

1 / 31962



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

FARMACOLOGIA CONDUCTUAL

Efecto de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre la amnesia inducida por escopolamina en ratas sometidas a un condicionamiento de evitación pasiva en condiciones de bajo reforzamiento.

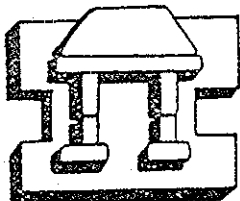
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MAESTRA EN FARMACOLOGIA CONDUCTUAL

P R E S E N T A :  
NORMA LAURA / GARCIA SALDIVAR

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SARA E. CRUZ MORALES

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA TLALNEPANTLA, EDO. DE MEXICO

FEBRERO 2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## Agradecimientos

A la memoria de mis padres, que aunque  
ya no se encuentran conmigo, sus  
enseñanzas siempre están presentes  
en mi pensamiento

A mis hijos, Norberto, José Javier,  
Cecilia y Guillermo,  
que han sido partícipe de mis penas  
y alegrías, y siempre me han  
impulsado a seguir adelante

A mi nieta María José porque  
vino a iluminar mi vida cuando más  
lo necesitaba.

A mis hermanas Benilde, Irma, Gloria y  
Marcela por el apoyo que me  
han brindado en todo momento

A mi suegra Esperancita por  
el cariño y apoyo que me ha  
ofrecido en todas circunstancias.

Con respeto, admiración y gratitud,  
a mi directora de tesis, Dra, Sara E. Cruz Morales  
por la paciencia y guía que me otorgó para la  
realización de este trabajo.

Al Dr. J.C. Pedro Arriaga, al  
Dr Juan Manuel Mancilla,  
la M. en C. Maritza García M, y al  
M. en C. Gustavo Valencia del Toro,  
por sus valiosos consejos para mejorar este trabajo.

A mis compañeros y amigos: Beatriz R. Urbieta Ubilla,  
Pablo Ruiz Puga, Ma Reyes A. González López y  
José G. Gómez Romero con quienes comparto mis mejores  
momentos en esta Facultad

## INDICE

Resumen-----	1
Introducción -----	2
1.- Aprendizaje y Memoria	
1.1 Aprendizaje-----	4
1.2 Memoria -----	8
2. Neurofarmacología de la Memoria	
2.1. Sistemas centrales de neurotransmisión -----	23
3. Neurotransmisores	
3.1 Acetilcolina -----	30
Metabolismo de la acetilcolina -----	30
Receptores colinérgicos -----	32
Evidencias de la participación de la Acetilcolina en memoria -----	33
3.2. GABA -----	37
Metabolismo de GABA-----	40
Receptores GABA-----	41
Efectos de GABA en la conducta-----	51
4 Antecedentes -----	53
5. Justificación -----	60
6. Objetivos -----	63
7. Metodología general-----	64
8 Parte experimental-----	67
8.1 Experimento 1 -----	67
Resultados -----	68
Discusión -----	72
8.2. Experimento 2 -----	76
Resultados -----	77
Discusión -----	78
9 Discusión general-----	83
10. Conclusiones-----	89
11. Referencias-----	91

## RESUMEN

En el proceso de la memoria han sido implicados varios transmisores y neuromoduladores como la acetilcolina, y el aminoácido gamma aminobutírico (GABA); existen datos que indican que en la enfermedad de Alzheimer donde se observa deterioro en la memoria hay alteraciones en la actividad de estos neurotransmisores. Se ha reportado que la actividad colinérgica interviene en la adquisición y en el mantenimiento de la memoria, y que la administración del antagonista colinérgico escopolamina (E) produce amnesia. Por otro lado se ha propuesto que el GABA tiene un efecto inhibitorio sobre la consolidación de la memoria y sobre el sistema colinérgico, la administración de antagonistas como la picrotoxina (PX) y la bicuculina (BI), como de agonistas como el baclofen (BA), pueden producir facilitación en la retención o amnesia; se ha sugerido que estas discrepancias podrían ser explicadas por diferencias en los procedimientos como por ejemplo, la intensidad de choque con que los sujetos son entrenados. Con el fin de dilucidar si las diferencias observadas pueden ser atribuidas a esta variable, el objetivo de este trabajo fue evaluar en condiciones de bajo reforzamiento el efecto de la administración sistémica de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre la amnesia inducida por la escopolamina en una tarea de evitación inhibitoria. Se utilizaron 440 ratas wistar, machos (250-350 g), alojados en jaulas individuales con comida y agua disponible, mantenidos en ciclos de 12 horas luz/obscuridad. Los sujetos fueron entrenados en una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo con intensidades de 1.0, 1.5, 2.0 ó 2.5 mA; 5 min después del entrenamiento recibieron uno de los siguientes tratamientos vía intraperitoneal: en un primer experimento se administró E (8.0 mg/kg), BI (4.0 mg/kg), PX (2.0 mg/kg) ó 2.0 mg/kg de BA, las dosis se eligieron con base a previos reportes. Los resultados muestran que la E produce déficit en la retención y que ésta es mayor a medida que aumenta la intensidad de choque produciendo amnesia en la intensidad de 2.5 mA, los efectos de la PX en la intensidad de 1.0 mA produjo amnesia y no hubo efecto con las intensidades altas de 2.0 y 2.5 mA, mientras que la BI produjo mejores retenciones a medida que aumenta la intensidad; efectos opuestos se observaron para el BA donde las intensidades de 2.0 y 2.5 mA produjeron amnesia. Un segundo experimento se realizó administrando las drogas GABAérgicas combinadas con la E en las mismas dosis y condiciones de choque. Los resultados revelaron que la PX+E revirtieron los efectos de la amnesia producida por la E. La Bi+E tiene efectos de reversión de la amnesia producida por la E en la intensidad alta (2.5 mA), mientras que en las intensidades bajas no hubo efecto, el efecto del BA+E produjo amnesia mostrando retenciones muy bajas en todas las intensidades. En conclusión estos datos permiten sugerir que la magnitud del reforzamiento (intensidad de estímulo) es un factor que puede intervenir en la consolidación de la memoria, además de que en esta misma permite diferenciar efectos diferentes en agonistas y antagonistas GABAérgicos y se confirmó la interacción GABAérgica-colinérgica.

## INTRODUCCIÓN

Utilizados generalmente de una manera casi sinónima, las expresiones “aprendizaje y memoria” remiten a dos realidades distintas. Por aprendizaje se entiende todo proceso susceptible de modificar un comportamiento posterior, y por memoria se entiende la capacidad de hallar experiencias pasadas. Esta distinción se basa en estudios de pacientes con amnesia que no pueden recordar la experiencia que les ha conducido a cierto aprendizaje. Un organismo puede comportarse de manera diferente en condiciones diversas de excitación motivacional; puede alejarse de los estímulos nocivos y acercarse ante los favorables, sin embargo dicha conducta cobra importancia para el aprendizaje, cuando el cambio ocurre debido a la experiencia, es decir cuando las experiencias pasadas se almacenan de algún modo en la memoria y el sujeto se vuelve a enfrentar ante los mismos estímulos, la respuesta que se produce ante ellos es alterada como consecuencia de lo que sucedió anteriormente.

La memoria es un sistema de almacenamiento y de recuperación de información, que consta de tres etapas: la primera consiste en registro de nueva información, un proceso generalmente llamado adquisición; después se necesita almacenar la información para recuperarla posteriormente, lo cual recibe el nombre de consolidación, y, finalmente el proceso de acceso a esta información almacenada recibe el nombre de recuperación o de evocación

Una de las primeras clasificaciones de memoria estaba basada en el tiempo en que la información está presente en en ésta, así la memoria a corto plazo consiste en el almacenamiento de información que solamente vamos a utilizar durante un breve período de tiempo. En la memoria a largo plazo, la información permanece almacenada por largo tiempo y en muchos casos en forma definitiva

Se ha propuesto que en la modulación de la memoria participan diferentes sistemas neuroquímicos. Se ha demostrado el papel de la acetilcolina (ACh) en el aprendizaje y la memoria, los agonistas colinérgicos producen facilitación en la adquisición y en la retención de la memoria, mientras que los antagonistas colinérgicos producen deterioro en ambas. Por otro lado se ha señalado que el ácido gamma aminobutírico (GABA), un neurotransmisor inhibitorio, también participa en la modulación de la memoria: los antagonistas producen una facilitación en la retención y los agonistas un deterioro en la misma. Esto se ha podido estudiar gracias a que

existen drogas que interactúan con los diferentes sistemas neuroquímicos; tal es el caso de la escopolamina (E) que actúa como un antagonista colinérgico, o de compuestos que actúan sobre el sistema Gabaérgico como el baclofen (BA), un agonista GABA<sub>B</sub>, y los antagonistas GABA<sub>A</sub> bicuculina (BI) y picrotoxina (PX), entre otros

Los efectos de las drogas en general dependen de diferentes variables farmacológicas como: el tipo de fármaco, la dosis, frecuencia de administración, etc; en estudios sobre aprendizaje y memoria, además son importantes el tiempo que transcurre entre el entrenamiento y la administración del fármaco y del momento de la administración (antes o después del entrenamiento), etc. También se ha demostrado que el efecto de las drogas puede ser dependiente de variables conductuales tales como estado emocional del sujeto, el tipo de aprendizaje, la magnitud y el grado de reforzamiento entre otros.

Por otro lado se ha estudiado que la consolidación de la memoria se lleva a cabo en unos cuantos minutos después de la experiencia. Una de las tareas conductuales comúnmente empleada para el estudio de la memoria, es la prueba de evitación inhibitoria de un solo ensayo, administrando la droga después del entrenamiento y probando la retención 24 horas después del entrenamiento, en donde se estudia concretamente la consolidación de la memoria. Esto nos da la oportunidad de estudiar fenómenos tales, que puedan ayudar a dar conocimientos específicos que nos lleven a contribuir a comprender al proceso del aprendizaje y la memoria.



# 1. APRENDIZAJE Y MEMORIA

## 1.1. Aprendizaje

El aprendizaje se puede definir como un cambio relativamente permanente en la conducta como resultado de la experiencia, que no se debe a un estado transitorio, a la maduración o a tendencias de respuesta innata (Klein, 1995), esto excluye los cambios debido a la fatiga, drogas y crecimiento (Hilgard & Bower, 1989). El aprendizaje es un cambio en la conducta que tiene lugar mediante la práctica o la experiencia, los resultados del aprendizaje varían desde las habilidades intelectuales o motoras que proveen las bases para sobrevivir, hasta el almacenamiento de aquellas experiencias que quedan grabadas para siempre. Así tenemos los diferentes tipos de aprendizaje, desde los más sencillos hasta los más complejos, como la impronta, la habituación, y la sensibilización. La impronta es una conducta innata de apego social, aunque hay otras conductas como la preferencia por el sexo y por el alimento que también se encuentran dentro de este tipo de aprendizaje. La habituación es una disminución en la respuesta ante un estímulo debido a la experiencia repetida con ese estímulo, mientras que la sensibilización es un incremento de la reacción ante un estímulo (Klein, 1995).

Uno de los principios más antiguos que se conocen del aprendizaje es el de asociación, “el niño que se quema, teme al fuego”, así una situación es “sustituida” por otra para hacer surgir la conducta. A este proceso se le llama condicionamiento. Mediante la asociación de respuestas del organismo a una variedad de situaciones estímulo, la conducta del sujeto cambia. Estos cambios se realizan por dos tipos de condicionamiento, el clásico y el operante.

### 1.1.1. Condicionamiento Clásico e Instrumental

La primera descripción científica de los principios del condicionamiento clásico fue realizada por Ivan Pavlov en 1900. Mientras realizaba una serie de experimentos sobre la digestión y la salivación de los perros, descubrió que tras varios ensayos en que se ponía alimento en la boca de un perro, éste comenzaba a salivar a la vista del alimento, luego al ver el recipiente del alimento y por último hasta con los pasos del investigador. Pavlov interpretó que el flujo de saliva ante la comida era una respuesta no aprendida, o como se le dio a conocer una respuesta incondicionada (RI). La salivación ante el estímulo asociado con la presentación de comida recibió el nombre de respuesta condicionada (RC). En este estudio clásico la presentación de un

estímulo neutro (EN), produce sólo una respuesta de orientación, después de algunos cuantos segundos se presenta la carne o estímulo incondicionado (EI). Tras varios apareamientos del EN y del EI, el perro presenta la respuesta de salivación ante la presentación del estímulo neutro, ahora estímulo condicionado (EC). Cuando esto ocurre se ha establecido una respuesta condicionada (Rachlin, 1986)

La conducta respondiente es innata (es parte de la estructura y funcionamiento heredados por el organismo), y también es instintiva (su forma y su ocurrencia son relativamente independientes de las experiencias de los organismos con el medio) Sin embargo, para que la conducta respondiente pueda ocurrir, deberá ser precedida y evocada por determinados estímulos especiales del medio. Dado un conjunto de estímulos evocadores iguales, las respondientes incondicionadas virtualmente serán las mismas en todos los organismos biológicamente equivalentes. Por ejemplo, una luz de determinada intensidad, evocará la constricción de la pupila en todos los organismos que tengan los ojos con la misma estructura. Las conductas respondientes están sujetas a habituación, la cual consiste en una reducción gradual de la magnitud de la respuesta como resultado de la presentación repetida de un estímulo. Por ejemplo, cuando nos estremecemos ante un fuerte ruido, a medida de que escuchemos repetidamente tal ruido, se reducirá la magnitud del estremecimiento, sin embargo la constricción de la pupila en presencia de una luz brillante, difícilmente se habitúa, aún cuando el estímulo se presente muchas veces. Otras respuestas como el sobresalto ante un ruido se habitúa de tal manera que al final no se observará la respuesta que se está midiendo, sin embargo, si existe un periodo de receso en el cual no se evoca la respondiente, la magnitud de la respuesta habituada generalmente regresa a su nivel normal (Reynolds, 1973).

Por otro lado, en el condicionamiento pavloviano es posible que se produzca un aumento progresivo de la magnitud de la respuesta en el curso del aprendizaje, sin embargo, cuando aprendemos un material de tipo verbal no vamos expresando la respuesta cada vez en un tono de voz más alto, por lo que ésta teoría no explica a todos los tipos de aprendizaje (Skinner, 1975).

En contraste con el condicionamiento clásico esta el condicionamiento operante u condicionamiento instrumental estudiado por Thorndike en 1898, quien propuso el principio que denominó, "ley del efecto". Esta ley fundamenta que el efecto de una conducta que tiene éxito es el de incrementar su probabilidad de volver a ocurrir en circunstancias similares. Thorndike basó

su conclusión en experimentos con gatos, perros o pollos privados de alimento en cajas problema, en donde el sujeto buscaba la forma de escapar para conseguir la comida que tenía a la vista, para poder hacerlo, el animal debía pisar una palanca o descarrar un cerrojo o realizar alguna otra tarea mecánica. Thorndike, encontró que mientras más ensayos realizaba el animal, menos tiempo tardaba en escapar. Para poder entender los principios básicos utilizados en el condicionamiento instrumental, es necesario entender que un reforzador es un estímulo cuya presentación aumenta la probabilidad de ocurrencia de la conducta de una respuesta; y al procedimiento de presentación de reforzadores, se le llama reforzamiento, el cual puede ser positivo o negativo. El procedimiento de reforzamiento positivo, consiste en la presentación de un reforzador como consecuencia de la emisión de una respuesta. La emisión de una respuesta seguida por un reforzador positivo, aumenta la probabilidad de ocurrencia de dicha respuesta. El valor de la recompensa o el incentivo que se usa tiene un efecto importante, tanto en la adquisición de la conducta o para su extinción. Generalmente cuando se emplea el reforzamiento positivo es relativamente sencillo diseñar las condiciones de motivación e incentivos que operan en el condicionamiento de una parte de la conducta. La motivación, la mayoría de las veces se deriva de algún tipo de procedimiento de privación, y el incentivo que no es más que el reforzador positivo que se utiliza como el agua, el alimento etc.

Mientras que en el reforzamiento negativo, los estímulos son aversivos, como los choques eléctricos, o la estimulación visual, auditiva o térmica intensa, que producen en el sujeto un estado de dolor o malestar que el sujeto tratará de aliviar de igual manera que en el caso del hambre o la sed, por lo que cuando se termina un estímulo aversivo se refuerza la conducta que pone fin a dicho estímulo. En el condicionamiento con reforzamiento negativo cada respuesta correcta del sujeto termina (escape) o pospone (evitación) la aparición del estímulo aversivo, lo que hace que se incremente la probabilidad de ocurrencia de la respuesta.

El escape y la evitación son dos procedimientos del reforzamiento negativo que incrementan o mantienen la tasa de respuestas. En el escape, la respuesta da término a un estímulo aversivo después de que se ha iniciado la presentación de éste; el sujeto no puede evitar la presentación del estímulo aversivo. En el caso de la evitación, los sujetos evitan un estímulo aversivo por medio de una respuesta, es decir esa respuesta evita o pospone el comienzo de un estímulo aversivo. En ocasiones el escape y la evitación ocurren en forma combinada, por lo tanto

en las presentaciones del estímulo aversivo habrá respuesta de escape que termine su presentación; una vez que el estímulo se presenta de nuevo el sujeto emite la respuesta que lo llevó en su experiencia anterior a el estímulo aversivo.

Existen diferentes procedimientos para estudiar la conducta de evitación, unos de estos procedimientos son los de evitación activa o pasiva. En la evitación activa el sujeto tiene que evitar el estímulo aversivo manteniéndose alejado de él, teniendo que realizar una actividad (tarea) para ello. En el caso de la evitación pasiva el sujeto evita el estímulo aversivo sin tener que realizar ninguna actividad, la tarea es mantenerse pasivo, con el fin de la prevención del estímulo nocivo. El estímulo nociceptivo utilizado en la evitación pasiva comúnmente es la administración de un choque eléctrico en las patas a través de una rejilla. La ventaja del empleo de este tipo de estímulo es que se puede variar de forma controlada las características de estímulo como son el voltaje, la intensidad, tiempo, frecuencia etc. (Reynolds, 1973).

Uno de los procedimientos más comunes para evaluar el efecto de drogas en la memoria es el reforzamiento negativo, y concretamente el procedimiento de evitación activa y pasiva. El procedimiento de evitación pasiva, también llamado evitación inhibitoria, consiste en entrenar a los sujetos a evitar un estímulo aversivo por medio de la inhibición de sus respuestas en donde los sujetos aprenden la tarea después de un único ensayo (Gold, 1986). Las ventajas del empleo de estos paradigmas son muy importantes: la tarea es rápidamente aprendida, se requiere de un solo ensayo, por lo que se tiene el control del momento en que se inicia la consolidación de la memoria; las respuestas se mantienen estables a lo largo del tiempo; y los resultados son equivalentes a los resultados obtenidos a otros procedimientos; las respuestas que se miden empleando estos procedimientos, son el número de ensayos, número de aciertos y errores, latencias etc. (Bammer, 1982). De esta manera es posible estudiar la memoria a corto y a largo plazo. Los efectos de los fármacos en la respuesta de evitación pasiva son evaluados por administración antes del entrenamiento, después del entrenamiento o antes de la prueba o antes del entrenamiento y la prueba.

## 1.2. Memoria

### 1.2.1. Concepto y tipos de memoria.

Estudiar el aprendizaje es estudiar la memoria. El aprendizaje no sería posible sin la memoria porque cada ejecución de una reacción aprendida requiere el recuerdo del ensayo anterior. El conocimiento que actualmente tenemos de la memoria a pesar de las limitaciones que aún existen es muy distinto del que poseían los hombres en los albores de la civilización. Fue Platón quien introdujo el concepto de memoria como "huella", al observar la marca que queda en una tablilla de cera cuando se ejerce presión sobre ella; el aprendizaje se entiende como un cambio en la conducta como resultado de la experiencia, mientras que por memoria se entiende la permanencia del aprendizaje, es la capacidad de almacenar y recuperar experiencias pasadas (Baddeley, 1994).

Considerando que la memoria no es un sistema único sino la integración por interconexión de múltiples subsistemas, existen diferentes clasificaciones de la memoria. Una primera clasificación de memoria emplea como criterio el tiempo que la información está presente en la memoria (memoria sensorial, de corto y largo plazo), otra emplea como criterio el sentido por el cual fue percibida la información (memoria visual, auditiva, etc.). La memoria se puede clasificar en implícita o explícita según como se almacena y se recuerde la información. La memoria explícita comprende la memoria de la información general de los conocimientos, denominada memoria semántica y la memoria de la autobiografía de los hechos vividos personalmente contextualizados en tiempo y espacio que es la memoria episódica. La memoria implícita es la memoria de los procedimientos (habilidades motoras y cognoscitivas) y de las disposiciones que se denomina memoria procedural o procedimental (Kandel, Schwartz & Jessell, 1996).

Richard Atkinson y Richard Shiffrin en 1971 (citados por Klein, 1995), sugirieron que hay tres etapas en el almacenamiento de la información, o almacenes de memoria: registro sensorial o memoria sensorial, memoria a corto plazo y memoria a largo plazo. El o los eventos externos son almacenados inicialmente en el *registro sensorial* durante un breve periodo de tiempo, (normalmente entre medio segundo y un segundo). La información que tiene cabida en el *registro sensorial* es una impresión inicial sobre el ambiente externo. Las experiencias

almacenadas en la memoria sensorial son copias exactas de los estímulos externos, sin embargo, la información decae rápidamente después de dejar el registro sensorial y se perderá a no ser que sea procesada en la *memoria a corto plazo* (Klein, 1995) La memoria a corto plazo incluye la manipulación de la información sobre nuestra experiencia actual, es un proceso activo de duración limitada y la memoria a largo plazo almacena las experiencias pasadas, y se considera un cambio real de la estructura del sistema nervioso. La memoria a largo plazo puede dividirse en dos formas según el tiempo en el que se haya gravado: anterógrada o inmediata (menos de 10 minutos) o retrógrada o mediata (por tiempo prolongado) y tiene capacidad ilimitada que permite almacenar grandes cantidades de información

El primer significado de memoria a corto plazo fue propuesto por William James en 1890, con el nombre de “memoria primaria” que se refería a la información que forma un foco de atención y que ocupa un lugar en el pensamiento. Ahora se sabe que la memoria a corto plazo es una capacidad de almacenamiento temporal de nuestras experiencias. Los recuerdos pueden permanecer en la memoria a corto plazo, 5, 10 o 15 segundos e incluso más. El tiempo en que la información permanece en la memoria a corto plazo depende de dos procesos: primero la experiencia puede ser repasada o repetida, y segundo solo se puede retener una cantidad limitada de información (Klein, 1995).

La mayor parte de la información almacenada en la memoria a corto plazo se transfiere a la *memoria a largo plazo* o lugar de almacenamiento permanente en la memoria, aunque el problema de la pérdida de información en la memoria a largo plazo no ha sido resuelto, la mayor parte de la investigación indica que toda la información almacenada a largo plazo sigue allí permanentemente.

### **1.2.2. Consolidación: teorías del almacenamiento de la memoria.**

Se cree que la capacidad de la memoria proviene de fenómenos neurales, es probable que grupos de neuronas de distintas partes del cerebro, especialmente en los hemisferios cerebrales sean más o menos importantes para recordar distintos tipos de información. Los estudios de retención y alteración de la memoria han apoyado un modelo de almacenamiento de la memoria en fases. La entrada de información al encéfalo se procesa en un almacén de memoria a corto plazo, éste tiene una capacidad muy limitada y, si no hay repetición durará sólo un periodo de

minutos, posteriormente la información es transformada mediante algún tipo de proceso, en un almacén a largo plazo más permanente. Un sistema de “búsqueda y de recuperación”, que indaga en el almacén de memoria y permite que se pueda disponer de la información para tareas específicas. Conforme a este modelo, la retención de la memoria puede alterarse debido a la destrucción de los contenidos de un almacén de memoria (Kandel et al., 1996).

Por otro lado, estudios sobre el proceso de la memoria señalan la existencia de un periodo inestable antes del registro de un recuerdo, durante el cual, la fijación de la experiencia es susceptible de interferencia externa, es decir la memoria tiene un estado de preservación “en disposición”, antes de que la información llegue a esta fijar y consolidar (Jhon, 1977). Atkinson y Shiffrin en 1986 (citados por Baddeley, 1994), consideran a la memoria a corto plazo como un sistema que almacena y trata las informaciones durante el proceso de aprendizaje. Es la responsable del mecanismo encargado de la “consolidación” de la huella de la memoria.

Según Glikman (1961, citado por Maruin, 1978) sugiere que en la consolidación para el almacenamiento de la memoria, toman lugar dos estados: uno temporal de duración corta de almacenaje, seguido de otro de almacenamiento permanente. El tiempo límite de la consolidación originalmente sugirió que podía tardar horas o más, y que los dos procesos fueran secuenciales, sin embargo estudios posteriores demostraron que en el almacenamiento de la memoria intervienen fenómenos electroquímicos, que son extremadamente limitados en duración, no excediendo en segundos. Este proceso pasajero es reemplazado por mecanismos de almacenaje permanentes.

Los mecanismos de la consolidación han sido estudiados en pacientes con lesiones cerebrales en los cuales se observa que existe pérdida de la memoria a corto plazo pero quedan intactos los recuerdos remotos. En animales de laboratorio, se ha estudiado este mecanismo produciendo lesiones en diferentes regiones cerebrales o aplicando drogas por diferentes vías de administración, antes o después de haber sido sometidos a programas conductuales propios para el estudio de memoria, obteniendo resultados parecidos a los observados en humanos.

Nos referiremos a la consolidación de la memoria, como un proceso relativamente de vida corta de transición desde un sistema de almacenaje de corto plazo a un sistema de almacenaje viable de largo plazo (Squire, & Davis, 1981).

