	4.42	0.60	0.99	112.19	
	4	1.24	3.87	0.47	0.99	125.07	
	5	1.29	4.00	0.54	0.99	113.25	

* Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-4}

** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-3}

*** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-4}

**** Este valor es el mismo para todos los sujetos.

Tabla No 17. Resultados del ajuste por mínimos cuadrados de la relación minutos-concentración ácido acético de extracto de cerebro en sujetos que fueron entrenados conductualmente

	Sujeto	Pendiente	Ordenada al origen	El error estándar de la estimación	Coefficiente de determinación	t Calc.	t. $\alpha/2 = 0.005$
Agua	2	1.78*	3.39**	0.67***	0.99	125.94	t ₂₈ = 2.7564****
	3	2.33	3.87	1.50	0.99	73.64	
	4	2.20	3.52	0.70	0.99	148.99	
	6	2.51	4.74	1.77	0.99	67.22	
	7	2.70	4.06	2.04	0.99	94.35	
	1	2.29	3.21	0.45	1.00	241.25	
	2	2.70	4.06	2.04	0.99	62.74	
Acetate	3	2.31	3.90	1.67	0.99	65.57	
	4	2.39	4.15	0.87	0.99	130.23	
	7	2.50	4.53	1.61	0.99	73.61	
	1	1.25	2.94	0.64	0.99	92.59	
Diclorvos	2	1.13	2.88	0.61	0.99	87.82	
	4	1.16	3.88	0.62	0.99	88.69	
	6	1.13	3.72	0.42	0.99	127.54	
	1	1.22	3.78	0.63	0.99	91.80	
Reserina	2	1.29	3.92	0.48	0.99	127.40	
	3	1.42	4.42	0.60	0.99	112.19	
	4	1.24	3.87	0.47	0.99	125.07	
	5	1.28	4.00	0.54	0.99	113.25	

* Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-4}

** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-3}

*** Los valores de esta columna deben ser multiplicados por 10^{-4}

**** Este valor es el mismo para todos los sujetos.

Tabla No 10. Actividad de la acetilcolinesterasa en extracto de cerebro
 $\text{Mx}10^{-6} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg}^{-1}$ de proteína

	Agua	Aceite	Diclorvos	Eserina
Sin entrenamiento	2.743	2.736	1.988	1.264
	2.636	2.000	1.853	1.882
	2.825	1.912	2.264	2.129
	3.793	3.227	1.000	1.688
	2.238	2.258	1.313	1.263
Con entrenamiento	2.069	2.544	1.302	1.257
	2.709	2.700	1.228	1.402
	2.682	2.381	1.160	1.378
	2.510	2.586	0.991	1.192
	2.903	2.525	1.104	1.303

Tabla No 19. Resultados del análisis de varianza de la actividad de la acetilcolinesterasa en extracto de cerebro

Fuente de variación	gl.	Media cuadrática	Razón F
Factor A (hileras)	1	0.64	4.36 *
Factor B (columnas)	3	4.50	30.51 **
Interacción	3	0.18	1.24 ***
Error	32	0.14	

* $F(1,32) = 4.36$, $p > 0.025$ ($\alpha = 0.05$)

** $F(3,32) = 30.51$, $p < 0.005$ ($\alpha = 0.01$)

*** $F(3,32) = 1.24$, $p > 0.025$ ($\alpha = 0.05$)

SESION _____ FECHA _____ SUJETO _____ GRUPO _____

PESO _____

ENSAYO 1 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 2 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 3 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 4 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 5 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 6 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 7 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 8 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 9 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

ENSAYO 10 _____ HORA DE INICIO _____ HORA FINAL _____

OBSERVACIONES: _____

BIBLIOGRAFIA

- Barbera, C. (1976). *Pesticidas Agrícolas*. 3a Ed. Barcelona: Omega. p.p. 146-183.
- Beatty, W. W. y Bierley, R. A. (1985). *Scopolamine degrades spatial working memory but spares spatial reference memory: Dissimilarity of anticholinergic effect and restriction of distal visual cues. Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 23, 1-6.
- Bennett, E., Diamond, M. C., Krech, D. y Rosenzweig, M. R. (1964). Chemical and anatomical plasticity of brain. *Science*. 146, 610-619.
- Dowman, W. C. y Rand M. J. (1984) *Pharmacology. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicación clínica*. 2a Ed. México: Interamericana. p.p. 10.26-10.35.
- Bradway, D. E., Shafik, T. M. y Lores, E. M. (1977). Comparison of cholinesterase activity, residue levels and urinary metabolite excretion of rats expose to organophosphores pesticides. *Journal Agric Food Chemistry*. 25, 6, 1313-1359.
- Burchfiel, J. L. y Duffy, F. H. (1982). Organophosphate neurotoxicity: Chronic effects of sarin on the electroencephalogram of monkey and man. *Neurobehavior Toxicity and Teratogen*. 4, 767-778.