Estos mecanismos de almacenamiento los estudió Hebb en 1949 (White & Salinas

1998). La teoría de Hebb indica que los acontecimientos sobre la memoria se conciben como el flujo de actividad en una serie neuronal determinada (Pasantes, Sánchez & Tapia, 1991). Hebb propone que las sinapsis de una vía particular se conectan funcionalmente para formar un ensamble de células. Este ensamble de células es un sistema que está organizado inicialmente por un acontecimiento sensorial particular, pero que es capaz de continuar su actividad después de que haya cesado la estimulación.

En sí, Hebb propuso que la sinapsis de una vía particular se conecta funcionalmente para formar un ensamble de células, supuso que si dos neuronas A y B, son excitadas al mismo tiempo, se vinculan funcionalmente. Cuando el axón de la célula A está suficientemente cerca para excitar la célula B, y contribuye a dispararla repetida o consistentemente, en una o en las dos células se produce, algún proceso de crecimiento o algún cambio metabólico, de tal forma que la eficiencia de A, como una de las células que excitan la célula B, aumenta. La forma más probable mediante la cual una célula pueda ser capaz de disparar a otra es que los botones sinápticos crezcan o fuesen más funcionales, lo que aumentaría el área de contacto entre el axón aferente y el cuerpo celular y dendritas eferentes. Hebb opinaba que para producir cambios funcionales en la transmisión sináptica el ensamble de células debería ser activado repetidamente. Después de la estimulación sensorial inicial, el ensamble reverberaría, por tanto la reverberación repetida podría producir los cambios estructurales. En la teoría de Hebb existe aún otro factor en la memoria a largo plazo. Para que tengan lugar los cambios sinápticos estructurales debe existir un período en el cual el ensamble de células permanezca relativamente intacto, Hebb llamó a este proceso de cambio estructural, “consolidación”, un período en el cual se cree que se necesita de quince minutos a una hora. Su existencia fue apoyada por investigaciones en donde la actividad cerebral era alterada justo después del aprendizaje y la retención se deterioraba (Kolob, & Whishaw, 1985) (Figura 1).



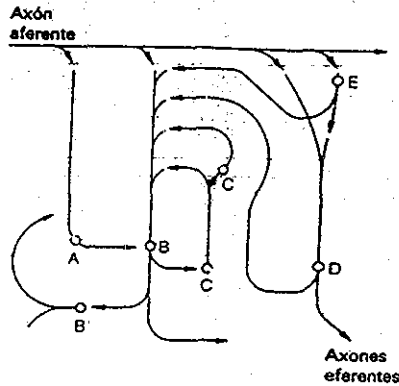


Figura 1.- Diagrama simplificado de las interconexiones de las neuronas para formar bucles neuronales, según Hebb (1972, citado por Kolob y Whishaw, 1985). El axón que entra excita cuatro neuronas, A, B, C, y D. De éstas B y C envían impulsos hacia el exterior del sistema (axones eferentes) para excitar otros sistemas A-B-B', B-C y B-C-C' forman bucles cerrados.

En la búsqueda del entendimiento de los posibles cambios estructurales en el proceso de la consolidación de la memoria, varios investigadores en los años 70s, proponen que puede existir un engranaje de neuronas de tal manera que el sistema se active, a lo que le llamaron teoría del “engrama”. Se postula que el engrama está distribuido difusamente en varias áreas del cerebro, de tal manera que muchas neuronas pueden participar en eventos específicos en la memoria.

La teoría de John sobre el almacenamiento de la memoria, propuesta en 1967, plantea que cada evento produce un patrón espacio-temporal único y distintivo de actividad neural (John, 1977) La representación de esta experiencia es almacenada más tarde en forma permanente en el sistema nervioso central. Según esta teoría el almacenamiento de la memoria se produce en tres etapas, primero la experiencia es registrada en el sistema nervioso que corresponde al registro sensorial y es casi instantánea, la segunda corresponde a la memoria a corto plazo e incluye dos aspectos. Uno proporciona la característica de retención temporal de la memoria a corto plazo y el segundo aspecto sirve de plantilla para el almacenamiento de la información a largo plazo. Según John el recuerdo a corto plazo se debe a una actividad celular prolongada, ésta se regula por la acción del ADN. La actividad de pequeños segmentos de ADN esta a su vez controlada por genes represores, que se modifican por la síntesis de una nueva molécula de ARN, en respuesta de un

evento determinado. Esta nueva molécula de ARN tiene una duración limitada y actúa como mecanismo de mantenimiento hasta que la memoria es almacenada permanentemente (tercera etapa) (Klein, 1995).

Agranoff (1980) y Dunn (1980) (citados por Klein 1995) sugieren que el almacenamiento de los recuerdos en la memoria se debe a un cambio en los ácidos nucleicos (ARN y ADN). Esta teoría denominada *teoría de la reorganización nucleotídica*, supone que como consecuencia del aprendizaje se produce un cambio permanente en los ácidos ARN y ADN, éstos ácidos modificados contienen información de la experiencia. Otros investigadores como Lincha, en 1986 y Rósenzweig en 1984 (citados por Klein, 1995), han propuesto que la consolidación supone una modificación en la actividad de las neuronas, esta teoría se denomina *teoría de la modificación celular*, y sugiere que el aprendizaje modifica permanentemente el funcionamiento de sistemas neuronales específicos y puede reflejar una mejora en el funcionamiento de circuitos neuronales o la formación de nuevas conexiones nerviosas

Basado en esta hipótesis del engrama, Prado-Alcalá en 1995, propone que el “engrama” funciona en “serie y en paralelo” de la siguiente manera: un gran número de estructuras tales como corteza cerebral, hipocampo, amígdala, neocórtex y sustancia nigra, son necesarias para la consolidación de la memoria de conductas instrumentales que han sido adquiridas a través de un número limitado de entrenamientos. Lesiones en cualquiera de estas estructuras dañan a la memoria en una variedad de situaciones de aprendizaje. Esto refleja una organización en la cual todas estas estructuras son funcionalmente conectadas en serie, de tal manera que una lesión de una vía u otro tipo de interferencia puede traer una inestabilidad en el establecimiento permanente en la memoria. Según este modelo diferentes aspectos de las experiencias son procesados por diferentes estructuras involucradas en el almacenamiento de la información.

Como en el aprendizaje, una respuesta puede ser incrementada (a través de diferentes procedimientos conductuales como el sobre-entrenamiento o sobre-reforzamiento), las estructuras mencionadas anteriormente (y probablemente otras adicionales), participan en el proceso de la consolidación; sin embargo ante estas circunstancias no son necesarias todas las estructuras mencionadas para el proceso de memoria, ya que las regiones cerebrales involucradas se someten a una reorganización, de tal forma que ellas vienen funcionando conectadas en paralelo, de manera que si un núcleo es disfuncional, la información derivada de las experiencias del aprendizaje,

podrán ser recibidas por otro núcleo, el cual puede ser capaz de ejecutar las funciones de memoria (Prado-Alcalá, 1995).

A continuación se describe un modelo del posible funcionamiento del engrama conectado en serie y en paralelo. Figura 2.

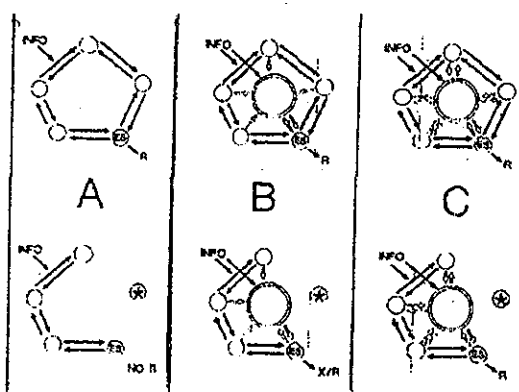


Figura 2. Cambios funcionales hipotéticos durante la consolidación de la memoria en condiciones de bajas A, medias B y altas C experiencias de aprendizaje (Prado-Alcalá, 1995).

En el esquema "A" de la figura 2, se señala que durante la adquisición, estas estructuras o áreas (círculos vacíos) involucradas en el procesamiento y/o almacenaje de la información (Info), son conectadas en "serie" con acción reversible entre unas y otras, la participación de cada una de ellas es necesaria para que el proceso tome lugar y active el "sistema" (ES) que media las condiciones de respuesta. Cuando hay una interferencia de la activación de cualquiera de estas estructuras la información necesaria para la consolidación y para la activación ES, es interrumpida y consecuentemente la respuesta no se desarrolla (no-R).

En B, se simula que cuando las experiencias de aprendizaje son reforzadas, la información puede seguir dos rutas: una original siguiendo las estructuras en serie, y otra en la que las estructuras se reorganizan y forman una vía adicional (anillo), en paralelo con las anteriores de tal manera que ambas rutas pueden ser activadas. Cuando la actividad de una de las estructuras es alterada, la estructura de este sistema es dañada, la organización serial es interrumpida y la información únicamente puede ser procesada por la nueva vía en paralelo, esta situación únicamente podrá permitir el almacenamiento parcial de la memoria y por lo mismo un déficit en las respuestas (X/R) o sea se presentará una amnesia

parcial.

Finalmente el esquema C, representa cuando las condiciones del aprendizaje son optimas (por ejemplo, con sobre-entrenamiento o sobre-reforzamiento), en donde hay una interacción de comunicación entre todos los elementos, de tal manera que si hay una perturbación en cualquiera de las estructuras, el resto de las estructuras puede tener acceso a la información, y la consolidación de la memoria se puede llevar a cabo en condiciones normales (Prado-Alcalá, 1995).

### 1.2.3. Olvido.

Muchos investigadores coinciden en que si se interrumpe de alguna forma la consolidación de la memoria, es imposible la recuperación de ésta. Los traumas en experiencias humanas tales como un golpe en la cabeza, o un choque electroconvulsivo desarrollan una amnesia de los eventos que ocurrieron justo antes del trauma, sin embargo la memoria de eventos que ocurrieron antes del trauma no se afecta. Esto sugiere que las memorias recientes fueron interrumpidas en su consolidación por efecto del trauma. La consolidación de memorias anteriores no se ven afectadas (White & Salinas, 1998).

Estudios en animales efectuados con choques electroconvulsivos y drogas entre otros, tienen un efecto similar al de humanos. Usando grupos de animales en donde se interrumpe la memoria de una tarea a diferentes tiempos por un agente, ha sido posible demostrar un “gradiente de la consolidación”, en el cual la efectividad de esta interrupción de la memoria por dichos agentes, depende en que tiempo después del entrenamiento se administre el agente.

La amnesia anterógrada, es la incapacidad para recordar experiencias recientes, se produce como consecuencia de varios trastornos cerebrales ya sea causados por traumas, por naturaleza fisiológica ó por acciones de drogas, como ejemplo esta el alcoholismo (síndrome de Korsakoff) y la enfermedad de Alzheimer. Los pacientes que sufren amnesia anterógrada pueden recordar los hechos que tuvieron lugar antes de la aparición del desorden es decir experiencias pasadas, pero olvidarán los acontecimientos experimentados recientemente después de que por algunas de las causas antes mencionadas comience a presentarse la amnesia, el efecto es tal, que tan pronto como la persona deje de atender los eventos recientes, éstos ya no se recordarán. El amnésico puede recordar como ejecutar los hábitos aprendidos con anterioridad (memoria procedimental), pero no recuerda haber experimentado el evento reciente (memoria declarativa). La amnesia retrógrada es la incapacidad de recordar hechos pasados que se produjeron antes de

un acontecimiento traumático

#### 1.2.4. Bases estructurales de la memoria

Las investigaciones actuales han demostrado que la memoria implica a muchas regiones del encéfalo, además como ya se vio, hay diferentes tipos de memoria que se almacenan en diferentes neuronas

Los recuerdos pueden persistir durante muchos años y quizá a lo largo de toda la vida, es por esta razón que parecen depender de algún tipo permanente de modificación celular. Recientemente los experimentos han conducido a pensar que la memoria tiene su sede en el sistema nervioso, el cual a cada nueva impresión, produce una serie de cambios situados en distintos puntos del cerebro, cuyo conjunto forma el engrama "huella" de la experiencia sufrida.

Desde el punto de vista "dinámico", una experiencia establece una actividad eléctrica continua en circuitos nerviosos adecuados, la persistencia de estos circuitos activos esta coordinada con la persistencia de la experiencia que se codificó de ésta manera. Sin embargo, desde el punto de vista "estructural" se afirma que el aprendizaje consiste en algún cambio físico o estructural duradero que se produce en el sistema nervioso, y que dicho cambio persistirá a pesar de que los circuitos nerviosos originales, que hicieron que se estableciera en el primer lugar, hayan dejado de estar activos desde mucho tiempo atrás (Hilgard & Bower, 1989)

Una de las teorías que explica el almacenamiento permanente de la memoria fue propuesta por Flexner y sus colaboradores (1967, citado por Murray, 1988), en la que propone que la síntesis de proteínas puede estar relacionada con el almacenamiento de la memoria, para esto realizó experimentos en donde prevenía o mantenía la formación de la memoria después de una experiencia de aprendizaje administrando una sustancia que bloqueaba la síntesis de proteínas. Esta teoría la refuerza Silva y Giese (1998), que según sus investigaciones sugieren que los procesos moleculares y celulares necesarios para la formación de la memoria, muestran que la síntesis de nuevas proteínas es un requerimiento primordial para la memoria a largo plazo. Inhibidores de la síntesis de proteínas y del ARN muestran que bloquean efectivamente la memoria a largo plazo pero no la memoria a corto plazo.

El mecanismo se inicia por algún estímulo percibido por alguno de los sentidos, dicho estímulo se transforma en impulso nervioso, es conducido por los axones neurales hasta el centro

de análisis donde se descompone en partes constitutivas. Cada una de estas partes será enviada a un punto del cerebro donde lo evaluará un grupo de neuronas. Al tratarse de un estímulo nuevo la neurona genera información hacia el ácido ribonucleico para que éste, a su vez produzca una proteína específica. Estas proteínas se almacenan fuera de las neuronas, en las glías, células nerviosas dedicadas al cuidado y alimentación de las neuronas, donde formarán intrincados tejidos de información.

Se han postulado varias teorías acerca de las estructuras cerebrales que intervienen en los procesos de la memoria, son todas motivo de discusión y cada una de ellas enfrenta en mayor o menor grado objeciones importantes. Los estudios con humanos y con animales experimentales indican que el sistema de memoria localizado en el lóbulo temporal medial es bastante extenso. Este sistema incluye al hipocampo, así como el cortex entorrinal, el subículo (al cual proyecta el hipocampo), y el cortex de la región parahipocampal (Kandel et al., 1996; Eichenbaum, Schoenbaum, Young & Bunsey, 1996) Mishkiny Appenzeller en 1987 (citado por Noback, Strominger & Demarest, 1993) propusieron una red de circuitos neuronales de componentes paralelos y jerárquicos relevantes para la memoria en primates incluyendo al humano. En esencia, la secuencia de conexiones para el procesamiento de la información y sus correlaciones funcionales en los circuitos corticales cerebrales y subcorticales que llevan a la memoria, comienza en las áreas corticales de asociación sensitiva, continua a través de canales que convergen en la neocorteza de cada lóbulo temporal en su porción anterior, prosigue a la corteza parahipocampal y sus proyecciones a la amígdala e hipocampo, continua con sus circuitos distribuidos difusamente incluyendo el área basal del cerebro anterior, y finalmente completa el círculo en proyecciones del núcleo basal de Meynert a extensas áreas de la neocorteza.

Uno de los primeros indicios de que los lóbulos temporales podían tener un papel crítico en la memoria del hombre, fue proporcionada por Bekhterev en 1899, quien describió que en un paciente que había presentado una grave alteración de la memoria, en la autopsia se encontró la presencia de un reblandecimiento bilateral en la región del uncus, del hipocampo y de la corteza temporal media contigua (Kolob, & Whishaw, 1985). Ahora se sabe que las neuronas de la corteza del lóbulo temporal, responden a una amplia variedad de características de las esferas visuales, auditiva, táctil y gustativas (la información sensorial del mundo procesada a nivel superior bombardeada con estímulos al individuo) Desde esta corteza del lóbulo temporal, las

vías se proyectan a la corteza en la cara media de lóbulo temporal (giro para-hipocampal y subículo). Circuitos recíprocos se proyectan hacia esta corteza medial y desde ella a dos estructuras de procesamiento más importantes: la amígdala y el hipocampo que comunican con el sistema límbico. La amígdala también recibe aferencias directas del sistema olfatorio.

En nuestros días se cuenta con pruebas considerables de que el proceso de codificación de la memoria abarca al hipocampo y sus conexiones. Las neuronas del hipocampo son particularmente propensas a descargar reiterativamente, y las crisis hipocámpicas probablemente rompan el funcionamiento normal de ésta estructura. Varias sustancias que menoscaban o alteran a la memoria reciente, producen descargas eléctricas anormales en el hipocampo. Las conexiones del hipocampo con el diencefalo también participan en la memoria (Noback, et al, 1993).

Con base tanto en observaciones clínicas como en evidencias experimentales se ha relacionado al hipocampo con la memoria reciente. López-Antunez (1979), reporta que pacientes con lesiones bilaterales del hipocampo pierden la memoria para acontecimientos recientes, conservando la memoria a largo plazo, sin presentar déficit intelectual en muchos casos. Este tipo de trastornos es común en los ancianos.

Estudios en pacientes con lesión del hipocampo se ha encontrado un deterioro significativo en la memoria a largo plazo. Zola-Morgan, Squire, y Amaral en 1986 (citado por Carlson, 1994), realizaron una investigación en un paciente que sufría amnesia a causa de una anoxia producida por un paro cardíaco, sufrió lesiones en el cerebro, 5 años después murió el paciente y fue examinado histológicamente. Los investigadores descubrieron que el campo CA1 (denominadas así las regiones del hipocampo) de la formación hipocampal, había desaparecido, deduciendo que esta era la causa de la amnesia anterógrada observada en el paciente, aunque no descartaron la posibilidad de que hubiera otras estructuras involucradas en esta alteración.

Zola-Morgan en 1992 (citado por Zola-Morgan & Squire, 1993), estableció en un modelo animal una isquemia global en monos. Este procedimiento produjo un daño selectivo: pérdida bilateral de CA1 y células piramidales del hipocampo. La pérdida fue más grande en la porción caudal del hipocampo que en la porción rostral, tales lesiones producían un daño en la memoria parecido a cuando se lesionaba la porción del lóbulo temporal medio.

Aunque ya se ha destacado el papel que tienen los lóbulos temporales medios (hipocampo) en la memoria, la neocorteza de los lóbulos temporales laterales, también es

importante. Las lesiones del lóbulo temporal derecho alteran la memoria del material no verbal, mientras que las lesiones del lóbulo temporal izquierdo alteran la memoria del material verbal. Se ha reportado que estas lesiones producen deficiencias importantes y a menudo trágicamente graves en la memoria a largo plazo (Kolob & Whishaw, 1985).

Se ha aceptado que daños en el diencefalo medio son suficiente para causar una severa amnesia (Zola-Morgan & Squire, 1993). El diencefalo se compone de las siguientes estructuras: el epítalamo, representado por la glándula pineal y los núcleos habenuares, el tálamo, que contiene numerosos núcleos de relevo sensitivo y motor, el hipotálamo que contiene núcleos de integración de funciones neuroendocrinas y límbicas, y el subtálamo que contiene núcleos de integración motora (Feria-Velazco, 1997). Dos estructuras son las más frecuentemente implicadas, el núcleo mamilar (NM) y el núcleo del tálamo medio dorsal. La idea que el daño del NM origina deterioro de la memoria se origina de que se han encontrado datos consistentes en que se encuentra dañado en pacientes con el síndrome de Korsakoff (Zola-Morgan & Squire, 1993).

En pacientes isquémicos, con tumores o con lesiones degenerativas (que comprometen al tálamo), se han observado alteraciones en las actividades intelectuales, estas alteraciones pueden asociarse a una demencia, y en muchos casos cuando las lesiones fueron bilaterales los pacientes presentaron desorientación en tiempo y espacio, además de amnesia. La importancia del tálamo en el sistema de la memoria ha sido establecida por la descripción de dos datos que convergen. Primero se ha observado amnesia o déficit de la memoria en pacientes con lesiones bilaterales del tálamo, y raramente se observa con lesiones unilaterales, además se ha observado que uno de los factores que pueden contribuir a una severa amnesia son las lesiones en las estructuras talámicas más externas como los núcleos dorsomedial y lateral y segundo, frecuentemente este sitio se encuentra anatómicamente lesionado en alcohólicos con síndrome de Korsakoff (Rousseaux, 1994).

Las lesiones en el lóbulo frontal producen perturbaciones en determinadas funciones de la memoria. En particular los pacientes con lesiones en el lóbulo frontal presentan mayor susceptibilidad a la interferencia, tienen una memoria débil para las ordenes temporales, y pueden tener dificultades con la memoria a corto plazo para determinados tipos de material (Kolob, & Whishaw, 1985); mientras que Halgren (1994), afirma que el lóbulo frontal está implicado en la memoria declarativa.



Izquierdo y colaboradores en 1993 (citado por Ambrogi, Baldi, Bucherelli, Sacchetti & Tassoni 1999) proponen que el estriado, junto con el hipocampo y la amígdala juegan un papel importante en los procesos de la memoria. Se ha sugerido que estas estructuras actúan en paralelo cada una de ellas mediando la adquisición de distintos tipos de información. El hipocampo adquiriendo información en la relación entre estímulos y eventos, la amígdala media las adquisiciones de conductas basadas en conotaciones afectivas y que el estriado media la formación de las asociaciones de reforzadores estímulo respuesta.

Bermúdez-Rattoni, Mujica-González y Prado-Alcalá (1986) estudiaron la actividad colinérgica en el estriado en la adquisición en una prueba de recompensa positiva, aplicando escopolamina en la parte antero-dorsal y postero-dorsal del estriado, encontrando que la administración de escopolamina en el estriado produce deterioro en la adquisición de la conducta condicionada

A pesar de los estudios realizados, una de las grandes interrogantes que encontramos en el campo de las neurociencias se refiere a los sustratos neuroanatómicos de los que depende el almacenamiento de la memoria. En general, los marcos conceptuales que han dirigido (y restringido) la búsqueda de tales sustratos se han derivado de planteamientos que han surgido de los laboratorios fisiológicos. Una aproximación ha sido la búsqueda de "centros" de la memoria, siguiendo la analogía fisiológica de centros nerviosos encargados de funciones reflejas específicas.

### **1.2.5. Farmacología en el almacenamiento de la memoria**

La hipótesis de que los trazos de la memoria son consolidados en determinado tiempo fue propuesta originalmente por Muller y Puzizker en 1900. Se puede mejorar la retención con una variedad de pre-tratamientos incluyendo la estimulación eléctrica en el cerebro, la administración de drogas, hormonas y neuromoduladores. El sistema hormonal influye en el almacenamiento de la memoria a través de la influencia de sistemas neuromoduladores en regiones específicas del cerebro, los efectos de tales tratamientos son dependientes del tiempo, son más efectivos en la influencia de la retención cuando son administrados inmediatamente después del entrenamiento. Hay evidencias que bajo ciertas condiciones, estos tratamientos pueden inducir dependencia de estado, es decir que la información es almacenada en el cerebro en un estado inducido por el

tratamiento y es menos accesible cuando se esta en un estado farmacológicamente distinto (McGaugh, 1989a)

La administración de algún tratamiento después del entrenamiento que facilite la memoria no puede ser explicado sin tomar en cuenta el proceso de la consolidación en el cual de alguna manera otra información puede ser incorporada y cambiar el registro de la memoria. El tiempo en el que se lleva a cabo este proceso puede ser diferente: tratamientos post-entrenamiento únicamente son efectivos unos pocos minutos después del entrenamiento, mientras que información post-evento puede ser añadida en periodos de 2 o 3 horas después del evento. Es posible que diferentes sistemas del cerebro, o diferentes niveles de actividad de sistemas del cerebro puedan estar involucradas en los procesos post-entrenamiento que pueden alterar a la memoria. Las posibles diferencias fisiológicas entre los varios procesos de post-adquisición sugieren que todos ellos puedan complementarse, el sentido común indica que todos contribuyen independientemente en el producto final ( una memoria más o menos "sólida"). La influencia en memoria de los tratamientos administrados durante el periodo de consolidación han sido referidos como "moduladores de la memoria" (McGaugh, 1989 a). Este efecto modulador de la memoria (ya sea para mejorar o deteriorar la memoria) se ha observado utilizando una gran variedad de drogas, tal como lo describe en su trabajo Bammer (1982) y que se estudiará más adelante

Un número considerable de diferentes neurotransmisores existen en el cerebro de los mamíferos. Muchas drogas se pueden acoplar a los receptores que actúan en la sinapsis tal y como lo hacen los neurotransmisores, sin embargo en estas sinapsis pueden ocurrir un gran número de funciones que pueden controlar diferentes tipos de conductas, por lo que la acción de las drogas puede ser extremadamente compleja (White & Salinas, 1998). Para el estudio de las acciones de las drogas sobre la memoria, quizás lo más razonable sea lo que propone Izquierdo (1989), investigar las posibles relaciones entre las drogas y los neurotransmisores desde un punto de vista fisiológico así como estudiar su relación con diversos mecanismos neurobiológicos que han sido propuestos en la huella de la memoria

## 2. NEUROFARMACOLOGIA DE LA MEMORIA.

La unión entre dos células nerviosas se denomina sinapsis. En los vertebrados no hay continuidad en el tejido nervioso entre una neurona y otra, por lo tanto la transmisión de los impulsos tiene lugar a través de un espacio entre neurona y neurona. Esta transmisión tiene lugar en una sola dirección y se acompaña de un retraso (retraso sináptico) del orden de 0.5 a 3 mseg en diferentes sinapsis. Una sola fibra puede establecer conexiones sinápticas con muchas neuronas secundarias; además una sola neurona puede tener terminales presinápticas de varios axones que entran en contacto con ella. En el sistema nervioso central, los impulsos nerviosos en la neurona primaria pueden servir para excitar o inhibir la neurona secundaria. Por lo tanto, las sinapsis actúan como válvulas asegurando la transmisión unidireccional y como estaciones de relevo y de control. En el sistema nervioso central pueden estar dispuestas cadenas de neuronas en circuitos cerrados, que establecen autoexcitación. En el ámbito de uniones neuroefectoras, una sustancia química liberada por las terminaciones nerviosas estimula ó inhibe el músculo ó la glándula enervada; mientras que los datos existentes sugieren que la transmisión en el sistema nervioso central también es química y eléctrica, y a este nivel los transmisores pueden excitar o inhibir las uniones postsinápticas. Entre las sustancias más importantes que tienen función neurotransmisora se incluyen a la acetilcolina (ACh), la noradrenalina (NA), la dopamina (DA), la serotonina (5-HT), el ácido gamma-aminobutírico (GABA), la glicina, el ácido aspártico y el ácido glutámico (Bowman & Rand, 1985).

El proceso de transmisión sináptica no es siempre el mismo, la respuesta final del proceso de la transmisión sináptica depende de múltiples factores sinápticos dinámicos que no necesariamente se repiten de la misma forma cada vez que se propaga la señal entre dos neuronas. La modulación de la comunicación entre las neuronas puede ocurrir tanto a niveles presinápticos como postsinápticos y en ella intervienen procesos tan diversos como fosforilaciones, metilaciones, así como modificaciones de la síntesis y degradación de las enzimas, en los mecanismos de acople estímulo-secreción, en la captura de transmisores y precursores, en la interacción del receptor con el efector, en la cantidad y actividad de los mensajeros intracelulares y en la apertura o cierre de los canales iónicos (Noback, et. al , 1993).

El funcionamiento normal de la sinapsis es susceptible de ser modificado, tanto para

incrementar o disminuir su eficiencia, por una serie de fármacos que interfieren en el proceso sináptico. La manipulación farmacológica puede actuar a diferentes niveles: 1) puede influir en la síntesis del neurotransmisor, actuando sobre la actividad de las enzimas o sobre el transporte de los precursores; 2) en la liberación del neurotransmisor al espacio sináptico; 3) en los procesos de inactivación del neurotransmisor, y 4) en la interacción del neurotransmisor y su receptor (Tamayo, 1999).

Las drogas tienen múltiples acciones en los organismos, en los estudios de aprendizaje y memoria se considera que estos procesos pueden ser observados en la conducta animal y hacer inferencias acerca de las bases del aprendizaje y memoria en los humanos. Numerosos estudios indican que el aprendizaje y la memoria pueden ser modulados por algunas drogas que afectan al sistema nervioso central (López - Antunez, 1979).

Puede ser que los procesos de aprendizaje y memoria sean modulados por cualquier cambio en la actividad neural, producido por drogas que actúan centralmente (McGaugh, 1973)

Existen evidencias de que la influencia de las drogas en el aprendizaje, pueden estar afectando mecanismos adrenérgicos, colinérgicos, la síntesis de ARN y proteínas, entre otros.

Para comprender más este tema es necesario conocer el sistema de neurotransmisores que pueden estar involucrados con la memoria

### **2.1. Sistemas centrales de neurotransmisión.**

Podemos definir un transmisor como una sustancia que se libera por una neurona en la sinapsis y que afecta de manera específica a otras células, ya sea una neurona o un órgano efector. Según Kandel, Jessell y Schwartz (1996), de manera general se aceptan como neurotransmisores a un pequeño número de sustancias de bajo peso molecular, pero otras muchas sustancias se han aceptado como candidatos a transmisor con varios grados de consenso. A menudo resulta difícil demostrar una función transmisora por lo que los mismos autores consideran que un transmisor lo es, cuando cumpla por lo menos con los siguientes cuatro criterios:

1. Que se sintetice en la neurona.
2. Que esté presente en la terminal presináptica y se libere en cantidades suficientes y ejerciendo un efecto definido sobre la neurona postsináptica u órgano efector.
3. Cuando se administre exógenamente en concentraciones razonables, mímétique

perfectamente los efectos del transmisor liberado endógenamente (por ejemplo que active los mismos canales iónicos o ruta del segundo mensajero en la célula postsináptica).

4. La existencia de un mecanismo específico para eliminarlo del lugar donde actúe.

Con el empleo de técnicas bioquímicas, farmacológicas e inmunocitoquímicas en estudios fisiológicos, se han podido conocer las principales vías neuroquímicas centrales en cuyas terminales nerviosas se liberan determinados neurotransmisores o sustancias neuromoduladoras.

Se conocen diferentes tipos de neurotransmisores, cada uno con una distribución anatómica particular y que a su vez pueden estar involucrados en diferentes funciones de los organismos. La dopamina y la noradrenalina se encuentran en las sinapsis de tan sólo 1 a 2 % de las neuronas cerebrales, la serotonina en un porcentaje menor y la acetilcolina en un 5 al 10 %. Al menos 50 señales químicas diferentes, muchas de ellas polipéptidos operan a nivel de las sinapsis. El resto de la transmisión nerviosa es cubierto por diferentes aminoácidos los cuales se encuentran en mayor cantidad que las monoaminas y los péptidos; se dividen en aminoácidos excitatorios de estructura dicarboxílica como el ácido glutámico y aspártico, e inhibitorios de estructura monocarboxilada como el ácido gamma-aminobutírico (GABA) en un porcentaje del 25 al 40 por ciento, al igual que la glicina (Tamayo, 1999). Con el fin de proporcionar información básica de los neurotransmisores más comunes se revisan brevemente los que no son tema de este trabajo, y con más detalle la acetilcolina y el ácido gamma-aminobutírico.

**Vías noradrenérgicas.-** Las vías se originan en el locus ceruleus (en el dorso protuberancial), bulbo y protuberancia. Sus fibras se proyectan hacia el núcleo supraóptico y núcleos paraventriculares del hipotálamo, al tálamo, a la neocorteza, telencéfalo basal, formación reticular, cerebelo y médula espinal (Feria-Velasco, 1997; Tamayo, 1999).

**Vías dopaminérgicas.-** Existen una variedad de vías dopaminérgicas: la porción nigroestriatal proyecta desde la sustancia negra en el cerebro medio al cuerpo estriado, del tracto mesolímbico-mesocortical que contiene cuerpos de células en el área tegmental ventral adyacente a la sustancia negra y proyecta al sistema límbico y neocorteza. La tercera vía se encuentra en el tracto tuberoinfundibular, los cuerpos de las células residen en el núcleo arcuato y en el área pre-ventricular del hipotálamo y se proyectan al infundíbulo y pituitaria anterior. La dopamina inhibe la liberación de prolactina dentro de este tracto (Page, Curtis, Sutter, Walker & Hoffman,

1997).

**Vías serotoninérgicas.**- La mayor parte de los somas de este sistema se encuentran en los núcleos de rafe, y sus fibras se proyectan a los ganglios basales y varias partes del sistema límbico y son ampliamente distribuidas a través de la corteza cerebral que se suman a las conexiones cerebelares (Page, et al., 1997). Algunas neuronas serotoninérgicas localizadas en el bulbo raquídeo inervan los segmentos superiores de la médula espinal. Altos niveles de serotonina se han detectado en estructuras diferentes al cerebro como el plexo mientérico, plaquetas, tiroides y células enterocromafines (Tamayo, 1999).

**Vías glutamatérgicas** - Los somas de estas neuronas se encuentran principalmente en el bulbo olfatorio y sus fibras inervan la corteza piriforme, el tubérculo olfatorio y la amígdala cerebral. Igualmente fibras glutamatérgicas provenientes de la corteza inervan el cuerpo estriado, principalmente al núcleo caudado. Aparentemente las fibras paralelas de la corteza cerebelosa y las fibras hipocampales provenientes de la habénula, son colinérgicas, así como algunas interneuronas de axón corto en corteza cerebral y en el hipocampo (Feria-Velasco, 1997).

**Vías peptidérgicas** - Existen numerosos trabajos que muestran inmunorreactividad a diferentes péptidos, tanto en cuerpos neuronales, como en fibras nerviosas y en terminales sinápticas en el SNC. Se han observado neuronas que contienen péptidos en hipotálamo en altas concentraciones, en el hipocampo, giro dentado (somatostatina), en neuronas dopaminérgicas (neurotensina), en neuronas serotoninérgicas (sustancia P) y en neuronas GABA (somatostatina) Participan además en varias vías como amigdalomesencefálica, núcleo parabraquial-amígdala y en locus ceruleus-hipotálamo (Tamayo, 1999).

### 2.1.1. Vías colinérgicas.

La identificación de las sinapsis colinérgicas en el sistema nervioso periférico ha sido relativamente fácil, ahora se conoce que la acetilcolina (ACh) es el transmisor de los ganglios autónomos, de las sinapsis parasimpáticas posganglionares y de las uniones neuromusculares. En cambio en el sistema nervioso central las técnicas tan específicas que se necesitan para su estudio, han dificultado su conocimiento, con técnicas tradicionales se lesionan vías que se cree intervienen en la acción colinérgica, y se ensaya con la ACh, la colina acetiltransferasa ó la alta

afinidad de la captación de la colina a las áreas que se presume son terminales. Con el uso de técnicas histoquímicas se ha encontrado que las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert proyectan a la neocorteza, a la amígdala cerebral y a neuronas localizadas en núcleos septales que a la vez proyectan al hipocampo; algunas fibras colinérgicas provenientes de la región hipotalámica lateral inervan al bulbo olfatorio y otras provenientes de la habénula inervan algunas regiones del hipotálamo medial. Existe inervación colinérgica en tálamo, proveniente del tallo cerebral, principalmente del núcleo tegmental lateral. En corteza cerebral, en el estriado y en el hipotálamo existen interneuronas de cilindro eje corto colinérgicas. Todas las motoneuronas cuyas fibras constituyen los nervios craneales motores voluntarios y las motoneuronas espinales de las astas anteriores, son colinérgicas, así como las fibras preganglionares del sistema nervioso autónomo, tanto simpático como parasimpático (Bowman & Rand, 1985; Cooper, Bloom & Roty, 1996).

La siguiente figura nos muestra las posibles vías de la acetilcolina (Cooper, et al. 1996)

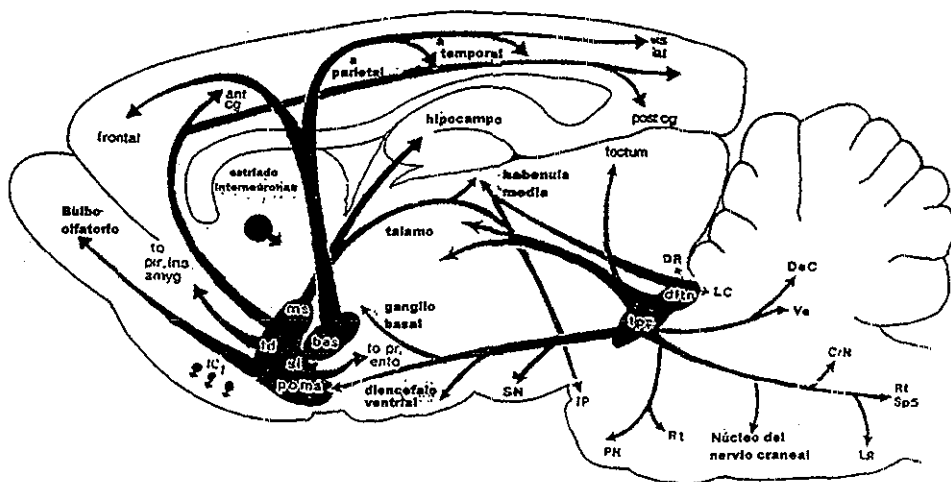


Figura 3 Representación esquemática de las principales vías colinérgicas en el cerebro de mamífero. Como se ilustra las neuronas colinérgicas exhiben 2 organizaciones básicas: (a) circuitos celulares locales, ejemplificado por las interneuronas del núcleo putamen caudado, el núcleo accumbens, tubérculo olfatorio, y las islas del complejo calleja (IC); y (b) la proyección de neuronas que

interconectan estructuras centrales. Son dos las vías principales : (a) el complejo colinérgico del cerebro medio basal, compuesto por neuronas del núcleo septal medio (ms), banda diagonal del núcleo (td), sustancia innominata (si), campo preóptico magnocelular (poma), núcleos basales, y proyecciones a todo el telencefalo neocortical; y (b) el complejo colinérgico pontomeceléfalo-tegmental, compuesto por un complejo colinérgico de células del pedúnculo del núcleo del puente (tpp), núcleo tegmental laterodorsal (dltm) y proyecciones ascendentes al tálamo y descendiendo al núcleo del puente y formación reticular medular (Rt), formación cerebral profunda (DcC) y núcleos vestibulares (Vc) y nervios del núcleo craneal.

Abreviaciones: amyg, amígdala; ant cg, corteza antero cingulata; CrN núcleo del nervio craneal dorsal; DR núcleo dorsal de rafé; ento, contorhinal ceruleus; LR, núcleo reticular lateral; olfat, olfatorio; pir, corteza piriforme; PN, núcleo del puente; pr, corteza pirirhinal; parietal, corteza parietal; post cg, corteza cingulata posterior; SN, sustancia nigra y Sp5, núcleo espinal del quinto nervio craneal.

### 2.1.2. Vías GABAérgicas

Desde el comienzo de la década de los 50s se sabe que extractos del cerebro contienen sustancias inhibitorias, diversas investigaciones demostraron que el GABA es un constituyente normal en el sistema nervioso central de los mamíferos pero no de otros tejidos con excepción de la retina donde se encuentran trazos de este material, después de 45 años no se ha precisado el papel específico que juega este compuesto en el sistema nervioso central de los mamíferos, sin embargo se han acumulado evidencias que apoyan la hipótesis de que la acción mayor del GABA, es la de un transmisor inhibitorio, las investigaciones que apoyan esta hipótesis están basadas en datos de la etiología de desordenes psiquiátricos. El GABA ha sido implicado en la patogénesis de la enfermedad de Huntington, Parkinson, epilepsia, esquizofrenia y en la demencia senil entre otros (Bowman & Rand, 1985).

La concentración de GABA encontrada en el sistema nervioso central (SNC), es del orden de micromoles por gramo. Es interesante que en el cerebro también se encuentren grandes cantidades de ácido glutámico (8 - 13  $\mu\text{M/g}$ ) el cual es el principal precursor del GABA y él mismo es candidato a neurotransmisor (Cooper, et al., 1996).

La mayoría de las interneuronas de axón corto en el SNC son GABAérgicas y hacen parte de un extenso y difuso sistema de regulación (interneuronas) que interactúa con los sistemas aminérgicos (ácido glutámico y aspartico). El GABA se encuentra en el citoplasma de numerosas



neuronas del SNC, sobre todo en la sustancia nigra, el núcleo caudado, el globo pálido, el putamen y la corteza cerebral. Principalmente se les ha identificado en la neocorteza, bulbo olfatorio, corteza piriforme, formación reticular (particularmente la pontina), colículo superior, hipocampo y en los núcleos cerebelosos centrales. En el cerebelo las células de canasta, las células de Purkinje y las estrelladas, son GABAérgicas. Existen fibras largas GABAérgicas en corteza cerebral provenientes del hipotálamo, así como en la sustancia nigra, provenientes del estriado (López - Antunez, 1979)

Una de las principales vías del GABA se encuentra en los ganglios basales, desde el núcleo caudado y el putamen, hasta el globo pálido y la sustancia nigra, y otra vía directa desde el núcleo caudado a la sustancia nigra (Guyton & Hall, 1997). Concretamente, Afifi y Bergman (1999), refieren a las vías GABAérgicas en los ganglios basales en los siguientes esquemas (Figura 4 y Figura 5):

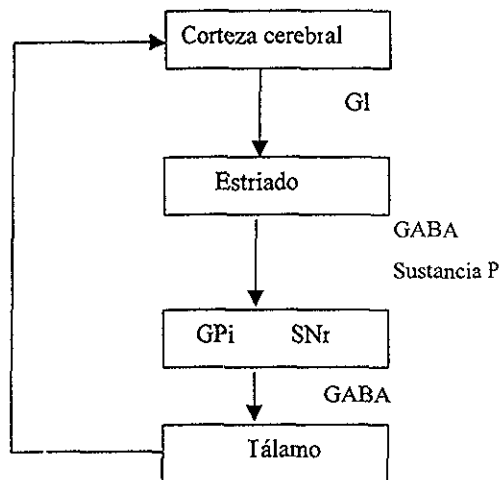


Figura 4. Representación esquemática que muestra los sustratos anatómicos de la vía estriopálida directa. Gl, glutamato; GABA, ácido gamma-aminobutírico; GPi, segmento interno del globo pálido; SNr, sustancia nigra porción reticular (Afifi y Bergman, 1999)

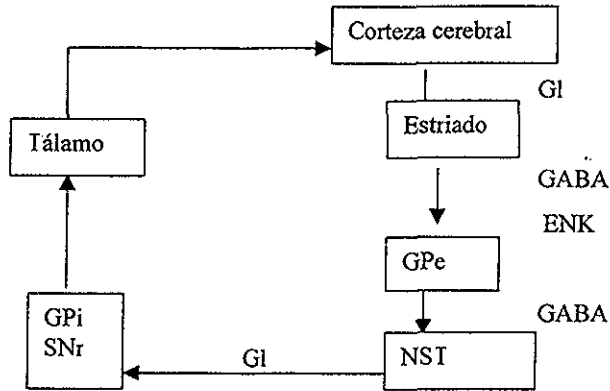


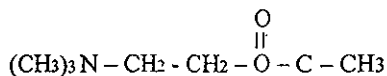
Figura 5 Representación esquemática que muestra los sustratos anatómicos de las vías indirectas estriopalidales. Gl, glutamato; GABA, ácido gamma-aminobutírico; ENK, encefalinas; GPe, segmento externo del globo pálido; SNr, sustancia negra porción reticular; NST, núcleo subtalámico

La actividad del SNC es importante en la regulación de muchas funciones, como se mencionó previamente la ACh y el GABA son neurotransmisores que participan en la modulación de algunas funciones como el aprendizaje y la memoria, como se verán en las siguientes secciones.

### 3. NEUROTRANSMISORES

#### 3.1. Acetilcolina

La actividad fisiológica de la acetilcolina, se conoce desde la década de los veinte. Su fórmula estructural es la siguiente:

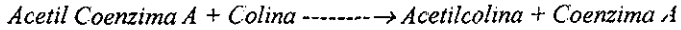


La ACh puede ser estudiada por sus efectos en los sistemas biológicos y/o por métodos fisicoquímicos. Entre los primeros estudios sobre el papel de la acetilcolina como neurotransmisor, se encuentran los trabajos de Dixon en 1907, de Dale (1914) y los de Otto Loewi en 1921 (Brailowsky, 1995).

Dixon observó la impresionante similitud entre los efectos del alcaloide llamado muscarina, y los de la estimulación del nervio vago, lo que lo llevó a postular que los nervios parasimpáticos postganglionares, secretaban una sustancia parecida a la muscarina para producir sus efectos. Cuatro años después Hunt y Traveau, reportaron que la acetilcolina, un ester acético de la colina, provocaba disminución en la presión arterial, un efecto similar al provocado por la estimulación vagal. Dale describió que los efectos de la administración de la muscarina, (un extracto de algunos hongos), eran mimetizar las acciones del sistema parasimpático. Este compuesto fue aislado y resultó ser la acetilcolina, por lo que Dale propuso que la acetilcolina podía mediar la estimulación parasimpática. Años después, Loewi demostró en el corazón de rana, que la estimulación eléctrica del nervio vago producía inhibición de la actividad cardíaca; si después se perfundía un segundo corazón con el líquido del baño del corazón estimulado, se observaba también una disminución de la actividad cardíaca aún cuando este último corazón no había sido estimulado (Brailowsky, 1995).

#### 3.1.1. Metabolismo de la acetilcolina

La ACh es sintetizada en una reacción catalizada por la enzima colina acetiltransferasa:



En la Figura 6, se describe el posible origen de la acetil CoA y la colina. En teoría la acetil Coenzima A (acetil CoA) necesaria para la síntesis de la ACh puede provenir de la glucosa, a través de la glicólisis y el sistema piruvato deshidrogenasa; del citrato, por una reversión de la enzima condensante (citrato sintetasa) o por división de la enzima citrato o por el acetato a través del acetato tioquinasa. Considerando estos orígenes, la acetil CoA, es primeramente sintetizada en la mitocondria, la acetil CoA es transportada fuera de la mitocondria para la participación en la síntesis de la ACh. Un probable acarreador de la acetil CoA es el citrato, el cual puede difundirse en el citosol y producir acetil CoA vía citrato liasa, otro posible acarreador es la acetil carnitina. Tanto la colina libre como en forma de fosfolípido (posiblemente como fosfatidilcolina), es transportada al cerebro por la sangre, siguiendo la hidrólisis de la ACh, cerca del 35 al 50 por ciento de la colina liberada es transportada en pocas cantidades a las terminales presinápticas por el sodio-dependiente, el sistema de transporte activo de alta afinidad para ser reutilizada en la síntesis de ACh (Cooper, et al., 1996).

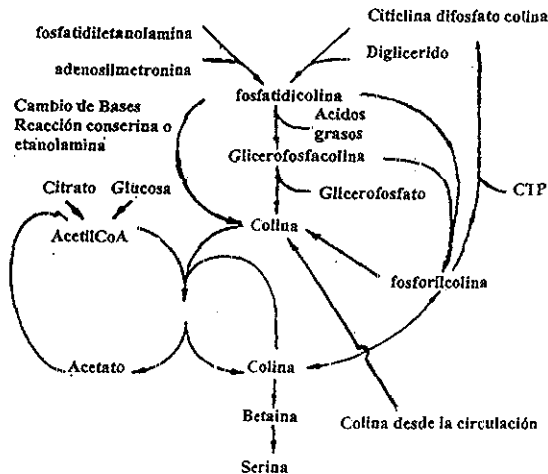


Figura 6. Metabolismo de la acetilcolina (según Cooper, et al., 1996).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La síntesis de acetilcolina depende esencialmente de la disponibilidad del precursor. Este proceso se inhibe en forma notable por el hemicolinio y la trietilcolina, los cuales actúan como inhibidores competitivos, sin embargo una de las restricciones de estas drogas es la dificultad para penetrar al sistema nervioso central cuando son administradas por vía sistémica.

Se conocen procesos de inactivación que ocurren a través de la acción degradativa de la acetilcolinesterasa y se han diseñado drogas que actúan como inhibidores potentes y selectivos de la actividad de esta enzima. Los efectos de los inhibidores de la acetilcolinesterasa son múltiples: incluyen miosis, náusea, vómito, diarrea, incontinencia, sudor, debilidad generalizada y trastornos respiratorios. A nivel central se producen convulsiones, pérdida de reflejos y estado comatoso, estos efectos se pueden contrarrestar con dosis masiva de atropina

Entre los inhibidores se encuentra la fisostigmina, la neostigmina y los inhibidores organofosforados. Otros mecanismos a nivel presináptico que pueden ser modificados en las sinapsis colinérgicas son el almacenamiento y la liberación del neurotransmisor. Las toxinas botulínicas por ejemplo, reducen la liberación de la acetilcolina, mientras que el veneno de la araña llamada viuda negra (*Lactrodectes*) y la alfa bungarotoxina incrementan la salida del neurotransmisor (Bowman & Rand, 1985)

La acetilcolina es el transmisor utilizado por las motoneuronas de la médula espinal y, por ende, se libera en todas las uniones neuromusculares de los vertebrados. En el sistema nervioso autónomo, éste es el neurotransmisor de todas las neuronas preganglionares y también de todas las neuronas postganglionares parasimpáticas. La ACh se utiliza en muchas sinapsis a lo largo de todo el encéfalo; particularmente son numerosos los somas neuronales que sintetizan ACh en los ganglios basales que disponen de amplias proyecciones hacia la corteza cerebral (Kandel, et al., 1997)

### 3.1.2. Receptores colinérgicos

Se conocen dos tipos de receptores colinérgicos, los muscarínicos y los nicotínicos, estos términos se refieren a los efectos de la muscarina, sustancia proveniente de un hongo (*Amanita muscaria*) que tienen efectos similares a los de la nicotina, contenida en el tabaco, y los de la

acetilcolina. La muscarina en general estimula a los receptores colinérgicos, mientras que la nicotina primero los estimula y después los bloquea (Brailowsky, 1995)

Dentro de los receptores muscarínicos se han encontrado cinco tipos ( $M_1 - M_5$ ), que han sido clonados, todos ellos exhiben un tiempo de respuesta lenta (100-250 ms), están acoplados a proteínas G y a los canales de iones y pueden ser enlazados a una variedad de segundos mensajeros. Los receptores  $M_1$ ,  $M_3$  y  $M_5$  son acoplados a la hidrólisis PI, mientras que  $M_2$  y  $M_4$  son acoplados al cAMP (ácido 3,5-adenílico); cuando son activados, el efecto final puede ser abrir o cerrar canales de potasio (K), canales de calcio (Ca) o canales de cloro (Cl), dependiendo del tipo de célula. Con esta forma de activación de canales, la estimulación de los receptores muscarínicos puede conducir hacia una despolarización o hiperpolarización (Cooper, et al., 1996).

Los receptores presinápticos de la acetilcolina son afectados por los antagonistas de los receptores muscarínicos, siendo inhibidos por la atropina y por la escopolamina. Estos mismos receptores también son susceptibles a la acción de los agonistas (Pasantes, Sánchez & Tapia, 1991).

### 3.1.3. Evidencias de la participación de la acetilcolina en la memoria

Numerosos estudios indican que la actividad colinérgica interviene en la adquisición y mantenimiento de la memoria (Caine, Weingartner, Ludlow, Caudahy & Wehnhhry, 1981; Durán-Arevalo, Cruz-Morales & Prado-Alcalá, 1990; Harountunian, Barnes & Davis, 1985; ), mientras que Prado-Alcalá y Cobos (1977), han demostrado que la integridad funcional y anatómica del núcleo caudado es esencial para la conducta instrumental, y que el bloqueo de la actividad colinérgica estriatal, produce un deterioro en conductas instrumentales.