Cremlyn, R. (1982). *Plaguicidas modernos y su accion bioquimica.*
México: Limusa, p.p. 5-26 y 99-134.

Cohen, S.D. y Ehrlich, M. (1967). Cholinesterase and
carboxylesterase inhibition by dichlorvos and
interactions whit malathion and triorthotolyl phosphate.
Toxicology and Applied Pharmacology. 37, 39-48.

Cohen, J. A., Oosterban, R. A. y Berends, F. (1967).
Organophosphates compounds. En C. H. W. Hirs (dir).
Methods in enzymology. New York: Academic Press.
p.p. 62-80.

Colgan, P. W. (1978). *Quantitative ethology.* New York: Jhon,
Wiley & Sons. p.p. 100-130.

Dahl, W. N., Holm, A. M. R. y Schroder, K. H. (1977). The
potentiometric determination of insecticides.
Analytica Chemica Acta. 93, 91-97.

Deutsch, J. A. (1983). The cholinergic synapse and the site of
memory. En J. A. Deutsch (dir). *The physiological basis
of memory.* 2a Edit. Academic Press, Inc.;
New York. p.p. 367-386.

Davis, H.; Tribuna, J.; Pulsinelli, W. A. y Volpe, B. T. (1986)
Reference and working memory of rats following

hippocampal damage induced by transient forebrain ischemia. *Physiology & Behavior*. 37, 387-392.

Davis, K. L. y Yamamura, H. I. (1978). Cholinergic underactivity in human memory disorders. *Life Sciences*. 23, 1729-1734.

Flood, J. F. y Jarvik, M. E. (1976). Drug influences on learning and memory. En M. R. Rosenzweig y E. L. Bennett (dirs). *Neural mechanisms of learning and memory*. The Massachusetts:

Institute of Technology. p.p. 493-507.

George, G. y Mellanby, J. (1982). Memory deficits in a experimental hippocampal epileptiform syndrome in rats. *Experimental Neurology*. 75, 678-689.

Grinberg-Zylberbaum, J. (1979). *Bases psicofisiológicas de la memoria y el aprendizaje*. México: Trillas. p.p. 5-9, 114-145.

Goldstein, A., Aronow, L. y Kalman, S. M. (1979). *Farmacología*. México: Limusa. p.p. 426-518.

González, S. y Peñaloza, I. (1984). *Técnicas de Bionolúculas*. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M.

Gottman, J. M. (1980). Analyzing for sequential connection and assessing interobserver reliability for the sequential

analysis of observational data. *Behavioral Assessment*.
2, 361-368.

Harountunian, V. | Barnes, E. | Kenneth, L. y Davis, L. (1985).
Cholinergic modulation of memory in rats.
Psychopharmacology. 87, 266-271.

Hilgard, E. R. y Bower, G. H. (1976) *Teorías del aprendizaje*.
México: Trillas. p.p. 12-34, 218-234.

Honig, W. K. (1978). Studies of working memory in the pigeon. En
S. T. Hulse; H. Fowler y W. K. Honig (dirs).
Cognitive processes in animal behavior.
New Jersey: John Wiley & Sons. p.p. 211-248.

Keller, F. S. y Schoenfeld, W. N. (1979) *Fundamentos de
psicología*. México: Fontanella. p.p. 43-55.

Koelle, G. B. (1978). Anticolinesterasas. En L. S. Goodman y A.
Gilman (dirs). *Bases farmacológicas de la terapéutica*.
5a Ed. México: Interamericana. p.p. 374-392.

Lashley, K. S. y Ball, J. (1929). Spinal conduction and
kinesthetic sensitivity in the maze habit.
Journal Comparative Psychology., 9, 223, 17-105.
Citados en E. R. Hilgard y G. H. Bower.
(dirs) 1976). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas.
p.p. 218-234.