Por otro lado, se ha estudiado la enfermedad de Alzheimer, en donde hay memoria de recuerdos antiguos pero hay dificultad para evocar nuevos recuerdos, la bioquímica de la enfermedad muestra que el nivel de acetilcolintransferasa es entre un 60 y 90 por ciento más bajo en pacientes enfermos que en sanos. Los cambios son mayores en el hipocampo y la neocorteza, especialmente entre las regiones temporal y frontal. Los primeros trabajos experimentales

realizados en animales y en humanos dieron apoyo a la hipótesis de que los mecanismos colinérgicos son esenciales para la memoria. Esta hipótesis señala lo siguiente: la memoria se afecta cuando la actividad de la ACh en la sinapsis donde se codifica la memoria más antigua es insuficiente, de tal forma que un aumento de la ACh ayuda a recordar; sin embargo los recuerdos más recientes con más actividad de la ACh, se ven afectados por un bloqueo de despolarización. Según ésta hipótesis la memoria trabaja mejor no cuando los niveles de ACh son los más altos posibles, sino cuando son los óptimos para la transmisión sináptica (Deutsch, 1969)

Drogas tales como la escopolamina (E), la cual atenúa las funciones colinérgicas en el sistema nervioso central a través del bloqueo no selectivo de los receptores muscarínicos, y/o lesiones cerebrales en neuronas colinérgicas, dañan la ejecución en una variedad de pruebas de aprendizaje y memoria. En un estudio realizado en humanos se demostró, en estudiantes sanos, que una administración intramuscular de E daña la memoria a largo plazo mientras que la memoria inmediata se encontró intacta. Este déficit fue revertido por la fisostigmina un inhibidor de corta acción de acetilcolinesterasa. Por otro lado en estudios con animales y humanos se ha encontrado que agonistas colinérgicos pueden revertir los efectos de la E en la memoria a largo plazo y que lesiones colinérgicas deterioran la ejecución en esas pruebas (Iversen, 1997).

La escopolamina (Hiosina) es un alcaloide extraído de la *Atropa belladonna*, *Hyosiamys niger* o de la *Datura estramonium*. Este alcaloide se considera un depresor y se utiliza como sedante y tranquilizante menor. Las dosis excesivas pueden causar la muerte por depresión del centro respiratorio (Bowman & Rand, 1985).

En una investigación se evaluó el efecto de la administración oral de E en humanos sobre una prueba de memoria, un grupo recibió 0.6 mg y otro grupo 1.2 mg de E, un tercer grupo recibió metil-escopolamina y finalmente un cuarto grupo recibió placebo; los resultados de la evaluación hecha una hora después de la administración mostraron que en los grupos administrados con E, se produjo una baja significativa en la retención de la prueba, es decir se produjo amnesia, mientras que no se reportaron diferencias en los otros grupos (metil-escopolamina y placebo) Asimismo se realizó una prueba similar a grupos administrándoles nicotina en dosis de 0.5 mg, 1.0 mg y 1.5 mg, encontrándose que no se alteraron los resultados de

los grupos con respecto al placebo (Wesnes & Warburton, 1984).

La liberación de la ACh por administración post-entrenamiento de agonistas muscarínicos (oxotremorina y arecolina, cuya actividad colinérgica es en receptores colinérgicos postsinápticos), esta involucrada en la modulación del almacenamiento de la memoria. Cuando se evalúa el efecto de la administración de agonistas y antagonistas colinérgicos sobre la retención, los efectos son dependientes de la dosis y del tiempo. El efecto de los antagonistas colinérgicos son menos consistentes que los agonistas y los inhibidores de la colinesterasa. La administración de antagonistas colinérgicos incluyendo a la atropina, la escopolamina y la pirenzepina produce deterioro en adquisición cuando es administrada antes del entrenamiento y una menor retención con post-administración al entrenamiento en una gran variedad de pruebas (McGaugh, 1989b; Haroutunian, et.al., 1985).

Gran parte de los bloqueadores colinérgicos no pueden atravesar la barrera hematoencefálica, la atropina, la E, la fisostigmina entre otros, pueden penetrar en el sistema nervioso central (Cooper, et al , 1984).

Cruz-Morales y Prado-Alcalá, (1990), han demostrado que en una prueba de evitación pasiva, la administración de la E después del entrenamiento produjo amnesia retrógrada mientras que evidencias clínicas sugieren que la E produce amnesia anterógrada. Decker, Iran y McGaugh (1990), realizaron estudios de memoria en ratones sometidos a una tarea de evitación pasiva con un choque de 0.35 mA por 2 s, y encontraron que la administración de E (10 mg/kg), 20 minutos antes del entrenamiento, produjo déficit en la retención, lo que sugiere que la E interviene en el proceso de la adquisición, y por consecuencia produce daño ocasionando un deterioro en el registro de la información.

Por otro lado Bermúdez-Rattoni, Mújica-González y Prado-Alcalá (1986), aplicaron E en la parte antero-dorsal y postero-dorsal del putamen caudado, pocos minutos después del entrenamiento en una tarea de evitación pasiva, encontrando un marcado deterioro en la retención en la prueba después de 24 horas, concluyendo que la actividad colinérgica del putamen caudado es crucial para la adquisición en las conductas de reforzamiento aversivo.

Asimismo se realizó un estudio en ratones, haciendo una comparación de los efectos del



diazepam (una benzodiazepina) en una dosis de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg y de E (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), los fármacos se administraron 20 min antes del entrenamiento, en dos pruebas de aprendizaje con reforzamiento positivo. Los resultados reportaron que en los animales administrados con E y diazepam, se produjo un deterioro significativo en la retención y un aumento en cuanto a los errores cometidos, la E mostró mayor deterioro durante los primeros 4 días y menos en los siguientes. La E y el diazepam mostraron diferentes patrones de amnesia anterógrada (Decker, Tran & McGaugh, 1990).

Otro trabajo en donde se demuestra la acción de la E en la memoria fue el realizado por Flicker, Serby y Ferris (1990), ellos trabajaron con humanos administrando E a jóvenes por vía subcutánea en dosis de 0.22, 0.43 ó 0.65 mg/70kg. Los efectos fueron comparados con jóvenes a los que se les administró un placebo, los sujetos realizaron varias pruebas. Los resultados indican que dosis altas de E producen una deficiencia en las pruebas de memoria inmediata verbal, memoria reciente visual, memoria reciente espacial, función perceptual y rapidez psicomotora.

En estudios más recientes se trabajó con monos en una tarea de discriminación condicionada, en donde la administración intramuscular de E fue 15 minutos antes de empezar el programa, o inmediatamente después de la fase de adquisición (cuando el mono había alcanzado el criterio establecido para este paradigma). Las pruebas se realizaron a los 60 minutos y a las 24 horas después del entrenamiento. Los resultados mostraron un deterioro en la respuesta de cada sujeto, los errores en las respuestas fueron en aumento respecto a la dosis empleada de E, a mayor dosis mayor número de errores. Sin embargo estos investigadores sugirieron que la adquisición es más sensible a los efectos de la E que en la consolidación. El estudio mostró que a bajas dosis de E producen un déficit en la memoria a corto plazo pero no en la memoria a largo plazo (Savage, Bryant, Lambert, & Moerschbaecher, 1996).

Estas evidencias han demostrado que la administración del antagonista colinérgico E a nivel sistémico o intracerebral produce amnesia. Por esta razón se ha empleado la administración de escopolamina como un modelo para inducir amnesia y estudiar la memoria.

### 3.2. GABA

El SNC contiene en especial altas concentraciones de aminoácidos, notablemente de glutamato y de GABA, estos aminoácidos son extremadamente potentes en su habilidad para alterar las descargas neuronales. Inicialmente los fisiólogos aceptaron estas sustancias como simples neurotransmisores por su distribución dentro del cerebro y las observaciones consistentes respecto a que sin dificultad, impulsaban y potenciaban efectos reversibles. El aminoácido dicarboxílico produce una excitación y los aminoácidos monocarboxílicos (GABA, glicina, beta alanina, taurina) producen similares y consistentes inhibiciones. Con antagonistas selectivos a los efectos de los aminoácidos se identificaron receptores y subtipos de receptores que median sus efectos y se desarrollaron métodos para mapear la localización de ligandos y sus receptores (Cooper, et al, 1996).

Sintetizado en 1883, el ácido gamma aminobutírico (GABA), fue conocido por muchos años como un producto del metabolismo de microbios y plantas, y fue hasta 1950, cuando se identificó el GABA como un constituyente normal del sistema nervioso central en mamíferos, fuera de éste sistema únicamente se encontraron algunas trazas en retina. Hasta ahora no se ha precisado con exactitud cual es el papel de éste componente en el sistema nervioso central, sin embargo se han acumulado muchas evidencias que apoyan la hipótesis de que el GABA tiene una función inhibitoria en el cerebro. Se ha demostrado que la estimulación de fibras inhibitoras que inervan los músculos de la langosta, da lugar a la liberación de GABA; además con pruebas fisiológicas y antecedentes de sus propiedades farmacológicas se han obtenido datos que apoyan la idea de que el GABA media las acciones inhibitorias de las interneuronas locales en el cerebro y que el GABA también puede mediar inhibiciones presinápticas. Se ha comprobado su presencia en la corteza cerebral y en el cerebelo donde parece localizarse en las células de Purkinje, cuya función se considera inhibitora; se ha detectado entre pequeñas interneuronas y células del bulbo olfatorio, núcleo caudado, hipocampo y núcleo septal lateral; y entre los núcleos vestibulares y las motoneuronas treocleares. Se infiere que el GABA sea un mediador en las sinapsis inhibitoras (Goodman & Gilman, 1998; López-Antunez, 1973).

Los estudios neurofisiológicos y bioquímicos indican que la mayor parte del GABA

encontrado en el cerebro puede tener la función de un neurotransmisor inhibitorio, que puede inducir tanto una respuesta hiperpolarizante (inhibición postsináptica) como una despolarizante (inhibición presináptica). Por lo que estos eventos establecen posibles relaciones entre el GABA y las dos posibles respuestas post y pre sinápticas. Ahora es claro que se pueden agregar al GABA un basto número de sitios de GABA en tejidos del SNC, algunos de los cuales pueden ser relevantes fisiológicamente pero no están referidos apropiadamente a receptores GABA. Estos sitios incluyen a sitios de transporte de GABA de alta afinidad y enzimas involucradas en el metabolismo tales como el GAD y GABA-T (GABAa oxoglutarato transaminasa). Sin embargo los receptores GABA no están exclusivamente asociados con neuronas; el GABA puede estar expresado en astrocitos, en donde parece que están involucrados en la regulación de los canales de cloro. Los receptores GABA también los podemos encontrar fuera del SNC en neuronas del sistema nervioso autónomo (Cooper, et al., 1996)

La Figura 7, muestra los posibles sitios de acción en una sinapsis GABAérgica, incluyendo las posibles acciones de diferentes drogas.

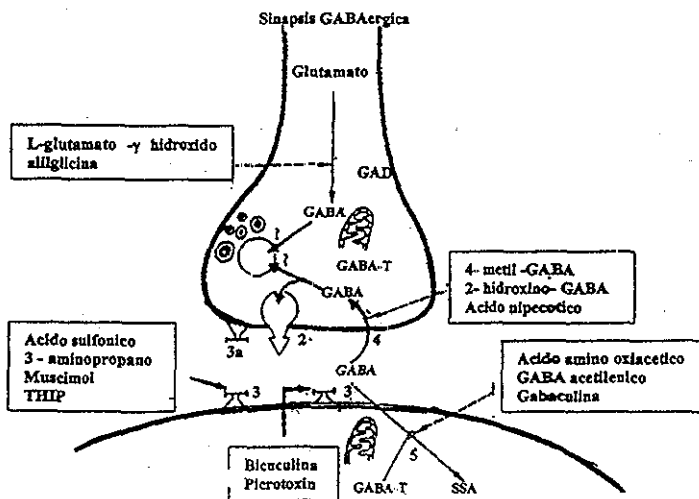


Figura 7 Se esquematiza la neurona GABAérgica indicando los posibles sitios de acción de las drogas (según Cooper, etal 1996)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Sitio 1. Síntesis enzimática.- La enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD) es inhibida por agentes que parecen actuar primeramente como antagonistas de piridoxal y son inhibidores no específicos, mientras que el L-glutamato – hidrazido y alilglicina son inhibidores más selectivos de GAD, pero estos agentes no son enteramente específicos en sus efectos

Sitio 2 Liberación - La liberación de GABA parece ser dependiente del Ca, aunque se han encontrado inhibidores no selectivos de GABA en su liberación

Sitio 3. Interacciones con receptores postsinápticos.- La bicuculina y la picrotoxina bloquean la acción de GABA a los receptores postsinápticos. El ácido 3-aminopropano sulfónico y, el muscimol, parecen ser efectivos agonistas GABA en receptores postsinápticos y autorreceptores

Sitio 3 a Autorreceptores presinápticos - Posibles sitios en el control de la liberación de GABA

Sitio 4 Recaptura.- En el cerebro el GABA parece estar activo en las terminaciones presinápticas por medio de un mecanismo dependiente de sodio. Algunos compuestos podrán inhibir este mecanismo, tal es el caso de 4 – metil-GABA y 2 – hidroxil-GABA, pero estos agentes no son específicos en sus efectos inhibitorios

Sitio 5. Metabolismo.- GABA es metabolizado primariamente por transaminación por la GABA-transaminasa (GABA-T), la cual esta localizada en la mitocondria El ácido amino-oxiacético, gabaculino y acetilénico GABA son inhibidores efectivos de GABA-T.

Este neurotransmisor ha sido objeto de muchas investigaciones en procesos neurológicos y sobre todo en desordenes psiquiátricos El GABA ha sido implicado directa e indirectamente en patogénesis de la enfermedad de Huntington's, de Parkinson, en la epilepsia, la esquizofrenia, la demencia senil, y en general en desordenes conductuales

El papel de GABA como un transmisor central esta ya establecido, sin embargo recientemente se ha encontrado que también tiene un papel importante en el sistema nervioso periférico, como en glándulas endocrinas, músculo liso y en el sistema reproductivo femenino (Krogsgaard-Larsen, Frouland & Bjarke, 1997).

### 3.2.1. Metabolismo de GABA

Tres enzimas primarias están involucradas en el metabolismo de GABA antes de entrar al ciclo de Krebs. El GABA se forma por la alfa descarboxilación del ácido L-glutámico, una reacción catalizada por la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD), que requiere como cofactor piridoxal-5-fosfato. La GAD es una enzima que únicamente se encuentra en el SNC de los mamíferos y en el tejido retinal; el GABA está íntimamente relacionado con el metabolismo oxidativo de los carbohidratos. La Figura 8 muestra el metabolismo del GABA y sus relaciones con el ciclo de Krebs.

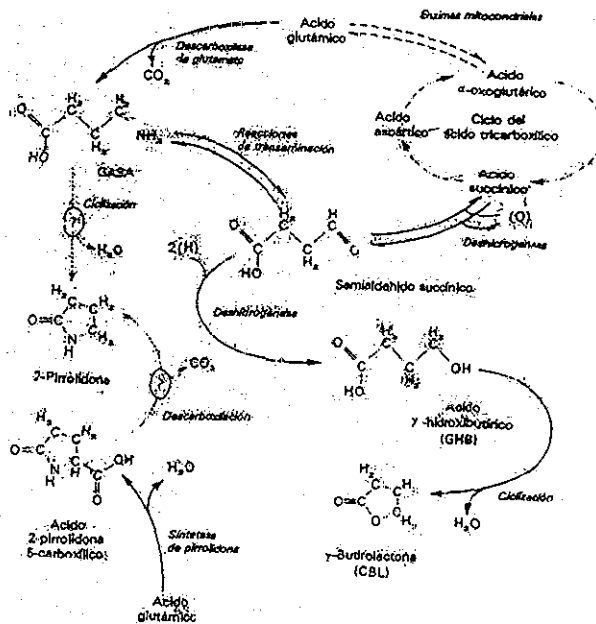


Figura 8. Interacción metabólica de GABA. Las vías de líneas son más complejas que lo aquí indicado. Las líneas de punto son hipotéticas (Bowman & Rand, 1985)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.2.2. Receptores GABA

Los receptores GABA son sitios específicos de la membrana post o presináptica, que cuando se acoplan con el GABA o un agonista apropiado, cambian la permeabilidad de la membrana a los iones inorgánicos, principalmente a los cloruros. Este cambio a la permeabilidad al cloruro ocasiona una hiperpolarización de la neurona receptora en el caso de una inhibición postsináptica y de una despolarización en el caso de una inhibición presináptica. La hiperpolarización de las membranas producidas por un incremento en la permeabilidad de la membrana a los iones cloruro, parece idéntica a los cambios inducidos por los aminoácidos semejantes a la glicina (Cooper, et al., 1996)

En vertebrados se han definido dos grandes grupos de receptores: los receptores GABA<sub>A</sub> y los receptores GABA<sub>B</sub>, estos receptores se han clasificado basándose en evidencias farmacológicas. El receptor GABA<sub>A</sub> es un ligando a los sitios de los canales de cloro (Cl<sup>-</sup>) que se abren después de la liberación de GABA, desde las neuronas presinápticas; y el segundo receptor GABA<sub>B</sub> que es miembro de la proteína G acoplado a la familia de los receptores tanto por vías bioquímicas y regulando los canales de iones. Por muchos años se han definido estrictamente los receptores de GABA con base a su sensibilización a los antagonistas de GABA BI y PX, sin embargo desde hace mucho tiempo se piensa que en el SNC, hay receptores de GABA de distintos tipos farmacológicos y funcionales, ya que los estudios electrofisiológicos han demostrado la existencia de receptores GABA insensibles a la BI, éstos receptores han sido difíciles de caracterizar debido a la falta de agentes farmacológicos apropiados e incluso en investigaciones recientes se habla de otro tipo de receptores, los GABA<sub>C</sub> (Paredes & Agmo, 1991).

La acción del GABA en el complejo receptor ionóforo puede ser antagonizada por los antagonistas del GABA, ya sea en forma directa por la competencia por el GABA, o bien indirecta por la modificación de receptores o por la inhibición del ionóforo activado del GABA. Los dos antagonistas clásicos del GABA a partir de los cuales se caracterizaron los receptores la bicuculina (BI) y la picrotoxina (PX), parecen actuar en forma diferente

Los antagonistas de los receptores al GABA<sub>A</sub>, tales como a PX, BI y la estricina, son

agentes convulsivantes de gran potencia. El alcaloide convulsivante bicuculina, extraído de la especie *Cordyalis* bloquea las reacciones hiperpolarizantes de GABA y de la estimulación eléctrica de las células corticales. La molécula de BI contiene una porción similar a GABA, sugiriendo una interacción competitiva sobre los receptores GABA; otra droga convulsivante, la estricina no bloquea respuestas en los nervios inhibidores que parecen utilizar GABA como transmisor, ni tampoco la acción de GABA (Bowman & Rand, 1985)

Los primeros estudios despertaron algunas dudas a cerca de la utilidad de la BI como antagonista selectivo del GABA, debido a la inestabilidad de la BI a la temperatura (estable a los 37 grados centígrados) y a su bajo pH al cual es soluble (2.5) en comparación al pH fisiológico. Bajo condiciones fisiológicas normales, la BI es hidrolizada a bicucina, un antagonista del GABA relativamente inactivo con una vida media corta de algunos minutos. Las sales cuaternarias que se utilizan actualmente para la mayor parte de los experimentos electrofisiológicos (metil yoduro de bicuculina y metil cloruro de bicuculina), son mucho más hidrosolubles y estables en un amplio rango de pH que oscila de 2 a 8. Sin embargo debe observarse que estas sales cuaternarias no son adecuadas para la administración general debido a su mala penetración al SNC

Otros estudios con BI han demostrado que si bien resulta útil como antagonista, no es tan específico en su acción antagonista como se pensó primeramente. En algunos lugares bloquea las acciones inhibitoras de otros aminoácidos (por ejemplo: taurina y alanina), y a veces también bloquea la respuesta a la noradrenalina. Sin embargo, no está demostrado que estas sustancias sirvan como transmisores en lugares donde la BI bloquea la respuesta de GABA y a la estimulación nerviosa inhibitora.

La droga convulsivante PX bloquea algunas respuestas al GABA, que también son bloqueadas por la BI. La BI actúa como un antagonista competitivo directo de GABA a nivel de receptor, en tanto que la PX actúa como un antagonista no competitivo, debido a que pueda bloquear los ionóforos activados del GABA. La picrotoxina se obtiene de la semilla de *Anamirta* (coca de Levante) y es una mezcla equimolar de picrotina inactiva y picrotoxina activa (Bowman & Rand, 1985).

Estudios electrofisiológicos han demostrado que existe una gran variedad de compuestos

que son capaces de activar directamente a los receptores GABA sensibles a la BI. Estos agonistas se dividen basándose en la capacidad para penetrar la barrera hematoencefálica, por lo tanto, si son activos o no son, después de su administración general, por lo que ésta, es otra forma de clasificar a los receptores del GABA. Las drogas que no atraviesan barrera hematoencefálica, tales como el ácido 3-aminopropanosulfónico, el ácido beta-guanidinopropiónico, el ácido 4-aminotetróico y el ácido trans-3-aminociclopentano-r-carboxílico son agonistas que actúan directamente, sin embargo la acción de estos agentes a nivel cerebral, cuando son administrados sistémicamente es mínima, además la acción de componentes tales como el ácido trans-4-aminocrotónico que inhibe al GABA, no se le atribuye directamente las propiedades agonistas.

Las drogas que atraviesan la barrera hematoencefálica, tienen efectos a nivel cerebral cuando son administrados sistémicamente, entre ellos encontramos a varios agonistas como el muscimol (3-hidroxi-5-aminometilisoxasole), que es el agente de este grupo que ha sido más estudiado, algunos otros agentes de este grupo no tan estudiados son el 5-1-aminoetil-3isoxazole, y el THIP (un bicíclico análogo del muscimol) entre otros.

Otra clasificación de las drogas GABAérgicas esta basada en los componentes químicos que estimulan a los receptores GABA directamente o indirectamente, causando su activación por diferentes mecanismos. Por ejemplo agentes tales como el muscimol, isoguvacina, y THIP son verdaderos agentes miméticos de el GABA que actúan facilitando la transmisión GABAérgica interactuando directamente con receptores GABA. Indirectamente actúan como miméticos del GABA para facilitar la transmisión GABAérgica por incremento de la cantidad de GABA endógeno, los cuales alteran al receptor o de alguna manera alteran el acoplamiento del receptor GABA mediando los cambios en la permeabilidad del cloro. Tales drogas son clasificadas como agonistas GABA indirectos que actúan presinápticamente modificando la liberación del GABA y su metabolismo, mejor que interactuando directamente con receptores al GABA. Así muchos de los medicamentos clasificados como agonistas indirectos del GABA actúan presinápticamente y modifican la liberación del GABA y su metabolismo, más que interactuar con los receptores del GABA, tal es el caso del baclofen (BA), que además de muchas otras acciones causa la liberación del GABA de sus almacenes intracelulares (Cooper. et al., 1996).



Típicamente los receptores GABA<sub>A</sub> interactúan con el agonista muscimol y son inhibidos por el antagonista BI. Sin embargo desde hace mucho tiempo se piensa que en el SNC hay receptores GABA<sub>A</sub> de distintos tipos farmacológicos y funcionales, ya que los estudios electrofisiológicos han demostrado la existencia de receptores de GABA<sub>A</sub> insensibles a la BI, como el caso del baclofen.

Bruacato, Mott, Lewis y Swatzwelder (1995), estudiando el efecto del agonista GABA<sub>B</sub>, BA en girus dentado, dedujeron que la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> por BA puede regular la inhibición sináptica; la manipulación farmacológica GABA<sub>B</sub>, puede ser un poderoso regulador de la transmisión sináptica en el hipocampo, en donde se sabe que existen receptores colinérgicos. La acción del BA puede ser observada en una gran variedad de sinápsis y se observa la reducción de la liberación de transmisores tales como: noradrenalina, dopamina, acetilcolina, glutamato y aspartato (Misgeld, Bijar & Jarolimerk, 1995)

En un experimento que se llevó a cabo in vitro en cerebro de cobayo, por medio de electroestimulación, se aplicó BA en un rango de 1µM-3mM por periodos de 4 a 6 minutos y hubo un incremento de K<sub>v</sub>, que va proporcional a la concentración de BA, el efecto fue bloqueado por saclofen. A nivel intracerebral se demostró que en la hiperpolarización del potencial postsináptico inhibitorio en células piramidales del hipocampo, hay un incremento en la conductancia del cloro y sensibilidad a la bicuculina, por lo que su equilibrio se conoce que es mediado por GABA, en donde se encuentran implicados receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> (Obrocea, & Morris, 1998).

### 3.2.3. Características de los receptores GABA.

Enna y Bowery (1997), Kumamoto (1997) y Paredes y Agmo (1991), nos refieren según sus investigaciones a las características de los receptores GABA como sigue:

#### 3.2.3.1. Receptores GABA<sub>A</sub>.

Las proteínas de los receptores GABA<sub>A</sub>, han sido bien caracterizadas por su alta abundancia y el papel que juega en los circuitos neuronales. El receptor también ha sido

caracterizado en su papel como sitio de acción de muchas drogas neuroactivas tales como las benzodiazepinas y los barbitúricos, y recientemente se sugiere la interacción entre los receptores GABA<sub>A</sub> y anestésicos esteroides, anestésicos volátiles y alcohol.

Como se ha mencionado el GABA es el principal neurotransmisor de tipo inhibitorio, y es esencial para el equilibrio entre las funciones neuronales de excitación y e inhibición, estudios específicos de electrofisiología, inmunohistoquímica y genéticos han revelado la existencia de subtipos de los receptores ya conocidos.

Basándose en una secuencia homóloga de la primera subunidad de GABA<sub>A</sub> de cadenas de ADN, pudieron ser clonadas otras subunidades. A la fecha se han clonado 17 subunidades. La combinación de subunidades homólogas forman tres clases:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , en mayor abundancia y otros dos tipos  $\sigma$  y  $\rho$  que han sido identificados en ciertos tipos de neuronas. Cada subunidad en el cerebro esta expresada independientemente en varias isoformas; se han reconocido seis subunidades  $\alpha$  ( $\alpha 1$  -  $\alpha 6$ ), cuatro subunidades  $\beta$  ( $\beta 1$  -  $\beta 4$ ) y cuatro subunidades  $\gamma$  ( $\gamma 1$  -  $\gamma 4$ ), una subunidad  $\sigma$  y dos subunidades  $\rho$  (Möhler, Benke, Benson, Lüscher, Rudolph & Fritschy, 1997).

Los receptores GABA<sub>A</sub> por analogía con los receptores colinérgicos nicotínicos, pueden ser proteínas pentaméricas en las cuales las subunidades ensamblan juntas en un poro central del canal del ion, todas las subunidades no pueden ser parte de un singular complejo receptor GABA<sub>A</sub>, por lo que hay múltiples subtipos de receptores GABA<sub>A</sub> en el cerebro. La diferencia anatómica de la distribución de las subunidades y las diferencias en el curso del tiempo que han desarrollado expresiones de genes, sugiere que cada subunidad es importante entre las diferentes funciones de los subtipos de receptores

#### 3.2.3.1.1. Agonistas GABA<sub>A</sub>

Las propiedades de los receptores recombinantes de GABA varían mucho por la combinación de subtipos de subunidades, por lo que actúan con diferentes eficiencias, por ejemplo cuando se expresan en fibroblastos  $\alpha 1\beta 1$  producen una insensibilidad de las benzodiazepinas a los canales de los receptores GABA<sub>A</sub>, sin embargo al combinarse  $\alpha 1$  y 2 ó  $\beta 1$  y 2, esta propiedad no se presenta

El muscimol activa el canal de Cl más efectivamente. Los valores de coeficientes efectivos ( $C_e$  = concentración efectiva de agonista para producir la respuesta media-máxima), de GABA, que usualmente están entre 1 y 2, indican que las dos últimas moléculas de GABA están pegadas a los receptores para abrir un canal; el muscimol activa el canal 3 veces más efectivamente comparado con GABA. Tomando en cuenta el  $C_e$  del agonista que produce la respuesta media máxima para el GABA y muscimol, en cultivos de neuronas supraquiasmáticas de rata, se encontró que el muscimol es tres veces más efectivo que el GABA, ya que la concentración efectiva de GABA fue de 5.3  $\mu$ M, mientras que para el muscimol fue de 1.6  $\mu$ M, y en recombinantes  $-\alpha 1/-\beta 2/\gamma 2$  en *Xenopus oocytes* fue de 45.8 para GABA y de 14.3  $\mu$ M para muscimol. Se piensa que los agonistas pueden pegarse a las subunidades beta constituyendo los canales, sin embargo cada uno de estas subunidades beta -1, -2 y -3 por sí mismas no responden al GABA, mientras que las subunidades alfa están involucradas a su activación afectando la afinidad de ellas. La diferencia entre los valores efectivos entre GABA natural y los canales de receptores GABA se puede atribuir particularmente a la distinción de subunidades alfa que constituyen al receptor.

### 3.2.3.1.2. Antagonistas GABAa

Específicamente los antagonistas son herramientas esenciales para el estudio fisiológico y farmacológico de los receptores GABA, los antagonistas clásicos BI y PX juegan un papel muy importante en esos estudios.

La actividad de los agonistas de GABA es atenuada competitivamente por la BI, y la PX bloqueando los ionóforos activados de GABA; no obstante la PX es una mezcla equimolar de picrotin y picrotoxina, de las cuales la última es efectiva como antagonista GABA. La afinidad por cualquiera, parece ser similar entre los receptores GABAa en hipocampo de rata. Esto es consistente, ya que no hay una gran diferencia entre la recombinación de la composición de los canales respecto a la variación de la combinación de las subunidades alfa con una constante beta y una subunidad gamma. La acción de la PX depende del sitio, que podría ser expuesto por alteraciones conformacionales de los receptores GABAa, por acoplamiento de GABA, de tal

modo que la PX puede actuar como un bloqueador en canales abiertos o puede deprimir la función alostérica de los canales receptores de GABA<sub>A</sub>

En años recientes, se han desarrollado nuevas clases de antagonistas GABA<sub>A</sub> que son de gran interés como agentes potencialmente terapéuticos en diferentes tratamientos. El compuesto bicíclico 5 - isoxazolol, iso - IHAZ, derivado del THIP es un antagonista moderadamente potente, pero un derivado de arilaminopiridazina análogo a GABA<sub>A</sub>, la gabazina, muestra un efecto potente y selectivo. Los autoreceptores GABA<sub>A</sub> son básicamente receptores GABA<sub>A</sub> y ellos pueden marcar diferentes características farmacológicas para los receptores postsinápticos GABA<sub>A</sub>. Los autoreceptores selectivos GABA<sub>A</sub> pueden funcionar como moduladores positivos de los procesos de neurotransmisión del GABA.

### 3.2.3.1.3. Neuromoduladores GABA<sub>A</sub>

Existe otro grupo de fármacos cuya acción hace que la corriente inducida de GABA sea potenciada en amplitud, como son: el sodio5-etil-5(1-metil-butil) y el barbitúrico pentobarbital (anestésico); la acción del pentobarbital proporciona un incremento de la afinidad por GABA. Por otro lado, la corriente inducida de GABA también es aumentada en amplitud por otros anestésicos estructuralmente diferentes a los barbitúricos; el alquilfenol (propofol) en una concentración de 5  $\mu$ M decrementó la  $C_e$  de GABA en un 66% en neurónas piramidales de hipocampo en rata, mientras que en altas concentraciones el pentobarbital, propofol y alfaxalona, activan directamente a los canales receptores de GABA en ausencia de GABA. Esto sugiere dos acciones de interacción con los canales del receptor GABA: primero, proporcionan una potenciación a los antagonistas y segundo, hay una activación directa de los canales receptores de GABA<sub>A</sub>. Esta acción ha sido observada también por recombinación de los canales de receptores GABA<sub>A</sub>: con respecto al propofol, cada una de estas dos acciones parece ser causada por alteración en un sitio distinto, porque la acción del sitio 1 no fue influenciada por la composición de las subunidades del receptor, mientras que la acción del sitio 2, fue dependiente en expresión de la subunidad beta. Esto parece ser validado también por la acción del pentobarbital; los antagonistas GABA accionan a los canales  $\alpha$  4- $\beta$  1- $\gamma$  2s, que fueron potenciados por

pentobarbital, por otro lado la inclusión de la subunidad épsilon con otra  $\alpha 2 \beta$  ó  $\alpha 1 \beta-3$  en combinación bloquean la acción, mientras el propofol la retiene. La acción en los canales naturales de GABA y en recombinación fue distinta en su sensibilidad a la BI, de tal manera que las combinaciones de las subunidades alfa, beta y gamma no son suficientemente miméticas de los canales naturales de GABA.

Las benzodiazepinas (excepto los agonistas inversos), en general modulan positivamente los canales de los receptores GABA<sub>A</sub>, sin embargo esta acción es variable en su eficacia entre los canales y diferentes tipos de neuronas (Kumamoto, 1997).

### 3.2.3.2. Receptores GABA<sub>B</sub>

Los receptores GABA<sub>B</sub> fueron solubilizados a partir de fracciones sinaptosómicas de la corteza cerebral de bovino. El aislamiento y purificación de los receptores GABA<sub>B</sub> reveló que son una población homogénea de proteínas. Estructuralmente hay una marcada diferencia respecto a la estructura de los receptores GABA<sub>A</sub>. Varios investigadores definen a los receptores GABA<sub>B</sub> con base a la insensibilidad a la BI y su respuesta al baclofen (BA), considerado como el agonista prototipo GABA<sub>B</sub>. El BA induce una hiperpolarización e incrementa la conductancia en la membrana, mediando esta acción a través de las proteínas G. Los receptores GABA<sub>B</sub> están acoplados a cualquier canal de Calcio ó de potasio vía proteína G y a un sistema de segundos mensajeros. Los receptores GABA<sub>B</sub> existen en las neuronas en sus partes post y presinápticas, y como resultado de su activación se presenta primero, un decremento en la liberación del neurotransmisor desde las terminales nerviosas, las cuales pueden ser inducidas por un decremento en la conductancia del Ca y/o en un incremento en la conductancia del K; segundo, una hiperpolarización de la membrana causada por un incremento en la conductancia del K. Estudios electrofisiológicos para el estudio de los receptores GABA<sub>B</sub> post y presinápticos indican que existen diferencias entre estos receptores (Paredes y Agmo, 1991).

### 3.2.3.2.1. Receptores postsinápticos

Existen evidencias claras de la presencia de receptores GABA<sub>B</sub> en terminales inhibitorias y excitatorias. La acción del baclofen se ha estudiado ampliamente en neuronas CA3 del hipocampo y el giro dentado, observando una gran cantidad de acciones en el potencial de membrana y en potenciales postsinápticos tanto excitatorios como inhibitorios.

El BA produce una transformación en la corriente de K en células CA1 de hipocampo y neuronas piramidales CA3 en rata, con un valor de  $C_e$  para BA de 3  $\mu\text{M}$  y para la actividad de GABA en receptor GABA<sub>B</sub> (estimado en presencia de 100  $\mu\text{M}$  de PX) de 1.6  $\mu\text{M}$ . La respuesta del BA fue inhibida en amplitud por un análogo fosfónico (beta-(*p*-clorofenil)-3-aminopropiol-fosfonato) saclofen, éste decrementó al 70% su actividad con una concentración de 300 a 500  $\mu\text{M}$ , y con un análogo sulfónico del baclofen (3-amino-2(4-clorofenil)-propilensulfonato, saclofen lo bloqueó completamente a 500  $\mu\text{M}$ , por bario a 1 mM y por cesio a 246  $\mu\text{M}$ . En neuronas piramidales CA3 en hipocampo incubadas con toxina pertussis (PTX) (500 ng/ml por 48 hr), el BA fue inefectivo indicando una relación con proteínas G sensibles a la toxina PTX (Kamumoto, 1997). Por otro lado, la respuesta del BA después de que ha sido bloqueada la transmisión sináptica por cadmio o tetrodotoxina (TTX), determinó que la respuesta es mediada postsinápticamente y no por la corriente del calcio y potasio. Los efectos del BA son similares a la respuesta de GABA en presencia de BI y a un potencial postsináptico inhibitorio.

Este efecto del BA induciendo hiperpolarización y un incremento en la conductancia ha sido descrito en muchas áreas del SNC, incluyendo el núcleo supraquiasmático, el núcleo accumbens, neuronas parabraquiales laterales, y sustancia negra entre otros; sin embargo no se han detectado efectos postsinápticos en el neocórtex, ya que no hay una clara evidencia de la presencia de receptores GABA<sub>B</sub> en las terminales excitatorias o inhibitorias (Deisz, 1997).

### 3.2.3.2.2. Receptores presinápticos.

Como se mencionó estudios electrofisiológicos indican que los receptores GABA<sub>B</sub> están presentes en terminales presinápticas y sitios postsinápticos. En los sitios presinápticos la activación del receptor GABA<sub>B</sub> suprime la liberación evocada del neurotransmisor, mientras que

en los sitios postsinápticos ocurre una hiperpolarización, esto sugiere que los receptores pueden ser distintos en ambas localizaciones, sin embargo también se presenta la posibilidad de que los tipos de canales de potasio a los cuales el receptor es acoplado en sitios pre y postsinápticos, probablemente sean diferentes, pero esto no necesariamente implica que sean diferentes tipos de receptores.

En sitios presinápticos a la acción del BA es resistente a los efectos de la toxina PTX y no es antagonizada por flaclofen, sin embargo esta posibilidad ha sido negada por las observaciones de Potier y Dutar (1993, citado por Enna & Bowery, 1997), quienes han demostrado que el mecanismo inhibitorio de los receptores GABA<sub>b</sub> presinápticos puede ser suprimido por PTX mientras que la depresión de la transmisión excitatoria no se afecta. Bowery (1997), aclara que mientras no se defina la verdadera estructura de los receptores pre y postsinápticos, la incógnita de si hay diferentes tipos de receptores GABA<sub>b</sub> seguirá persistiendo

### 3.2.3.3. Receptores GABA<sub>c</sub>

Estudios farmacológicos y conductuales han sugerido la existencia de receptores GABA diferentes a los receptores GABA<sub>a</sub> y GABA<sub>b</sub>. Se han encontrado diferentes análogos de GABA que tienen acciones depresoras en neuronas del SNC. Este tipo de receptores está asociado a los canales de Cl cuya activación es inhibida por PX ó Zinc (Zn), sin embargo los receptores GABA<sub>c</sub> son insensibles a la BI y a los moduladores GABA<sub>a</sub> (barbitúricos, benzodiazepinas y neuroesteroides). Estos canales de receptores GABA<sub>c</sub>, aparentan estar compuestos por subunidades rho 1, 2 y 3 y se han identificado en rata y en humanos en proporciones del 63 y 61 por ciento en subunidades rho1 y rho 2, respectivamente. Cuando se comparan las subunidades con las de los receptores GABA<sub>a</sub>, las subunidades rho 1 y rho 2 en humanos (de los cuales se han identificado 74 por ciento de sus aminoácidos), tienen una similitud de secuencia de aminoácidos del 30 al 38 por ciento. Por otro lado la combinación rho 1/rho 2 exhiben menos sensibilidad a la PX comparada a los canales rho 1, indicando que la presencia de la subunidad rho 2 es el que opone la resistencia a estos canales.

### 3.2.4. Efecto de GABA en la Conducta

El GABA esta involucrado en la modulación de diferentes conductas. Los mecanismos de inactivación del GABA parecen ser comunes en neuronas dentro del SNC y en el sistema nervioso periférico, dichos mecanismos son similares en los dos sistemas, por ejemplo hay evidencias que agentes GABAérgicos modifican la actividad intestinal directamente a través del sistema nervioso entérico, concretamente se ha reportado que el muscimol inhibe la movilidad intestinal cuando es administrado sistémicamente, pero cuando se administra en los ventrículos cerebrales esta acción no se lleva a cabo. El efecto periférico del agonista GABAa puede ser importante para la conducta alimentaria. Se han estudiado efectos del GABA en el sistema reproductivo femenino, en la liberación de catecolaminas de la glándula adrenal, en la glándula pituitaria, en la termorregulación, en las funciones motoras entre otras. Concretamente en las conductas sexuales tanto masculinas como femeninas; incrementando el GABA en hipotálamo por medio de la administración sistémica de valproato de sodio se inhibe la conducta estral en ratas intactas cuando la droga es administrada al término del proestro. Una inhibición similar de la conducta de lordosis ha sido observada después de la administración sistémica de BA, mientras que la conducta no se inhibió cuando se administró el agonista GABAa ácido 3-aminopropansulfónico. Una microinyección de GABA, así como de muscimol en el hipotálamo ventromedial facilita la conducta de lordosis. Respecto a los efectos de GABA en la conducta sexual masculina se ha encontrado que las concentraciones de GABA en el fluido cerebrospinal incrementa significativamente la conducta que se presenta después de la eyaculación, en contraste la infusión de BI o PX en el área media preóptica reduce las latencias de eyaculación, la intromisión y los intervalos posteyaculatorios. En cuanto a los efectos de GABA en la ansiedad, se ha evaluado las posibles acciones ansiolíticas de los agonistas GABA y la capacidad de los antagonistas GABA de bloquear las acciones de las benzodiazepinas (Kumamoto, 1997)

Específicamente Paredes y Agmo (1991) se refieren al posible papel que juega el GABA en el aprendizaje y la memoria, y dan a conocer una serie de trabajos de diferentes autores que han evaluado efectos de los antagonistas GABAa PX y BI administrados en dosis subconvulsivas, mejorando la retención en tareas de evitación pasiva, evitación activa y



aprendizaje en laberinto En estos estudios las drogas fueron administradas post-entrenamiento, sugiriendo que los antagonistas GABA pueden modular los procesos de almacenamiento en la memoria, en contraste se ha encontrado en otros trabajos que las mismas drogas producen amnesia en pruebas de evitación pasiva, estas diferencias se atribuyen a la intensidad del choque o las dosis utilizadas. El efecto de GABA en el aprendizaje y memoria es el tema a resaltar en el siguiente capítulo.

#### 4. ANTECEDENTES

Las investigaciones sobre el papel de los neurotransmisores en el proceso de almacenamiento de la memoria, llevaron a estudiar los efectos que diversos tratamientos experimentales pueden tener sobre la modulación de la retención. Las investigaciones han incrementado su atención en el papel que juegan las hormonas y los sistemas de neurotransmisión regulando el almacenamiento de la memoria, que han dado importantes bases para examinar no únicamente el efecto de éstos (hormonas y neurotransmisores) en la memoria, sino también para estudiar las relaciones entre las respuestas neuroendocrinas a tratamientos farmacológicos y conductuales, los cambios a nivel neural después de las experiencias y los mecanismos por los cuales actúan estos sistemas (Gold, 1989). Por medio de la administración de hormonas y agonistas o antagonistas de los neurotransmisores antes o después de una experiencia de aprendizaje podemos inferir que tanto se consolidó, almacenó, o se retuvo en función de la ejecución de los sujetos (midiendo la retención).

La enfermedad de Alzheimer esta acompañada por una disminución de la actividad del sistema colinérgico, pero también se encuentran bajo los niveles de los sistemas noradrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos y GABAérgicos. En el sistema colinérgico hay una marcada reducción de células en el sistema cerebral basal incluyendo los núcleos basales de Meynert, el septum, la corteza y el hipocampo. Numerosos estudios indican que la liberación de la acetilcolina está involucrada en el almacenaje de la memoria y reportan que la retención se mejora con la administración sistémica post-entrenamiento de los agonistas muscarínicos colinérgicos, sin embargo los efectos de los antagonistas colinérgicos son menos consistentes que los de agonistas y los inhibidores de la colinesterasa (Brioni, 1993; Decker & McGaugh, 1991).

Así, diversos estudios demuestran que al administrar E el aprendizaje se dificulta, como lo refieren Magnani, Pozzi, Biagetti y Dorigotti (1992), en sus experimentos administrando a ratones 0.2 mg de E encuentran deterioro en el aprendizaje en sujetos sometidos a un entrenamiento en un laberinto, y encuentran evidencias que este aprendizaje depende de la integridad del sistema colinérgico hipocampal.

Prado-Alcalá y Cobos-Zapiáin (1977), demostraron que la administración de atropina (bloqueador colinérgico) en el núcleo caudado de gatos disminuyó el número de respuestas de presión de palanca, cuando los sujetos recibieron 15 sesiones de entrenamiento, pero no hubo efecto en los sujetos entrenados con 30 sesiones. Posteriormente se observó que el bloqueo generalizado intracaudal inducido con cloruro de potasio (KCl), produjo un deterioro en la ejecución de la tarea dependiente de la historia conductual del sujeto, es decir se encontró una deficiencia en la ejecución de los sujetos que recibieron un menor número de sesiones comparados con los sujetos que recibieron más sesiones, por lo que el efecto no solamente dependía de la droga sino también de la historia conductual (Prado-Alcalá & Cobos-Zapiáin, 1979)

Por otro lado se investigó la administración de atropina en el núcleo caudado anterior ó posterior en grupos de ratas que fueron entrenadas en un solo ensayo en evitación pasiva, y probada la retención 24 y 48 horas más tarde, únicamente las ratas inyectadas en la región dorsal o anterior, mostraron un deterioro en la retención de la prueba de evitación pasiva, mientras que en ratas sometidas a una tarea en evitación activa y administradas con atropina en la región ventral no hubo efectos, concluyendo que la actividad colinérgica del núcleo caudado anterior esta críticamente involucrado en el proceso de la consolidación de la memoria en tareas de evitación pasiva, mientras que la actividad colinérgica de la parte posterior del núcleo caudado, no parece intervenir en este proceso. El efecto que esta interfiriendo con la actividad colinérgica y en núcleo caudado es dependiente del paradigma conductual utilizado (Prado-Alcalá, Cruz-Morales & López-Miro, 1980)

Dudchenko y Sarter (1991) refieren que estudios anatómicos han demostrado que las neuronas colinérgicas del pálido ventral reciben ácido glutámico descarboxilasa (GAD) y son innervadas por proyecciones aferentes GABAérgicas, además se sugiere que la mayoría de estas proyecciones GABAérgicas se originan en el núcleo acumbens. Asimismo numerosos experimentos han demostrado que la administración sistémica o intracerebral de agonistas GABA y benzodiazepínicos producen un decremento en la liberación de la ACh cortical. La relación entre los neurotransmisores ACh y GABA se ha ido definiendo a nivel fisiológico, sin embargo

los estudios respecto a esta relación y sus efectos en la conducta son inconsistentes. Los investigadores estudiaron esta relación, observando el efecto de la administración intracerebral del muscimol, agonista GABA<sub>A</sub>, en las neuronas GABAérgicas que inervan al cerebro medio y una co-administración sistémica de un inhibidor de la colinesterasa, en una prueba de discriminación visual condicionada en ratas. Después de la prueba se administró bilateral e intracerebralmente muscimol (0, 25 ó 50 ng/0.5 µl/hemisferio) en sustancia inonimata. Los resultados reportaron un decremento de respuestas correctas dependiendo de la dosis, pero la co-administración de un inhibidor de colinesterasa, fisostigmina (0, 0.1 ó 0.2 mg/kg i.p.) atenuaron los efectos del muscimol, obteniéndose mayor número de respuestas correctas, concluyendo que sus datos apoyan la hipótesis acerca de la relación de los neurotransmisores GABA-ACh en memoria y que esta relación puede beneficiar a efectos conductuales.

Se han realizado estudios en diferentes animales y revelan que la retención de la memoria en una prueba de aprendizaje de evitación pasiva puede ser modulada por el sistema GABAérgico, tal como lo demuestran Clements y Bourne (1996). Estos investigadores reportan en un modelo animal con aves (pollos) que el agonista muscimol produjo amnesia aplicando el muscimol 30 minutos antes y 10 minutos después del entrenamiento, mientras que la BI aplicada 30 minutos antes mejoró la retención.

También a pollos de un día de nacidos se les administró intracerebralmente sulfoximina metionina, un inhibidor específico de la enzima glutamina sintetasa, la droga administrada entre 5 y 20 minutos antes del entrenamiento, produjo amnesia, este efecto se atribuyó a que es un bloqueador de la producción de glutamina vía ciclo glutamato-glutamina (Gibbs, O'Dowd, Hertz, Sedman & Ng, 1996).

Swartzwelder, Tilton, McLamb y Wilson (1987), en un experimento realizado en ratas entrenadas en evitación inhibitoria (0.3 mA) la administración vía intraperitoneal (i.p.) de BA (5 – 10 mg/kg), produjo déficit en la retención cuando el BA fue administrado 10 min después del entrenamiento y no tuvo efecto cuando se administró a los 60 min; estos resultados sugieren que el BA actúa en la consolidación de la memoria y que ésta tiene un periodo de tiempo corto.

Un estudio en ratones investigando el efecto de la administración sistémica, de PX (0.1,

0.3, 1.0 ó 3.0 mg/kg, i.p.) y de BI (0.1, 0.3, 1.0 ó 3.0 mg/kg, i.p.) después de un entrenamiento de una tarea de discriminación en laberinto y en evitación inhibitoria o pasiva, indicaron que los antagonistas de GABA produjeron facilitación de la memoria en las dos tareas y que este efecto fue dependiente de la dosis (Brioni & McGaugh, 1988).

En otro estudio, McGaugh (1989b) administró a ratones inmediatamente después, ó 120 minutos después del entrenamiento, PX (0.25, 0.50 ó 1.0 mg/kg, i.p.) Los resultados indicaron que la PX tuvo efecto mejorando la retención dependiendo de la dosis en los sujetos inyectados inmediatamente después del entrenamiento, mientras que en los inyectados 120 minutos después, no hubo efecto. Se encontró que la inyección post-entrenamiento inmediata de PX, produce un efecto dependiente de la dosis y dependiente del tiempo.

Nabeshima, Noda y Kameyama (1988), investigaron los efectos de antagonistas GABAérgicos de PX (1.5 ó 3.0 mg/kg), BI (1.0 ó 1.5 mg/kg), un inhibidor de la síntesis de GABA, ácido 3-mercaptopropiónico (3-MP) (30 ó 45 mg/kg) y de los agonistas BA (6.0 y 12.0 mg/kg), muscimol (1.0 y 2.0 mg/kg) y ácido aminooxocético (10, 15 ó 25 mg/kg) (todas las drogas administradas i.p.), en ratones sometidos a una tarea de evitación pasiva (1 Hz, 500 ms, 60 V CD) ó de supresión condicionada. Los resultados mostraron que tanto la PX, BI y el 3-MP tienen un efecto de deterioro en la retención de ambas pruebas, sin embargo cuando son administradas con alguno de los agonistas mencionados las latencias de retención tienden a recuperarse dependiendo de la dosis, específicamente el BA atenúa los efectos de la PX pero no los de la BI. Estos investigadores concluyen que el sistema neuronal GABAérgico está involucrado en los procesos de consolidación de la memoria.

En otro estudio, Ammassari-Ieule, Pavone, Castellano & McGaugh, (1991) examinaron los efectos post-entrenamiento de la administración sistémica del agonista GABAérgico muscimol y el antagonista GABAérgico BI en ratones con lesiones bilaterales en amígdala, hipocampo dorsal ó núcleo caudado y sometidos a una tarea de evitación pasiva (0.7 mA), los ratones fueron sometidos a un solo ensayo, e inmediatamente después del entrenamiento cada grupo recibió una inyección intraperitoneal de muscimol (1.0, 2.0 ó 3.0 mg/kg, i.p.), BI (0.25, 0.5 ó 1.0 mg/kg, i.p.) ó del vehículo. La retención fue probada 24 horas después del entrenamiento.