- Lowry, O. H.; Rosebrangh, N. J.; Farr A. L. y
Randall R. J. (1951). protein measurement with
the Folin-phenol reagent. *Journal Biology
Chemistry*. 193, 265.
- Luria, A. R. (1974). *El cerebro en acción*. México:
Fontanella. p.p. 277-299.
- Mackintosh, N. J. (1983). *Conditioning and associative learning*.
New York: Oxford University Press. p.p. 260-264.
- Macfarlane, D. A. (1930). The role of kinesthesia in maze
learning. *University California Public Psychology*,
4, 223, 277-305. Citado en E. R. Hilgard y G. M.
Bower (dirs) 1976). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas.
p.p. 218-234.
- McBraugh J. y Dawson, R. (1979). Modificación de los procesos de
almacenamiento en memoria. En J. Grinberg-Zylberbaum (dir).
Bases psicofisiológicas de la memoria y el aprendizaje.
México: Trillas. p.p. 114-145.
- Merril, H. K. (1969). The effects of a cholinesterase inhibitor
on place learning in mice. *Psychonomic Science*.
14 (3), 110-111.
- Norton, S. (1977). The study of sequences of motor behavior.
En L. L. Iversen y S. H. Snyder. (dirs). *Handbook of*

psychopharmacology. Principles of behavioral pharmacology.

New York: Plenum Press. 7, p.p. 83-105.

Oades, R. D. (1981). Types of memory or attention? Impairment after lesions of the hippocampus and limbic ventral tegmentum. *Brain Research Bulletin*. 7, 221-226.

Olton, D. S. (1978). Characteristics of spatial memory. En S. T. Hulse; H. Fowler y W. K. Honig. (dirs). *Cognitive processes in animal behavior*. New Jersey: John Wiley & Sons. p.p. 341-373.

Olton, D. S. (1979). Mazes, maps, and memory. *American Psychologist*. 34, 7, 583-596.

Olton, D. S. y Collison, C. (1979). Intramaze cues and "odor trials" fail to direct choice behavior on an elevated maze. *Animal Learning & Behavior*. 7(2), 221-223.

Olton, D. S., Collison, C. y Werz, M. A. (1977). Spatial memory and radial arm maze performance of rats. *Learning and Motivation*. 8, 289-314.

Olton, D. S. y Samuelson, R. J. (1976). Remembrance of passed: Spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 2, 97-116.

Papini, M. R. (1984). Procedimiento para el estudio de la

- adquisición de cadenas de conducta en laberinto.
Revista Latinoamericana de Psicología. 6, 2, 235-46.
- Rosenzweig, M. R. (1980). Evidencia de cambios químicos y anatómicos en el cerebro, durante el aprendizaje primario. En J. Grinberg-Zylberbaum (dir). *Bases psicofisiológicas de la memoria y el aprendizaje*. México: Trillas. Vol 3, p.p. 266-244.
- Rosenzweig, M. R., Krech, D. y Bennett, E. L. (1960). A Search for relations between brain chemistry and behavior. *Psychology Bulletin*. 57, 6, 476-492.
- Sidman, M. (1978). Tácticas de investigación científica. México: Fontanella. p.p. 228-303.
- Smith, R. E. I Sarason, I. G. y Sarason, B. R. (1984). *Psicología. Fronteras de la conducta*. México: Haria. p.p. 277-306.
- Stanes, M. D. y Brown, C. P. (1976). Effect of physostigmine on Y-maze discrimination retention in the rat. *Psychopharmacologia (Berl)*. 46, 269-272.
- Sutherland, R. J., Whishaw, I. G. y Regehr, J. C. (1982). Cholinergic receptor blockade impairs spatial localization by use of distal cues in the rat. *Journal of Comparative and Physiology Psychology*. 96, 64, 363-373.

Swenson, L. C. (1980). *Theories of learning*. USA: Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. p.p. 352-394.

Taylor, P. (1982). Agentes anticolinesterasa. En L. S. Goodman y A. Gilman (dirs). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 6a Ed. México: Médica Panamericana. p.p. 114-130

Tolman, E. C.; Ritchie, B. F. y Kalish, D. (1946). Studies in spatial learning. II. Place learning versus response learning. *Journal Experimental Psychology.*, 36, 223, 224, 221-229. Citados en E. R. Hilgard y G. H. Bower (dirs; 1976). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas. p.p. 218-234.

Thompson, R. F. (1975). *Fundamentos de Psicología fisiológica*. México: Trillas. p.p. 671-728.

Upchurch, M. y Wehner, J. M. (1987) Effects of chronic diisopropylfluorophosphate treatment on spatial learning in mice. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 27, 143-151.

Whishaw, I. Q. (1985). Cholinergic receptor blockade in the rat impairs locate but not taxon strategies for place navigation in a swimming pool. *Behavioral Neuroscience*. 99, 5, 979-1005

Wirsching, B. A., Beninger, R. J., Jhamandas, K., Boegman, R. J.
y El-Defrawy, S. R. (1984). Differential effects
of scopolamine on working and reference memory
of rats in the radial maze. *Pharmacology
Biochemistry & Behavior*. 20, 659-662.