Los resultados indicaron para los grupos controles y muscimol un deterioro en la retención y para la BI facilitación en la retención, en todos los casos los resultados obtenidos fueron dependientes de la dosis. Los efectos de las drogas en la retención fueron bloqueados cuando los ratones estaban lesionados en amígdala ó en hipocampo, pero no fueron bloqueados por las lesiones en núcleo caudado. Los autores sugieren que la amígdala y el hipocampo están involucrados en el proceso de almacenamiento de la memoria y que GABA puede modular el proceso de consolidación de la memoria.

Castellano, Cestari, Cabib y Puglisi-Allegra (1993), realizaron un experimento en donde demuestran que los efectos de agonistas y antagonistas GABAérgicos no son los mismos cuando se administran en diferentes cepas de ratones. A grupos de ratones de dos cepas diferentes (C57 y DBA) sometidos a una tarea de evitación pasiva (0.02 a 0.12 mA), se les administró i.p, inmediatamente después del entrenamiento ó 120 minutos después, una de las siguientes drogas (con una sola dosis): muscimol (0.5 ó 1.2 mg/kg), BA ( 5, 10 ó 20 mg/kg), PX (0.25, 0.5 ó 1 mg/kg), BI (0.1, 0.25 ó 0.5 mg/kg) ó CGP 35348 (100, 200 ó 300 mg/kg) Los resultados indicaron que los receptores GABA juegan un papel opuesto en las dos cepas, en el proceso de consolidación de la memoria. Mientras que los agonistas deterioran la retención en la cepa C57, la mejoran en la cepa DBA; lo mismo sucede con las otras drogas. Las drogas tuvieron efecto en los ratones de ambas cepas administrados inmediatamente después del entrenamiento y no se encontró efecto en los que se les administró la droga después de 120 minutos. El hecho de que en las cepas se obtengan resultados opuestos, indican los investigadores tentativamente, que se debe a que los receptores GABA están distribuidos de manera diferente en áreas discretas en el cerebro de las dos cepas. Comparando con la cepa DBA, en la cepa C57, se muestra una alta concentración de GABA en la amígdala, el núcleo raquídeo y en el hipocampo, mientras que en el tubérculo olfatorio y en la corteza frontal se observan bajas concentraciones. Otra conclusión de su trabajo es que la consolidación de la memoria puede ser afectada por los agonistas y antagonistas GABAérgicos. Los resultados de los experimentos antes mencionados son discutidos generalmente por sus autores refiriéndose a procesos fisiológicos, pocos explican sus resultados refiriéndose a otro tipo de variables que también pueden modificar el efecto de las

drogas y, por lo tanto pueden resultar herramientas útiles para entender las interacciones droga-conducta. Entre estas variables se considera a la tasa de respuestas, las consecuencias conductuales, o el tipo de evento que mantiene la conducta, el contexto ambiental, la intensidad de los estímulos, la historia farmacológica, la historia conductual etc (Barret, 1985, citado por Cruz-Morales & Prado Alcalá, 1990)

Bammer (1982) propone que son varios los factores que pueden interferir en los procesos de aprendizaje y memoria, éstos pueden incluir desde el crecimiento, fatiga, nutrición y cambios en la situación de estímulos, percepción o motivación, tales consideraciones son particularmente relevantes para interpretar el efecto de las drogas sobre el aprendizaje y la memoria. Por otro lado menciona que una de las principales tareas conductuales que se utiliza para estudiar estos temas es la prueba de evitación pasiva ya comentada anteriormente. Uno de los puntos en el que el autor hace énfasis es en el efecto de las drogas ante la intensidad de choque, donde menciona que es importante tomar en cuenta desde las condiciones del piso en donde se administra el choque, si esta mojado al sujeto le corresponderá un choque mayor del previsto, además propone que la droga utilizada puede sensibilizar al sujeto al choque o inclusive la droga puede inducir a alteraciones en la respuesta de la evitación pasiva; hay la necesidad de realizar un mayor número de estudios sobre la intensidad de choque ante el efecto de la droga, para poder dar una interpretación cierta de ésta ante el aprendizaje y la memoria

Durán-Arévalo, Cruz-Morales y Prado-Alcalá en 1990, realizaron un trabajo en donde se administra E a sujetos entrenados en una tarea de evitación pasiva con intensidades de choque alta (3.0, 6.0 y 9.0 mA) y observan que no se presenta el efecto amnésico esperado por la E. Posteriormente Cruz-Morales (1992) estudia la participación del sistema colinérgico sobre el mantenimiento de una respuesta de evitación pasiva en ratas, así como la interacción de este sistema con el sistema GABAérgico ante la manipulación de la intensidad del estímulo nociceptivo. En un experimento administró E 8 mg/kg, i.p., sometiendo a los grupos a una intensidad de 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 ó 3.0 mA, encontrando amnesia cuando los grupos fueron sometidos a 2.5, 2.6 y 2.7 mA, concluyendo que el efecto es dependiente de la intensidad del estímulo nociceptivo y que es un efecto del tipo "todo o nada", y explica que dependiendo de las

intensidades del estímulo existen modificaciones en el sistema colinérgico que a su vez puede traer como consecuencia que otro sistema neuroquímico se dispare. En otros experimentos los sujetos fueron sometidos a intensidades de 2.5 ó 3.0 mA administrando diferentes dosis vía i.p. de PX (0.007, 0.015, 0.062, 0.5, 1.0 ó 2.0 mg/kg), de BI (0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, ó 6.0 mg/kg) ó de BA (0.156, 0.375, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 y 20 mg/kg), resultando que la PX y la BI producen una aparente facilitación dependiendo de la dosis mientras que el BA no reporta efecto. La PX revirtió el efecto de la amnesia causada por la E en las dos intensidades cuando son administrados juntos, en tanto que la BI, en dosis de 1.0 mg/kg, i.p., administrada junto con la E no tuvo efecto al igual que el BA (1.25 mg/kg, i.p.) administrado con la E.

Quirarte, Cruz-Morales, Díaz Del Guante, García y Prado-Alcalá (1993), entrenaron sujetos en una tarea de evitación pasiva con intensidades de choque en intervalos de 0 a 1.0 mA, con incrementos de 0.1 mA, y con administración sistémica de E. En las intensidades menores a 0.7 no se presentó amnesia, sin embargo en las intensidades de 0.7 y 0.8 se observó amnesia, es decir la E mostró el efecto esperado, pero en las intensidades mayores a 0.8 (0.9 y 1.0 mA) la E no tuvo efecto amnésico. Los autores proponen un efecto protector amnésico de la E en intensidades menores de 0.7 y 0.8 mA; es decir que con bajo reforzamiento se obtiene un efecto protector contra la amnesia, en una tarea de evitación pasiva.

Trabajos posteriores de Cobos-Zapíaín y colaboradores (1996), muestran que la inyección intracerebral en ratas en sustancia nigra de PX (0.25 ó 0.5  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}/30\text{s}$ ) ó BI (0.5 ó 1.0  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}/30\text{s}$ ) administrado 15 minutos después de una prueba de evitación pasiva (0.2 ó 0.4 mA), únicamente tienen efectos en la retención las dosis más altas de ambos antagonistas indicando amnesia en los sujetos entrenados a una intensidad de 0.2 mA. los investigadores concluyen que la administración de PX y BI en sustancia nigra no impide la consolidación de la memoria en una prueba de evitación pasiva cuando la intensidad de choque es relativamente alta, y explican la amnesia producida en la intensidad de 0.2 mA basándose en la hipótesis de Prado-Alcalá (1995), en la que se propone que durante el aprendizaje mediado por bajos niveles de reforzamiento, o bajo número de ensayos, la actividad de cierto número de estructuras cerebrales es requerida para la consolidación de la memoria; estas estructuras pueden ser funcionalmente conectadas en serie;



en condiciones cuando se mejora el aprendizaje de una experiencia, estas estructuras podrían sufrir un reordenamiento funcional viniendo a conectarse en paralelo, la alteración de cualquiera de estas estructuras no necesariamente daría como resultado un déficit en la memoria porque la actividad que permanecería podría ser suficiente para que se almacenara la memoria (Cobos-Zapíaín, Salado-Castillo, Sánchez-Álvarez, Quirarte, Roldán-Roldán, Díaz Del Guante & Prado-Alcalá, 1996)

## 5 JUSTIFICACIÓN

Evidencias neurofisiológicas y bioquímicas sugieren la interacción entre los sistemas colinérgico y GABAérgico. La administración sistémica de antagonistas GABAérgicos como la PX y la BI incrementan el contenido de la acetilcolina en el cerebro, y numerosos trabajos reportan la participación de dichos sistemas en los procesos de la memoria.

El paradigma de evitación pasiva es uno de los modelos ideales para el estudio de la memoria (Bammer, 1982), por presentar la facilidad de obtener el aprendizaje en un solo ensayo. Muchas investigaciones han utilizado éste método para sus estudios, y muchas de ellas toman como objeto de estudio los procesos involucrados en la memoria y su relación con el sistema neuroquímico. De estos estudios, aunque encontramos controversias, la mayoría apoya que el antagonista colinérgico E, produce amnesia en una tarea de evitación pasiva; que los antagonistas GABAérgicos BI y PX con afinidad a los receptores GABA<sub>A</sub>, producen facilitación en el proceso de memoria y que el BA (agonista GABA<sub>B</sub>) produce amnesia; todos estos efectos dependen de la dosis y del tiempo de administración.

Las posibles explicaciones que se le dan a los resultados obtenidos bajo este paradigma, están encaminadas a respuestas farmacológicas y fisiológicas, como el tipo de fármaco empleado, las dosis, el régimen de administración, el sexo de los sujetos, temperatura, edad, fatiga etc. Sin embargo, estudios como los realizados por Cruz-Morales (1992), indican que existen otras variables que poco se consideran que puedan influir sobre el efecto de las drogas, tal como los diferentes tipos de programas de reforzamiento los cuales generan diferentes patrones y tasas de respuestas. El reforzador (positivo o negativo), aumenta la probabilidad de ocurrencia de

en condiciones cuando se mejora el aprendizaje de una experiencia, estas estructuras podrían sufrir un reordenamiento funcional viniendo a conectarse en paralelo, la alteración de cualquiera de estas estructuras no necesariamente daría como resultado un déficit en la memoria porque la actividad que permanecería podría ser suficiente para que se almacenara la memoria (Cobos-Zapíaín, Salado-Castillo, Sánchez-Álvarez, Quirarte, Roldán-Roldán, Díaz Del Guante & Prado-Alcalá, 1996)

## 5 JUSTIFICACIÓN

Evidencias neurofisiológicas y bioquímicas sugieren la interacción entre los sistemas colinérgico y GABAérgico. La administración sistémica de antagonistas GABAérgicos como la PX y la BI incrementan el contenido de la acetilcolina en el cerebro, y numerosos trabajos reportan la participación de dichos sistemas en los procesos de la memoria.

El paradigma de evitación pasiva es uno de los modelos ideales para el estudio de la memoria (Bammer, 1982), por presentar la facilidad de obtener el aprendizaje en un solo ensayo. Muchas investigaciones han utilizado éste método para sus estudios, y muchas de ellas toman como objeto de estudio los procesos involucrados en la memoria y su relación con el sistema neuroquímico. De estos estudios, aunque encontramos controversias, la mayoría apoya que el antagonista colinérgico E, produce amnesia en una tarea de evitación pasiva; que los antagonistas GABAérgicos BI y PX con afinidad a los receptores GABA<sub>A</sub>, producen facilitación en el proceso de memoria y que el BA (agonista GABA<sub>B</sub>) produce amnesia; todos estos efectos dependen de la dosis y del tiempo de administración.

Las posibles explicaciones que se le dan a los resultados obtenidos bajo este paradigma, están encaminadas a respuestas farmacológicas y fisiológicas, como el tipo de fármaco empleado, las dosis, el régimen de administración, el sexo de los sujetos, temperatura, edad, fatiga etc. Sin embargo, estudios como los realizados por Cruz-Morales (1992), indican que existen otras variables que poco se consideran que puedan influir sobre el efecto de las drogas, tal como los diferentes tipos de programas de reforzamiento los cuales generan diferentes patrones y tasas de respuestas. El reforzador (positivo o negativo), aumenta la probabilidad de ocurrencia de

una respuesta, sin embargo esta ocurrencia no depende de la naturaleza intrínseca del estímulo, es decir la presentación de un estímulo negativo con choque eléctrico no siempre aumentará la probabilidad de ocurrencia de dicha respuesta, esto dependerá entre otras cosas, del grado intensidad del choque, del programa bajo el cual se administre, de la frecuencia con la que se administre etc

Ante los resultados de los trabajos previos, tenemos que la magnitud o intensidad del estímulo influye en el efecto de las drogas, magnitud que influye sobre la adquisición y mantenimiento de las respuestas. Se ha demostrado que en condiciones de respuestas emocionales, la adquisición y la resistencia a la extinción varían en función de la intensidad del estímulo incondicionado y que la intensidad del estímulo también puede modificar o influir sobre los efectos de los fármacos (Glick & Goldfarb, 1976). Esto se pone de manifiesto en el trabajo de Cruz-Morales (1992), en donde el antagonista colinérgico E en ratas entrenadas en evitación pasiva con diferentes intensidades (2.5 a 3.0 mA), tiene efecto amnésico dependiente de la intensidad del estímulo nociceptivo y que este es un efecto del tipo "todo o nada".

Como se ha visto se tienen respuestas de agonistas y antagonistas GABA en sujetos sometidos a una tarea de evitación pasiva a diferentes intensidades, existe un rango de intensidades no estudiada que va de 1.0 mA a 2.5 mA, por lo que el interés de esta investigación fue valorar la influencia de este rango de intensidad del estímulo ante la administración de un agonista y dos antagonistas GABAérgicos, así como de la administración simultánea del agonista colinérgico con las drogas GABAérgicas.

El criterio de retención como en las investigaciones antecedentes, fue de 600 segundos, considerando que si el día de la prueba los sujetos no pasaban al compartimiento de choque se registraba como buena retención, mientras que si el sujeto pasaba a dicha sección en tiempos cercanos al día del entrenamiento, se consideraban retenciones bajas

Las dosis elegidas se basaron en la bibliografía citada y específicamente en los trabajos previos de Cruz-Morales (1992), en donde se investigan los efectos de las diferentes de las drogas involucradas en el presente trabajo.

Brioni y McGaugh (1988), proponen que de la intensidad del estímulo depende el

incremento de la retención en una prueba de evitación pasiva, por lo que las intensidades se eligieron de acuerdo a los trabajos de Cruz-Morales (1992) y Quirarte y cols. (1993). En esta investigación se le llamó bajo reforzamiento por el rango de intensidades trabajadas (1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mA). Dentro de éste rango la investigación considera intensidades bajas a 1.0 y 1.5 mA e intensidades altas cuando se trabaja con 2.0 y 2.5 mA.

Se sabe que el antagonista colinérgico escopolamina, al bloquear la liberación de la acetilcolina produce amnesia en sujetos sometidos a una tarea de evitación pasiva, mientras que los antagonistas GABAérgicos bicuculina y picrotoxina, al estimular la liberación de GABA (inhibidor), mejoran la retención en sujetos entrenados en la misma tarea, y la administración de baclofen (agonista GABA), producirá amnesia en sujetos entrenados en la misma condición. Al administrar simultáneamente las drogas GABAérgicos con la escopolamina se espera en el caso de los antagonistas GABA que los efectos amnésicos producidos por la escopolamina disminuyan o se reviertan obteniendo mayores retenciones, y en el caso del agonista baclofen se vea acentuada la amnesia producida por la escopolamina.

Se espera que la intensidad del estímulo tenga efectos amnésicos ante el antagonista colinérgico escopolamina dependiendo del incremento de la intensidad del estímulo, a mayor estímulo retenciones bajas (amnesia), igualmente se espera la respuesta de los agonistas y antagonistas GABAérgicos dependiendo de la intensidad del estímulo sea más efectiva la respuesta esperada a mayor intensidad de estímulo

## **6.OBJETIVOS**

### **6.1. OBJETIVOS GENERALES**

Evaluar el efecto de la administración sistémica de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre la amnesia inducida por la escopolamina en una tarea de evitación pasiva en condiciones de bajo reforzamiento a diferentes intensidades (1 0, 1.5, 2.0 y 2.5 mA).

### **6.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

Determinar el efecto de la administración sistémica de uno de los siguientes antagonistas GABAérgicos, BI (4.0 mg/kg), y PX (2.0 mg/kg), el agonista GABAérgico BA (2.0 mg/kg) y el antagonista colinérgico E (8.0 mg/kg) en sujetos sometidos a una prueba de evitación pasiva entrenados a diferentes intensidades de choque (1.0, 1.5, 2.0, ó 2.5 mA).

Determinar el efecto de los agonistas y antagonistas GABAérgicos, sobre la amnesia inducida por escopolamina, administrados sistémicamente coadministrados cada una droga de las drogas GABAérgica con la E, en una tarea de evitación pasiva entrenadas a diferentes intensidades

## 7. METODOLOGÍA GENERAL

7.1. **Sujetos:**- Se emplearon 440 ratas Wistar machos de 250 a 350 g de peso al inicio del experimento, alojados en jaulas individuales con comida y agua disponible, con 12 horas luz/oscuridad empezando a las 8 a.m., mantenidas en estas condiciones al menos dos días antes y durante el experimento. Los sujetos (Ss), se asignaron aleatoriamente a 44 grupos de 10 ratas cada uno

7.2. **Drogas:**- Escopolamina (E), bicuculina (BI), picrotoxina (PX) y baclofen (BA) todas de los laboratorios Sigma, Co. que fueron disueltas en solución salina isotónica (0.9%) comercial.

7.3. **Aparatos:** - Se utilizó una cámara de dos vías construida de acrílico y madera, dividida en dos compartimentos de iguales dimensiones. El compartimiento A o de seguridad, se iluminaba con un foco de color verde de 15 watts, y el piso de la cámara estaba formado por barras de acero inoxidable. El piso del compartimiento B, o de castigo consistió de dos placas de acero inoxidable conectadas a un generador de choque. Las placas se continuaban con las paredes del compartimiento, lo cual permitió que los sujetos hicieran contacto todo el tiempo y recibieran el choque eléctrico. Las latencias se registraron con un equipo Commodore 64 programado para tal efecto. La cámara de condicionamiento estuvo dispuesta dentro de un cuarto oscuro sonoro-amortiguado provisto de ruido blanco.

La siguiente figura ilustra la cámara de evitación, el lado A es el de seguridad y el B es el de choque

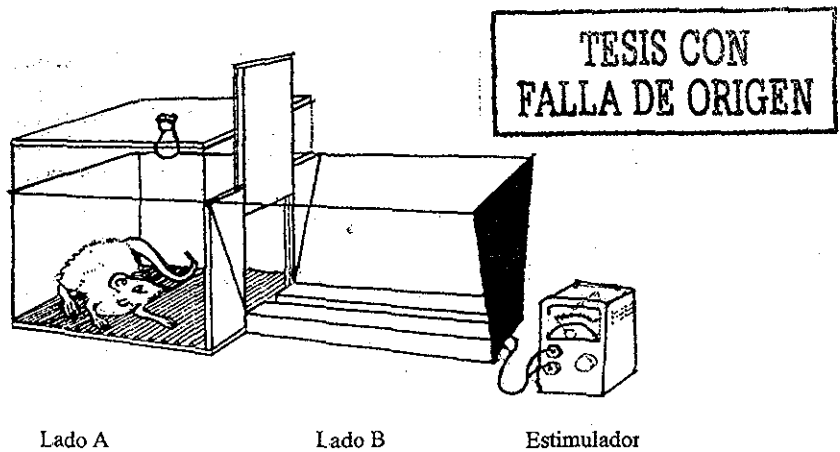


Figura 9. Cámara de condicionamiento de evitación pasiva El compartimiento de seguridad del lado iluminado.

#### 7.4. Entrenamiento

**Adquisición.** El primer día de entrenamiento cada sujeto se introdujo en el compartimiento A durante 10 segundos, transcurrido este tiempo se abrió la compuerta que daba acceso al compartimiento B, se medía el tiempo en que la rata tocaba con las cuatro patas el compartimiento B (latencia de adquisición), en ese momento se cerraba la compuerta y se administraba un choque por 5 segundos con una intensidad determinada (1.0, 1.5, 2.0 ó 2.5 mA). Al término del tiempo se abrió la compuerta y se cuantificaba el tiempo de escape al compartimiento de seguridad (latencia de escape). Se esperaban 30 segundos en el compartimiento A, para sacar al sujeto de la caja. Pasados 5 minutos inmediatos al escape, los sujetos fueron inyectados intraperitonealmente y regresados a sus jaulas.

**Retención.** - Veinticuatro horas más tarde se realizó la sesión de prueba o de retención. El procedimiento fue igual que el día anterior excepto por la administración del choque y se midió la latencia a partir del tiempo en que se abrió la compuerta hacia el compartimiento B hasta que el animal hubo puesto las cuatro patas en ese compartimiento. Si el sujeto no cruzaba en 600 segundos, se daba por terminada el ensayo.

**7.5. Tratamientos.** Sujetos sometidos a la administración intraperitoneal de una de las siguientes drogas: E en una dosis de 8 mg/kg, PX en dosis de 2.0 mg/kg, BI con una dosis de 4.0 mg/kg, y respecto al BA, de 2.0 mg/kg, y en coadministración de una droga GABAérgica con E para el caso del experimento 2

**Intensidades.** - Se utilizaron intensidades de 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mA, considerándolas como bajas. El voltaje utilizado fue de 80 volts

**7.6. Análisis estadístico** Se realizaron pruebas no paramétricas de análisis independientes empleando la prueba Kruskal Wallis para cada una de las latencias: latencias de adquisición, escape y de retención. Cuando las diferencias fueron estadísticamente significativas se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney para detectar diferencias entre pares de grupos.



## 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1. Experimento 1

Efecto de drogas GABAérgicas y del antagonista colinérgico escopolamina en la consolidación de la memoria en sujetos sometidos a bajo reforzamiento en evitación pasiva

Este experimento tuvo como objetivo, evaluar el efecto de la escopolamina, de dos antagonistas GABAa, picrotoxina y bicuculina, y del baclofen un agonista a GABAb, sobre el mantenimiento de una respuesta de evitación pasiva entrenada a diferentes intensidades del estímulo nociceptivo.

Se formaron 24 grupos independientes de 10 Ss cada uno y recibieron uno de los siguientes tratamientos: 4 grupos fueron inyectados E (8.0 mg/kg), 4 recibieron BI (4.0 mg/kg), 4 fueron tratados con PX (2.0 mg/kg), 4 con BA (2.0 mg/kg), 4 inyectados con solución salina (SAL) al 0.9% en un volumen equivalente y otros 4 grupos intactos sin inyección; las administraciones se realizaron vía intraperitoneal 5 minutos después del entrenamiento, los sujetos fueron entrenados con alguna de las siguientes intensidades 1.0, 1.5, 2.0 ó 2.5 mA. La siguiente Tabla (1) se muestran los grupos formados con sus tratamientos respectivos

Tabla 1. Tratamientos

Intacto	SAL**	E (8.0) *	PX (2.0) *	BI (4.0) *	BA (2.0) *
1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA
1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

\*Las dosis están expresadas en mg/kg

\*\* Solución salina comercial al 0.9%

En la Tabla 1 se muestran los tratamientos adjudicados a cada grupo: La droga con la dosis administrada y la intensidad de choque aplicada a cada grupo.

### 8.1.1. Resultados

Los resultados se muestran en la Figura 10, en donde se señalan las latencias de retención para todos los grupos con cada una de las intensidades. La ordenada representa la mediana de la retención en segundos y en la abscisa cada uno de los grupos tratados. En esta figura únicamente se presentan las diferencias significativas entre los grupos tratados con diferente droga a una misma intensidad respecto a salina y a E. La Tabla 2, representa el nivel de significancia (una cola,  $f < 0.05$ ), de todos los tratamientos.

Con el análisis de varianza Kruskal-Wallis, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las latencias de adquisición y en las de escape entre los grupos. Al comparar las latencias de retención, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $H=58.32$ ,  $gl=23$ ,  $p < 0.0001$ ).

Empleando la prueba de U de Man Whitney se determinaron las diferencias en las latencias de retención entre pares de grupos. Al comparar las latencias de retención de los grupos intactos y los de salina no se encontraron diferencias significativas, por lo que el resto de las comparaciones se realizaron con respecto al grupo de salina.

Se encontraron diferencias significativas intragrupos (tratados con la misma droga) debidas al factor intensidad en los siguientes grupos: en los de tratamiento con SAL se encontró que el grupo de 1.0 mA difirió de los grupos entrenados con 2.0 mA ( $U=25.5$ ,  $p < 0.05$ ) y con 2.5 mA ( $U=19.5$ ,  $p < 0.01$ ) (Tabla 2). Igualmente el grupo de 1.5 mA difirió significativamente de los grupos de 2.0 mA ( $U=24.5$ ,  $p < 0.05$ ) y 2.5 mA ( $U=19.5$ ,  $p < 0.01$ ). Como puede verse en la Figura 10, los grupos tratados con salina entrenados con las intensidades bajas (1.0 y 1.5 mA) mostraron una latencia de retención del 50 por ciento mientras que los grupos sometidos a intensidades altas (2.0 y 2.5 mA) mostraron latencias cercanas a los 600 s, en otras palabras una muy buena ejecución.

En los grupos tratados con E se encontró que los grupos entrenados con 1.5 mA y 2.0 mA mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo entrenado con 2.5 mA ( $U=25.5$ ,  $p < 0.05$  y  $U=24$ ,  $p < 0.05$ , respectivamente).

De igual forma en los grupos tratados con PX se presentaron diferencias debidas a la

intensidad de choque, el grupo entrenado con 1.0 mA presentó diferencias respecto al grupo entrenado con 2.0 mA ( $U=15.5$ ;  $p<0.01$ ) y 2.5 mA ( $U=5.0$ ,  $p<0.001$ ), y el entrenado con 1.5 mA difirió de sus correspondientes grupos entrenados con 2.0 y 2.5 mA, ( $U=28$ ,  $p < 0.05$  y  $U=10$ ,  $p < 0.01$  respectivamente). También se observaron diferencias al comparar el grupo de PX entrenado con 2.0 mA, con respecto al grupo de PX entrenado con 2.5 mA ( $U=25$ ,  $p < 0.05$ )

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los grupos tratados con BA y BI debidas al factor intensidad.

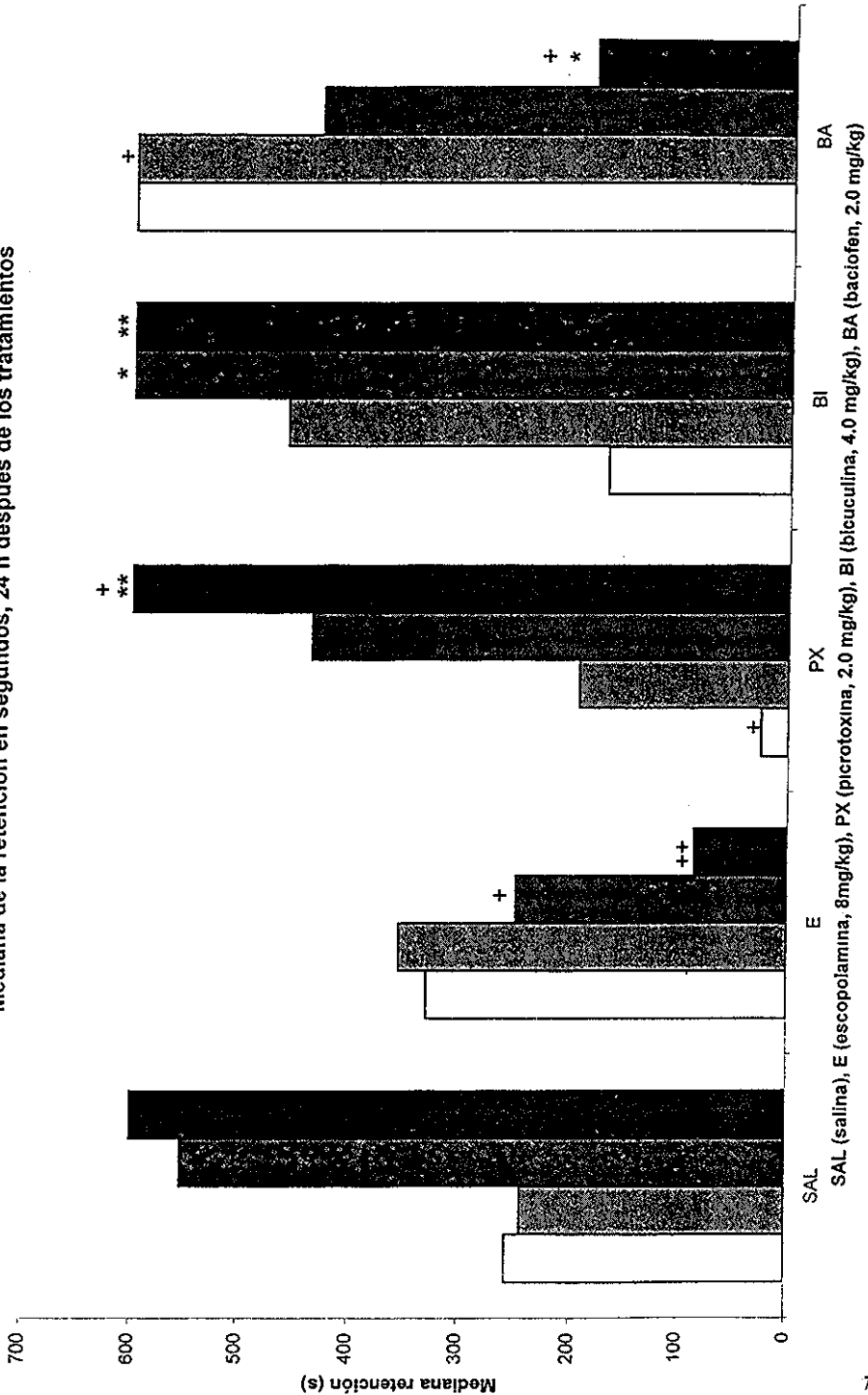
Se realizaron comparaciones entre los grupos en relación al factor droga y una misma intensidad respecto a su grupo equivalente de salina. Se encontraron diferencias entre los grupos entrenados con 1.0 mA PX ( $U= 24.5$ ,  $p < 0.05$ ); en el resto de los grupos las latencias de retención de los grupos fueron equivalentes a la observada en el grupo de SAL.

De los grupos tratados con intensidad de 1.5 mA, el único grupo que presenta diferencia significativa respecto a salina es el grupo de BA ( $U=22$ ,  $p < 0.5$ ). En los grupos entrenados con la intensidad de 2.0 mA, encontramos un deterioro en la retención del grupo de E respecto al grupo de SAL ( $U=26.5$ ,  $p < 0.05$ ), en los grupos restantes no se detectaron diferencias significativas.

En los grupos entrenados con la intensidad de 2.5 mA, se encontraron diferencias entre el grupo de SAL y los grupos de tratados con E ( $U=2$ ,  $p < 0.001$ ), y con BA ( $U=26$ ,  $p<0.05$ ), en ambos casos las latencias fueron más bajas con respecto al grupo de SAL; en el resto de los grupos no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Al comparar la ejecución de los grupos tratados con escopolamina respecto a los otros tratamientos entrenados a 1.0 mA y a 1.5 mA se encontró que no presentaron diferencias significativas con ningún grupo. En los grupos entrenados con 2.0 mA el grupo de BI fue el único que presentó diferencias significativas ( $U=28$ ,  $p < 0.05$ ), respecto al grupo de E, mostrando una retención alta. En los grupos entrenados con intensidad de 2.5 mA encontramos que en los tres grupos que se les administraron las drogas GABAérgicas, se obtuvieron diferencias significativas respecto a la E, mientras que en los grupos tratados con PX y BI se observó una latencia de retención alta ( $U=0.0$ ,  $p < 0.001$  y  $U=4$ ,  $p < 0.001$ , respectivamente), en el grupo de BA las latencias observadas fueron más bajas ( $U=28$ ,  $p < 0.05$ )

Figura 10, Experimento 1  
Mediana de la retención en segundos, 24 h después de los tratamientos



Experimento 1

Niveles de significancia de las drogas GABAérgicas y E

Intensidad de Estímulo

	1.0				2.0				2.5					
	SAL	E	Px	Ba	SAL	E	Px	Bi	Ba	SAL	E	Px	Bi	Ba
VS														
1.0	SAL	---	0.027	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	E	---	---	---	0.0206	0.032	---	---	---	0.0106	0.0188	0.0041	---	---
	Px	---	---	0.0041	0.0206	0.0445	---	---	---	0.0106	0.0188	0.0041	---	---
	Bi	---	---	---	0.001	0.0011	0.027	0.0046	0.002	0.0005	---	0.0003	0.0012	0.041
	Ba	---	---	---	0.0348	---	---	---	---	0.0348	---	0.0117	---	---
1.5	SAL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	E	---	---	---	0.0171	0.027	---	---	---	0.0106	0.0041	0.0482	---	---
	Px	---	---	---	---	---	---	---	---	0.0247	0.0117	---	---	---
	Bi	---	---	---	---	0.0051	0.0096	0.0482	0.0117	0.0033	---	0.0012	0.0247	---
	Ba	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.0284	---	---	---
2.0	SAL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	E	---	---	---	---	---	0.0171	---	---	---	0.0003	---	---	---
	Px	---	---	---	---	---	0.0378	---	---	---	0.002	0.0284	---	---
	Bi	---	---	---	---	---	---	---	0.0482	0.0106	0.0142	0.0041	---	---
	Ba	---	---	---	---	---	---	---	---	0.0028	0.0284	---	---	---
2.5	SAL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.001	---	---	0.0348
	Px	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.0001	0.0003	0.0482
	Bi	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.0117	---
	Ba	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Valores significativos de la prueba de U de Mann-witney con  $p < 0.05$

### 8.1.2. Discusión

El primer aspecto que se analizó fue el factor intensidad intragrupo y se puede discutir de los resultados obtenidos, que con las intensidades bajas, las latencias de retención de los sujetos controles (SAL), son relativamente bajas, este hecho y el no encontrarse diferencias significativas respecto a los grupos intactos manifiesta una influencia de la intensidad del choque en la consolidación de la memoria. En tanto que en los grupos de E hubo diferencia entre las intensidades más bajas y la intensidad más alta, mostrándose amnesia en éste último. En los grupos de PX los tratados con intensidades altas (2.0 y 2.5 mA) mostraron una mejor retención respecto a los grupos de las intensidades bajas, mientras que los grupos tratados con BI y BA no presentaron efectos ante las diferentes intensidades. Los resultados muestran que la intensidad no tiene efecto igual en todas las drogas.

De igual forma en los diversos tratamientos se observaron, como podía esperarse, un efecto amnésico de la escopolamina y del baclofen, que se manifiestan claramente a medida que aumentan las intensidades. Por otro lado en los grupos que fueron tratados con BI, no se detecta un efecto aparente sobre la latencia de retención, tomando en cuenta el factor intensidad, mientras que en el grupo de PX, se observa un efecto no esperado (efecto amnésico), en la intensidad de 1.0 mA.

Una posible explicación del efecto de la intensidad en los diferentes tratamientos es que el choque en el sujeto produce estrés y que éste hace que entre en acción el sistema noradrenérgico afectando a la memoria. Cuando se estimula con electrodos a la amígdala trae como consecuencia que se altere el sistema noradrenérgico trayendo como consecuencia que las funciones de otros neurotransmisores o sistemas neuroendocrinos puedan ser crónicamente modificados (Gold, 1989).

La escopolamina es un antagonista colinérgico que atenúa las funciones colinérgicas del sistema nervioso central a través del bloqueo no selectivo a receptores muscarínicos y hace que se deterioren diversos tipos de aprendizaje y memoria (Iversen, 1997). La administración de la E produjo amnesia en las intensidades de 2.0 y 2.5 mA, estos datos confirman reportes previos

(Durán-Arévalo, et al., 1990; Rush, & Streit, 1992; Iversen, 1997), sin embargo estos investigadores trabajaron con intensidades más bajas y con otras dosis. Los presentes resultados mostraron que en las intensidades bajas la E no produjo efecto, sin embargo la tendencia de la gráfica es la esperada, es decir el efecto amnésico de la E depende de la magnitud de la intensidad del estímulo. Los resultados coinciden con otros trabajos donde se ha reportado que los efectos amnésicos de la escopolamina dependen de la magnitud del estímulo nociceptivo, con intensidades medias equivalentes a las usadas en el presente experimento, se presenta la amnesia, pero cuando la magnitud del estímulo aumenta (intensidad del choque), no se manifiestan los efectos amnésicos de la escopolamina (Cruz-Morales, 1992). Por otro lado Quirarte y cols. (1993), trabajan en condiciones de bajo reforzamiento de 0.1 a 1.0 mA, y no encuentran amnesia más que en dos de las intensidades intermedias (0.7 y 0.8 mA), estos resultados coinciden con los presentados en este trabajo de sujetos entrenados en 1.0 mA. Los mismos autores indican que la manifestación de la amnesia inducida por la E depende de la magnitud del reforzador negativo y que se requiere de una intensidad mínima (umbral) para que la administración de la E produzca deficiencias en la ejecución de la tarea. En otras palabras se ha observado que con intensidades extremas (menores de 0.6 mA y mayores de 3.0 mA), los efectos amnésicos de la escopolamina no se manifiestan.

Los resultados de la PX muestran que se produce una buena ejecución en la intensidad más alta (2.5 mA), coincidiendo con los resultados reportados por Cruz-Morales (1992). En intensidades intermedias de (1.5 y 2.0 mA) no se encontró efecto en la retención, mientras que en la intensidad más baja se produce una marcada amnesia. En la literatura se ha reportado que el bloqueo del neurotransmisor GABA facilita la retención (Brioni & McGaugh, 1988; Castellano & McGaugh, 1991). McGaugh (1989b), reporta que la PX mejora la retención en varias pruebas tales como en pruebas de laberinto, evitación activa, discriminación y evitación pasiva. Sin embargo, Castellano y cols (1993) encontraron efecto amnésico en una de las cepas de ratones en las que trabajan, y Nabeshima y cols. (1988), igualmente realizaron sus investigación en ratones sometidos a una prueba de evitación pasiva (1 Hz, 500 ms, 60 V. CD), reportaron amnesia cuando administran PX después del entrenamiento, el trabajo concluye que las neuronas

del sistema GABAérgico están involucradas en el aprendizaje y la memoria, y que tienen un efecto en el proceso de la consolidación de la memoria

La BI muestra una tendencia muy parecida a la PX, los dos antagonistas GABAérgicos siguen la misma tendencia como se observa en la gráfica. Los resultados de la BI obtenidos con 2.5 mA coinciden con los reportados por Veloz-Gómez (1999), mientras que en las otras intensidades (1.0, 1.5 y 2.0 mA) no coinciden ya que en el trabajo citado reporta latencias de retención más bajas, y sugiere un efecto amnésico. Estas diferencias pueden deberse a las dosis empleadas, 2.0 mg/kg en el trabajo citado, mientras que en este trabajo se administraron 4.0 mg/kg, y no hay que olvidar que los efectos de la BI dependen de la dosis y de la magnitud del reforzamiento (Cruz-Morales, 1992).

Por otro lado Intrioni-Collison, Castellano y McGaugh (1994), reportaron que la administración sistémica, de 1.0 ó 3.0 mg/kg (i.p.) de BI, produjo una mayor retención con la dosis bajas y menor con la dosis alta, en una prueba de evitación pasiva en ratones entrenados con 0.5 ó 0.7 mA. Los autores infieren que la consolidación de la memoria puede estar modulada por la administración post-entrenamiento de compuestos como las drogas GABAérgicas, que modifican la actividad del GABA. Asimismo la BI tiene efectos en la memoria los cuales son comparables con los encontrados con la PX (Brioni & McGaugh, 1988). Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos en esta investigación e inferir lo mismo respecto al papel de las drogas GABAérgicas en la consolidación de la memoria.

Los resultados obtenidos con BA en el presente trabajo sugieren una tendencia amnésica dependiente de la intensidad del estímulo. Los resultados del experimento no coinciden con los de Castellano y MacGaugh (1991), si tomamos en cuenta el criterio de retención. Estos investigadores estudiaron en ratones los efectos de la administración sistémica de BA (5.0, 10.0 ó 20.0 mg/kg, i.p.), en una tarea de evitación pasiva entrenada con 0.7 mA (1.0 s, 50 Hz), obteniendo una retención del 50 por ciento del criterio de retención (es decir 50s de 100 s) con la dosis más baja y se obtiene el comportamiento esperado de amnesia con las dosis altas; en la presente investigación con dosis de 2.0 mg/kg e intensidades de 1.0 y 1.5 mA se obtuvo una muy buena retención inclusive mayores que las del control (600 s), e incluso se presenta una



facilitación en la intensidad de 1.5 mA, estas discrepancias se pueden explicar tomando en cuenta la diferencia de intensidad y de dosis utilizadas (buena retención con dosis de 5.0 mg/kg y se va deteriorando conforme se eleva la dosis, las dosis tuvieron que ser muy elevadas para tener algún efecto). La dosis utilizada en este trabajo fue muy por debajo de la dosis baja de 5.0 mg/kg utilizada por los autores hipotéticamente la dosis baja de 2.0 mg/kg no tendría ningún efecto, por lo que se puede interpretar que la intensidad de choque es la que esta interviniendo en los resultados.

Sin embargo volvemos a encontrar resultados similares en parte de los resultados reportados por Castellano y cols. (1993), donde la administración de BA (5.0, 10.0 y 20.0 mg/kg) a dos cepas de ratones diferentes (C57 y DBA) sometidos a una tarea de evitación pasiva (0.2 mA, 50 Hz, 1s), obtienen resultados opuestos en las dos cepas, siempre dependiendo de la dosis, en C57 la retención disminuye respecto a la dosis y en la DBA aumenta respecto a la misma. Los investigadores concluyen que la acción de las drogas GABAérgicas se encuentran relacionadas con el proceso de almacenamiento de la memoria, y que los resultados se deben a la distinta distribución de GABA en las diferentes áreas del cerebro de las dos cepas de ratones trabajadas.

La diferencia de cepas, en este caso de especie puede explicar parcialmente las inconsistencias en los resultados, ya que se trabajó con rata. Una explicación de resultados del BA obtenidos en la intensidad de 2.5 mA respecto a que no coinciden con los de Cruz-Morales, 1992, esta en la dosis empleada por Cruz-Morales que fue de 2.5 mg/kg, un poco más alta que la utilizada en este trabajo (2.0 mg/kg).

Se puede concluir que la intensidad de choque influye en la consolidación de la memoria en sujetos sometidos a una prueba de evitación pasiva, y que esta influencia no es igual cuando se administran sistémicamente drogas GABAérgicas.

## 8.2. Experimento 2.

### Evaluación de la administración de agonistas y antagonistas GABAérgicos sobre la amnesia inducida por escopolamina.

Este segundo experimento tuvo como objetivo evaluar los efectos de los antagonistas y agonista GABA sobre la amnesia inducida por escopolamina en una tarea de evitación pasiva entrenada con diferentes intensidades de estímulo (1.0, 1.5, 2.0, ó 2.5 mA). Se espera que los antagonistas GABAérgicos reviertan la amnesia inducida por la E y que el agonista BA de alguna manera potencie la amnesia de la E, estos efectos dependerán de la intensidad de choque aplicado.

Se utilizaron 20 grupos de 10 Ss cada uno, a los que se les administro, vía intraperitoneal, una droga GABAérgica más la colinérgica E en forma simultánea, otro con E y otro con SAL, utilizando las mismas dosis que en el experimento 1, y las mismas intensidades de estímulo. Los volúmenes fueron calculados para administrarse en menos de 0,5 ml por inyección.

Los tratamientos se muestran en la Tabla 3 y fueron los siguientes: 4 grupos a los que se les administró E (8.0 mg/kg) + PX (2.0 mg/kg), 4 grupos fueron tratados con E (8.0 mg/kg) + BI (4.0 mg/kg) y 4 grupos que recibieron E (8.0 mg/kg) + BA (2.0 mg/kg), y 8 grupos controles, 4 grupos a los que se les administró E (8.0 mg/kg) y 4 grupos de SAL (0.9 %). Las drogas fueron aplicadas intraperitonealmente 5 minutos después del entrenamiento.

Tabla 3. Tratamientos

SAL (0.9)**	E (8.0) *	E/PX (8.0/2.0) *	E/BI (8.0/4.0) *	E/BA (8.0/2.0)*
1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA	1.0 mA
1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

\*Las dosis están expresadas en mg/kg

\*\* Solución salina comercial al 0.9%

En la Tabla 3 se muestran los tratamientos adjudicados a cada grupo: Las drogas con la dosis administrada y la intensidad de choque aplicada a cada grupo.

### 8.2.1. Resultados

La Tabla 4 muestra el grado de significancia de todos los tratamientos, mientras que la Figura 11 muestra el efecto de las drogas antagonistas GABAérgicas PX y BI y del agonista GABA<sub>B</sub>, BA sobre los efectos de la E a diferentes intensidades. La ordenada representa las medianas de las latencias de retención en segundos y las abscisas la acción de las drogas a diferentes intensidades. Además se señalan las diferencias significativas de los tratamientos respecto a los controles de SAL y a E.

No se encontraron diferencias significativas al aplicar el análisis de varianza de Kruskal-Wallis en las latencias de adquisición ni en las latencias de escape. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en las latencias de retención ( $H=45.8$ ,  $gl=19$ ,  $p<0.005$ ).

Aplicando la prueba de U de Mann Whitney se determinaron las diferencias en las latencias de retención entre pares de grupos. Al comparar los efectos de la intensidad para cada tratamiento, se encontraron diferencias por intensidad en los grupos tratados con SAL; el grupo de SAL entrenado con la intensidad más alta de 2.5 mA difirió de los grupos entrenados con 1.0 mA ( $U=23$ ,  $p<0.05$ ) y 1.5 mA ( $U=18$ ,  $p<0.01$ ), (ver Tabla 4).

En los grupos entrenados con la combinación de E+BI se encontraron diferencias entre el grupo entrenado con 1.0 mA y los grupos entrenados con 2.0 mA ( $U=19$ ,  $p<0.005$ ) y 2.5 mA ( $U=23$ ,  $p<0.05$ ). No se observaron diferencias por intensidades en los grupos tratados con E, con E+PX y con E+BA (Tabla 4).

Al comparar por droga se encontró que en la intensidad de 1.0 mA, los grupos tratados con las combinaciones de E+BI ( $U=24$ ,  $p<0.05$ ) y E+BA ( $U=25$ ,  $p<0.05$ ) se comportaron en forma diferente al grupo control de SAL, (Figura 11).

De los grupos tratados con 1.5 mA, se detectaron diferencias entre el grupo de SAL y el grupo tratado con E+PX ( $U=22.5$ ,  $p<0.05$ ). Respecto a los grupos entrenados con 2.0 mA el

grupo de E fue estadísticamente diferente e el grupo de SAL ( $U=26.5$ ,  $p<0.05$ ); finalmente los grupos entrenados con 2.5 mA que fueron diferentes a el grupo de SAL fueron el grupo de E ( $U=7$ ,  $p<0.001$ ) y el grupo de E+BA ( $U=22$ ,  $p<0.05$ )

Al comparar los grupos de E respecto a los otros grupos tenemos que la intensidad de 1.0 mA, el grupo que resultó estadísticamente diferente fue el de E+PX ( $U=24$ ,  $p<0.05$ ), de los grupos entrenados a 1.5 mA fue diferente al de E el grupo de E+PX ( $U=23.5$ ,  $p<0.05$ ). Respecto a los grupos entrenados con 2.0 mA, fueron diferentes los grupos de E+PX ( $U=18$ ,  $p<0.01$ ) y el de E+BI ( $U=18$ ,  $p<0.01$ ). Los grupos entrenados a 2.5 mA el único que presenta diferencias significativas respecto a E y fue el de E+BI ( $U=18$ ,  $p<0.01$ )

Al igual que en el Experimento 1 se encontraron diferencias en los grupos de SAL dependiendo de la intensidad de choque. Se replicó el efecto amnésico de la E y se encontró que la administración de picrotoxina y bicuculina revirtieron la amnesia inducida por la escopolamina, mientras que cuando se administró baclofen se mantuvo el efecto amnésico. Como se puede observar en la Tabla 4, al comparar todos los grupos entre sí encontramos que la mayor parte de los efectos se observaron en los grupos entrenados con una intensidad de 2.5 mA.

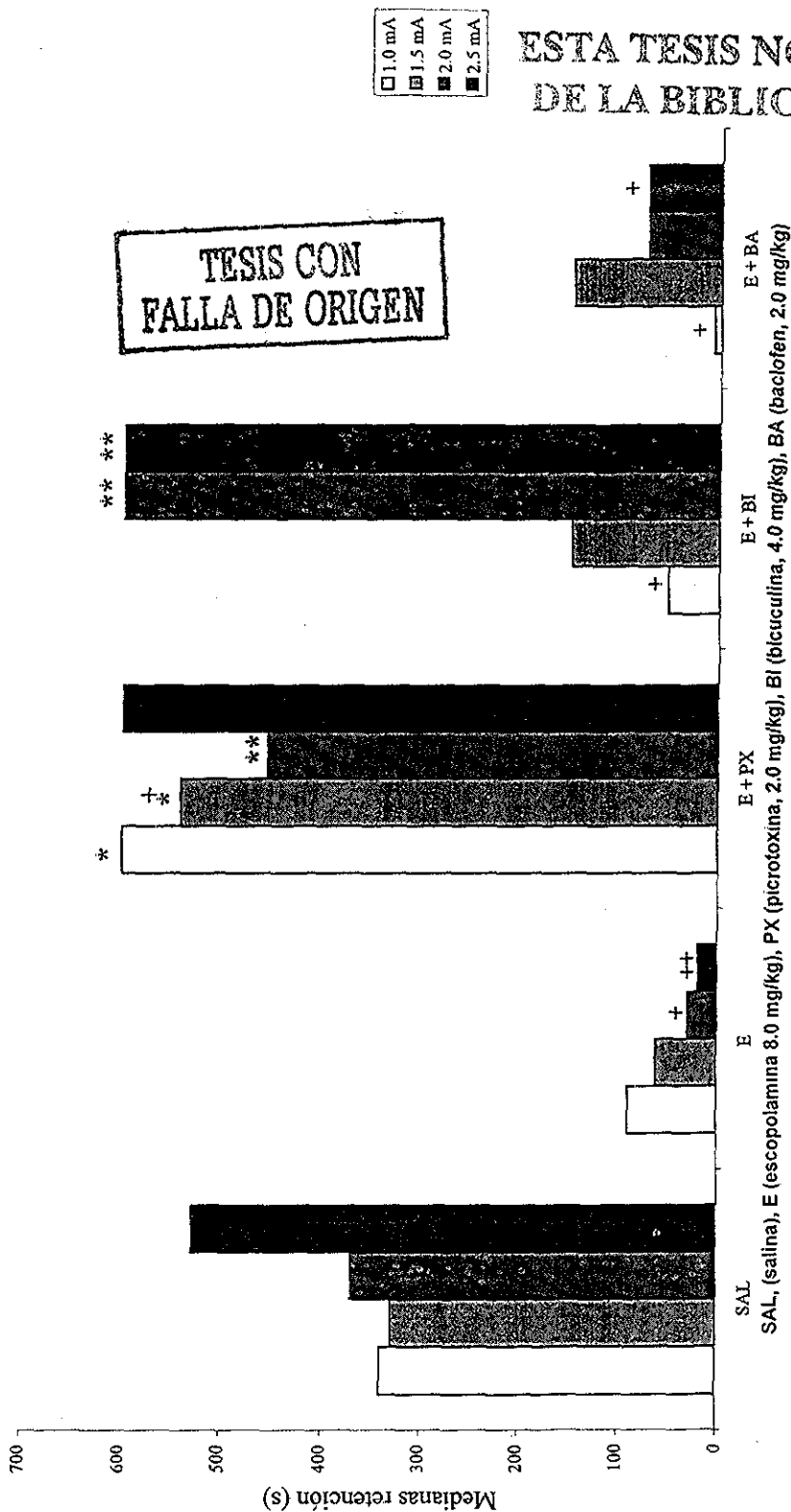
### 8.2.2. Discusión

Se analizaron primeramente los efectos de la intensidad intragrupo, es decir se analizaron los efectos de la intensidad en cada droga y posteriormente los efectos de cada intensidad ante las diferentes drogas.

Se encontraron diferencias respecto a la intensidad en cada tratamiento, en los grupos de SAL 2.5 mA respecto a los grupos entrenados a intensidad de 1.0 y 1.5 mA, y en los grupos entrenados con E+BI en donde los grupos de 2.0 y 2.5 mA fueron diferentes a los de intensidad de 1.0 mA. El hecho de que en los grupos de SAL se presenten diferencias respecto a la intensidad como en el experimento 1, fortalece la hipótesis de que la intensidad de choque tiene efecto en la retención.

Los resultados obtenidos en este experimento, replicaron los efectos observados con SAL y E en el experimento anterior, aunque el momento de aplicación de los tratamientos fue

Figura 11, Experimento 2.  
Mediana de la retención en segundos, 24 h después de los tratamientos



ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

Respecto a Salina: + p < 0.05; ++ p < 0.001      Respecto a Escopolaminat: \* p < 0.05; \*\* p < 0.01

Experimento 2

Niveles de significancia de la combinación de drogas GABAérgicas y Escopolamina

Droga	Intensidad de Estimulo														
	SAL	E	E+PX	E+BI	E+BA	SAL	E	E+PX	E+BI	E+BA	SAL	E	E+PX	E+BI	E+BA
10			0.0247	0.0247	0.0294		0.0294				0.0208	0.0016			
	SAL										0.0078				
	E		0.0247												
	E+PX														
	E+BI		0.0078			0.0247									
	E+BA					0.0028	0.041				0.0026				0.0206
	SAL					0.0045	0.0142				0.0016				0.0078
	E										0.0078	0.001			
	E+PX										0.0206				
	E+BI											0.0002			0.027
	E+BA										0.0206	0.0348			
	SAL										0.0247	0.0294			
	E											0.0078			
	E+PX											0.0078	0.0142		0.041
	E+BI												0.0006		0.0482
	E+BA												0.002		
	SAL										0.0206				
	E											0.0006			0.0171
	E+PX														0.0078
	E+BI														
	E+BA														

Tabla 4. Valores significativos de la prueba de U de Mann-Witney con  $p < 0.05$ .

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

otro, y aparentemente los resultados difieren. Por un lado, los grupos controles tratados con SAL, presentan una mejor ejecución con las intensidades más altas (2.0 y 2.5 mA), y por otro se observa un efecto amnésico inducido por la administración de escopolamina, el cual es dependiente directa de la intensidad del estímulo. En los grupos de E, a pesar de que las latencias de retención fueron muy pequeñas en todas las intensidades, al comparar los resultados con los del grupo de SAL, únicamente resultan con diferencias significativas los entrenados con 2.0 mA y 2.5 mA, coincidiendo con los del Experimento 1.

La administración de la combinación de PX y BI con E, revirtieron la amnesia producida por la E, sin embargo en los grupos tratados con la combinación de E+BI, éste efecto sólo se manifiesta con las intensidades más altas (2.0 y 2.5 mA). Asimismo se corrobora la acción del agonista GABA<sub>B</sub> BA<sub>1</sub> y de la E, ya que se presenta el efecto amnésico esperado en todas las intensidades cuando se administran juntas las drogas, efecto que no se presentaba cuando se administraron en forma aislada. Los resultados de la E + PX, muestran que se revierte la amnesia producida por la E en tres de las intensidades (1.0, 1.5 y 2.0 mA), aunque en la intensidad más alta no se haya obtenido diferencias estadísticas significativas, las latencias de retención fueron de 600 s, coincidiendo con los datos reportados por Cruz-Morales (1992), en donde se explica que la administración de PX protegió el efecto amnésico inducido por la E.

Los resultados de este experimento, en donde se administran una droga colinérgica con GABAérgicas, se pueden explicar por su posible interacción. Se ha demostrado que la ACh puede interactuar con diferentes neurotransmisores en el aprendizaje y la memoria, se han encontrado interacciones con el sistema noradrenérgico, dopaminérgico, serotoninérgico, peptidérgico y GABAérgico (Decker & McGaugh, 1991), los autores refieren que GABA es el neurotransmisor inhibitorio distribuido más ampliamente en el cerebro y que afecta la transmisión colinérgica en una variedad de niveles.

La administración de la E+BI pone de manifiesto la importancia de la magnitud del estímulo incondicionado, ya que en intensidades altas de 2.0 y 2.5 revierte la amnesia inducida por la E. Los diferentes comportamientos de los dos antagonistas GABA y la ACh, pueden suponer la intervención de ambos sistemas en la modulación de la memoria tal y como lo

sugieren Decker y McGaugh (1991), refiriéndose a la interacción ACh/GABA, en cuanto a que la administración post-entrenamiento de antagonistas GABAérgicos sistémica o intra amígdala mejora la retención en un programa de evitación pasiva y que los agonistas GABA deterioran la retención y explican que el GABA es un neurotransmisor inhibitorio que afecta al neurotransmisor colinérgico en una variedad de niveles, por ejemplo en los núcleos basales magnocelulares y en el área septal media por lo que parece jugar un papel importante en la regulación de las neuronas colinérgicas en el cerebro medio.

Otra posible explicación que no se descarta, es que al combinar la E con GABAérgicos estamos alterando los dos sistemas y esto puede disparar algún otro sistema involucrado con GABA, tal y como lo proponen Dubrovina y Ilyutchenok (1995). Asimismo McGaugh y Cahill (1997) indican que sistemas neuromodulatorios como el GABAérgico y colinérgico interactúan en la modulación del almacenaje de la memoria.

Otra evidencia de la interacción ACh/GABA es la de los investigadores Nakagawa, Ishibashi, Yoshii y Tagashira (1995), quienes realizaron una investigación sobre la retención en ratas en una prueba en el laberinto de Morris, demostrando que un agonista colinérgico oxotremorina atenuó el efecto amnésico causado por la E y por BA, sugiriendo que el sistema colinérgico puede interactuar con el sistema GABA<sub>b</sub> en el cerebro, siendo posible que los receptores GABA<sub>b</sub> puedan modular el aprendizaje y la memoria, y puedan ser modulados a través de la influencia del sistema colinérgico.



## 9. DISCUSION GENERAL

El modelo de evitación pasiva se ha utilizado ampliamente para evaluar el efecto de los fármacos en la consolidación de la memoria. Numerosos estudios confirman que es una de las pruebas más usadas para estudiar la memoria en roedores (Bammer, 1982; Iversen, 1997). Las ventajas de este modelo es que la respuesta es estable a lo largo del tiempo y similar a la obtenida empleando otros procedimientos, el aprendizaje se adquiere rápidamente en un solo ensayo, por lo que al administrar los tratamientos antes o después del entrenamiento, se pueden identificar tanto el proceso de adquisición como de consolidación de la memoria (Gold, 1986)

Cuando una droga es administrada poco tiempo después del entrenamiento, como en el presente experimento, se garantiza que la droga ejerza sus efectos en el proceso de la consolidación de la memoria; ya que en numerosos estudios se indica que para que la droga tenga efectos en el proceso de la consolidación, debe ser administrada después de la adquisición, y es significativo cuando la droga es aplicada inmediatamente y hasta 10 minutos después del entrenamiento (Bermudez-Rattoni, Mujica-González, & Prado-Alcalá, 1986; Nabeshima, Kosawa, Furukawa & Kameyama, 1986; Wolfman, et al., 1994)

Los efectos de la magnitud del reforzamiento (en este caso intensidad del estímulo) en los dos experimentos se pone de manifiesto en todos los tratamientos, ya que para cada intensidad de choque se observaron latencias de retención diferentes, dependiendo de la magnitud del estímulo con que los sujetos fueron entrenados. En los grupos intactos y tratados con solución salina en ambos experimentos la mejor ejecución (latencias de retención cercanas a 600 s) se observó con las intensidades más altas de 2.0 y 2.5 mA, mientras que con las intensidades de 1.0 y 1.5 mA se observaron latencias de retención bajas, lo cual sugiere que la magnitud del estímulo no fue efectiva para inducir un cambio importante en la conducta. Estos resultados se reflejan ante cada uno de los tratamientos, donde los efectos fueron igualmente más notorios en los grupos entrenados con las más altas intensidades

Gold (1986) sugiere que el corto periodo de evento aversivo durante el entrenamiento en una prueba de un solo ensayo puede traer como consecuencia modificaciones estructurales, bioquímicas y fisiológicas en el cerebro, y que la administración de moduladores de la memoria

después del entrenamiento reflejan alteraciones en la eficiencia de estos procesos, es decir los cambios en la conducta no son biológicamente independientes de los cambios producidos por el estímulo aversivo, pero estos dependen de los tratamientos farmacológicos administrados después del entrenamiento, reflejando su efecto en la memoria

En varios trabajos se ha reportado efectos diferenciales en la ejecución ante diferentes magnitudes de reforzamiento tanto con comida o con choque. Por ejemplo Salinas y McGaugh (1995) reportaron que dosis sistémicas de muscimol (1.0 y 3.0 mg/kg, i.p.) administradas post-entrenamiento producen amnesia retrógrada por la reducción de la recompensa (comida), dependiendo de la dosis, y que a dosis de 3.0 mg/kg la amnesia retrógrada se produce aún aumentando la recompensa.

Cuando el reforzamiento es negativo, se han obtenido resultados similares. Brioni y McGaugh (1988) realizaron en una prueba de evitación pasiva un experimento sometiendo a ratones ingenuos a diferentes intensidades de estímulo (0.17, 0.35, 0.5, 0.7 y 1.0 mA) obteniendo mayor retención a mayor intensidad de estímulo. Asimismo Durán-Arévalo, et al. (1990), en ratas entrenadas en evitación pasiva con diferentes intensidades (3.0, 6.0 y 9.0 mA), evaluaron el efecto sistémico de la E (2.0, 4.0, 6.0, 8.0, ó 12.0 mg/kg, i.p.) administrada 5 minutos después del entrenamiento y observaron déficit en la memoria únicamente con la intensidad de 3.0 mA, y buena retención con las intensidades altas, sugiriendo que ciertas estructuras cerebrales o sistemas neuroquímicos son necesarios para la consolidación de la memoria en tareas instrumentales, sin embargo cuando estas pruebas son sobre-entrenadas o sobre-reforzadas, el trazo de la memoria no es representado por las mismas estructuras o sistemas neuroquímicos. Cruz-Morales, et al. (1992) administraron 8.0 mg/kg (i.p.) de escopolamina 5 minutos después del entrenamiento y aplicaron diferentes intensidades de estímulo (2.5 – 3.0 mA) encontrando un déficit en la retención únicamente en tres de las intensidades (2.5, 2.7 y 2.7 mA).

En cuanto a la E, a pesar de que aparentemente en el segundo experimento todos los grupos manifestaron amnesia, únicamente en las dos intensidades más altas fueron diferentes a los grupos de SAL, lo que quiere decir que solamente en estas dos intensidades se manifestó claramente la amnesia. Estos resultados confirman que el sistema colinérgico es importante en la consolidación de la memoria (Rush & Streit, 1992).

Existe evidencia donde se demuestra la participación de la acetilcolina en el aprendizaje y la memoria. Se ha demostrado que después del entrenamiento en una tarea de evitación pasiva en ratas hay un aumento en la síntesis de acetilcolina en el estriado una hora después del entrenamiento (Barker, Glick, Gree & Khandelwal, 1982).

Domino y Domino (1976) obtuvieron efectos similares con la administración sistémica de escopolamina (0.032, 0.1, 0.32, 1.0, 3.2, 10.0 mg/kg, i.p.) en ratas inyectadas antes del entrenamiento en una prueba de evitación pasiva, se produjo disminución de los niveles de acetilcolina correlacionados con un aumento en las latencias de evitación y escape. Cuando se evaluó la retención un mes después del entrenamiento los efectos de la escopolamina fueron dependientes de las dosis, excepto en los sujetos que fueron sobre-entrenados (mayor número de ensayos) donde los efectos amnésicos fueron menores a pesar de los cambios observados en los niveles de acetilcolina.

En otro trabajo más reciente realizado en ratas entrenadas con dos intensidades de choque en evitación pasiva (0,2 mA y 0,4 mA), se reporta un aumento en la densidad de receptores muscarínicos en estriado con ambas intensidades, en hipocampo sólo con la menor intensidad, y en amígdala y corteza, se observó el aumento sólo con la intensidad alta, en forma interesante se observó una disminución de los receptores en corteza con la intensidad baja (Ortega, Díaz del Guante, Alemán & Prado-Alcalá, 1996).

La falta de efecto de la E en las latencias de retención observadas con las intensidades bajas (1.0 y 1.5 mA), podría deberse a que la intensidad del estímulo no es suficiente ni para producir la liberación de acetilcolina ni para producir un buen aprendizaje, (ya que en este caso los Ss no llegan a 600 s de retención). Quirarte y cols. (1993), proponen que alternativamente la acetilcolina puede participar en el aprendizaje de bajo reforzamiento (como en el caso de estos experimentos), pero no es indispensable para su establecimiento, mientras que el sobre-reforzamiento sugiere un efecto protector hacia la amnesia, por lo que se considera que existen cierto rango de intensidades aversivas en donde los receptores de ACh son activados y la consolidación puede ser afectada, sin embargo en condiciones de bajo reforzamiento, las propiedades de la estimulación no amenazan a la integridad del organismo y la ACh no es esencial para el almacenamiento de la información derivada de la estimulación.

La administración de PX produjo una buena retención en la intensidad de 2.0 mA y una excelente en la más alta (2.5) ya que la retención es de 600 s, sin embargo se observó amnesia en la intensidad más baja (latencias de retención menores 100s, en 1.0 mA), la explicación de este resultado posiblemente se deba a la intensidad del estímulo y las implicaciones de éste en la memoria ya que la droga se administró en todos los grupos en la misma dosis (2.0 mg/kg). En el grupo tratado con la combinación de E+PX no se detectaron efectos debido a la diferente intensidad con que los sujetos fueron entrenados, ya que las latencias de retención son muy parecidas en todas las intensidades, lo que se expresa es una interacción de los sistemas ACh/GABA, ya que se obtuvo reversión de la amnesia inducida por la E en tres de las intensidades y en la intensidad más alta aunque no se obtiene una reversión estadísticamente significativa, se obtiene una muy buena retención.

En los grupos tratados con BI (BI aislada y E+BI), se observó un efecto similar en ambos experimentos, latencias de retención bajas en la intensidad de 1.0 mA, y 1.5 mA, mientras que en 2.0 y 2.5 mA, las latencias de retención fueron muy buenas (cerca de los 600s), inclusive hubo reversión de la amnesia inducida por la E.

Aunque la tendencia de los dos antagonistas (PX y BI) sobre las latencias de retención, sea la misma se muestran diferencias en las respuestas de las dos drogas, estas diferencias pueden ser explicadas considerando por el modo de acción de GABA, ya que la PX (antagonista GABA<sub>A</sub>) bloquea los canales de Cl en los receptores GABA<sub>A</sub>, y la BI (antagonista GABA<sub>A</sub>) actúa por competencia por el mismo receptor; otra posibilidad de explicar estas diferencias es por la diferencia de densidad de receptores en distintas áreas del cerebro como lo proponen Ortega y colaboradores (1996) para ACh cuando se somete al sujeto a cierta intensidad de choque. Por otro lado, parte de las inconsistencias en la literatura pueden deberse a diferencias en la intensidad de choque, especie animal y prueba conductual (Cruz-Morales, 1992).

Concretamente Salado-Castillo y colaboradores (1996), reportan que la administración intra cerebral de PX en el estriado de rata (1 µg/µl) en las regiones posteroventral y lateral, producen una fuerte amnesia, mientras que cuando se administró en regiones medias se produjo amnesia en la región dorsoventral y no hubo déficit de retención cuando se administró en la

región ventromedial: por otro lado se han reportado diferentes efectos sobre la memoria cuando las drogas son administradas intracerebralmente en diferentes regiones como en amígdala (Brioni,1993), en el estriado (Salado-Castillo, Díaz del Guante, Alvarado, Quirarte y Prado-Alcalá, 1996), sustancia nigra (Cobos- Zapiain, 1992), e hipocampo (Farr, Flood,& Morley, 2000). Aunque estas investigaciones no explican directamente los resultados de este trabajo, sin embargo como se ha dicho cabe la posibilidad que con las diferentes intensidades de estímulo se alteren los sistemas neuroquímicos de las estructuras que intervienen en la consolidación de la memoria

En los grupos de BA, la influencia de la intensidad del estímulo se manifiesta claramente cuando la droga es administrada aislada, ya que el efecto esperado de amnesia únicamente se señala en la intensidad más alta, sin embargo cuando el BA es administrado en conjunto con la E en todos los casos las retenciones son muy bajas, manifestando amnesia independientemente de la intensidad. Estos resultados se pueden explicar porque el agonista selectivo GABA<sub>B</sub> propicia la liberación de GABA y reduce la liberación de la ACh.

Una posible explicación a los resultados de este trabajo está en las investigaciones que se han realizado en el estriado, estudios de la relación de ACh/GABA, revelan que en el estriado las neuronas GABAérgicas tienen una influencia inhibitoria en las interneuronas colinérgicas, además los agonistas GABAérgicos inducen a una reducción de los niveles de la ACh (Bartholini, 1987).

Como se mencionó, Decker y McGaugh (1991) nos refieren una serie de estudios en donde ponen de manifiesto la relación de ACh/GABA en el proceso de la memoria. La administración intraseptal de muscimol (agonista GABA<sub>A</sub>) reduce el volumen de acetilcolina y estos efectos pueden ser bloqueados por antagonistas GABA, por otro lado los efectos del BA pueden ser potenciados significativamente por la E. Estos efectos se confirman en diferentes trabajos como los de Cruz-Morales (1992) en donde demuestra que los efectos de la E pueden ser revertidos por los antagonistas GABAérgicos PX y BI, efecto que se manifiesta en el presente trabajo en todas las intensidades cuando se administran PX+E, y en las intensidades altas (2.0 y 2.5 mA) con la BI+E.

Castellano y McGaugh (1991) encuentran efectos similares cuando observaron que el

efecto amnésico del BA y del muscimol, fueron atenuados por la oxotremirona un agonista colinérgico.

Otra posible explicación al efecto de las drogas GABAérgicas es la hipótesis de Castellano y McGaugh (1991) en la que propone que el efecto de las drogas GABAérgicas afectan a la retención a través de la influencia de varios sistemas que se involucran en la regulación del almacenamiento de la memoria, se ha encontrado que tanto los opiáceos y los antagonistas GABAérgicos pueden ser bloqueados por los antagonistas  $\beta$  adrenérgicos por lo que se sugiere que los opiáceos y GABA influyen en la memoria y pueden estar mediados por el sistema adrenérgico. Los mismos autores indican que los opiáceos y GABA influyen en el septum medio regulando la liberación de ACh en hipocampo, esto hace pensar que no únicamente la interacción en la memoria se lleva a cabo entre ACh y GABA. Por otro lado se reporta que los antagonistas opioides pueden influir en un decremento cerebral en el contenido de GABA (Gewiss, Marley, Thorndike, Goldberg & Schindler, 1994).

## 10. CONCLUSIONES

Partiendo de los resultados de estos experimentos se concluye lo siguiente:

Existe una influencia de la intensidad del estímulo en todos los tratamientos sobre la latencia de retención en la prueba de evitación pasiva, aunque de una manera significativa en los grupos tratados con SAL, E, y PX cuando se administran en forma aislada y únicamente en el grupo de BI cuando se administra con la E. Sin embargo todos los tratamientos manifiestan respuestas diferentes bajo la influencia de la intensidad de estímulo, por lo que el efecto observado en la retención es dependiente de la magnitud del reforzamiento (intensidad de choque), cuando las drogas GABAérgicas son administradas independientemente y en forma simultánea con la E. Los datos ponen en manifiesto la influencia modulatória de las variables conductuales como la intensidad del choque sobre el efecto de las drogas.

La escopolamina produjo amnesia anterógrada únicamente en dos de las intensidades (2.0 y 2.5 mA), mientras que la BI y la PX no tuvieron efectos significativos sobre la retención y el BA produjo amnesia en función de la intensidad de choque.

En general el efecto de los antagonistas GABAérgicos administrados simultáneamente con la E, revirtieron la amnesia inducida por la E, únicamente en las intensidades más altas. Por último, la administración de BA en combinación con la E, no tuvo efectos significativos sobre la amnesia inducida por E independientemente de la intensidad con que los sujetos fueron entrenados. Estos resultados apoyan la interacción de sistema colinérgico con el sistema GABAérgico en la modulación de la memoria

La variación de la magnitud del reforzamiento influye en el efecto de las drogas GABAérgicas sobre la consolidación de la memoria, en una prueba de evitación pasiva.

Se propone ampliar estos resultados utilizando otras drogas tanto GABAérgicas como colinérgicas, con el fin de mostrar las consecuencias de la intensidad del choque sobre el efecto de las drogas en una tarea de evitación pasiva. Realizar administraciones a nivel intracerebral en diferentes regiones del cerebro que estén involucradas en el proceso de la memoria, sometiendo a los sujetos a diferentes dosis de drogas GABAérgicas y colinérgicas, someténdolas en una tarea de evitación inhibitoria e intensidades de estímulo

Como comentario final, es evidente que los mecanismos GABAérgicos están involucrados en una variedad de conductas, funciones fisiológicas y en algunos desórdenes mentales y concretamente con los procesos de la memoria; la amplia distribución de GABA en el cerebro ha dificultado su estudio y por lo mismo su interpretación farmacológica, por lo que se requiere de investigaciones que ayuden a esclarecer su función



## 11. REFERENCIAS.

- Afifi, A. K. & Bergman, R. A. (1999). Neuroanatomía funcional. México: McGraw Hill & Interamericana.
- Ambrogio, C.G., Baldi, E., bucherelli, C., Sacchetti, B. & Tassoni, G. (1999), Neural topography and chronology of memory consolidation: a review of functional inactivation findings. Neurobiology of Learning and Memory, 71, 1-18.
- Ammassari-Teule, M., Pavone, F., Castellano, C. & McGaugh J.L. (1991). Amygdala and dorsal hippocampus lesions block the effects of GABAergic drugs on memory storage. Brain Research, 551, 104-109.
- Baddeley, A. (1994). Las memorias humanas. Mundo Científico, 150, 802-807.
- Bammer, G. (1982). Pharmacological of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding: a review and some new results. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 6, 247-296.
- Barker, L. A., Glick, S. D., Green, J. P. & Khandelwal, J. (1982). Acetylcholine metabolism in the rat hippocampus and striatum following one-trial passive training. Neuropharmacology, 21, 183-185.
- Bartholini, G. (1987) Functional neuronal relations in the basal ganglia and their clinical relevance. En: Sandler et al. (Eds). Neurotransmitter Interactions in the Basal Ganglia. New York USA: Raven Press. p. 1-29
- Bermudez-Rattoni, F., Mujica-González, M., & Prado-Alcalá, R. A. (1986) Is cholinergic activity of striatum involved in the acquisition of positively-motivated behavior?. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 24, 715-719.
- Brailowsky, S. (1995). Las sustancias de los sueños. Neuropsicofarmacología. México: Fondo de Cultura Económica. La ciencia desde México
- Brioni, J. D. & McGaugh, J. L. (1988). Post-training administration of GABAergic antagonists enhances retention of aversively motivated task. Psychopharmacology, 96, 505-510.
- Brioni, J.D. (1993). Role of GABA during the múltiple consolidation of memory. Drug Development Research, 28,3-27.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J.. (1985). Farmacología, bases bioquímicas y patológicas. 2 Ed México: Interamericana
- Bowery, N. G. (1997). Pharmacology of mammalian GABA<sub>B</sub> receptors. En: Enna S. J. & Bowery, N. G. (Eds) The GABA Receptors 2 Ed New Jersey: Humana Press p 209-236.
- Brucato, F. H., Mott, D. D., Lewis, D. V., & Swartzwelder, H. S. (1995). GABA<sub>B</sub> receptors modulate sinaptically evoked responses in the rat dentate gyrus, in vivo. Brain Research, 677, 326-332.
- Caine, E. D., Weingartner, H., Ludlow, C., Cudahy, E. A. & Wehry, S. (1981). Qualitative analysis of scopolamine induced amnesia. Psychopharmacology, 74, 74-80.
- Carlson, N. (1994). Fisiología de la conducta. Barcelona: Ariel.

- Castellano, C., Cestari, V., Cabib, S., & Puglisi-Allegra, S. (1993). Strain-dependent effects of post-training GABA receptor agonist and antagonist on memory storage in mice. Psychopharmacology, 111, 134-138.
- Castellano, C. & McGaugh, J. (1991). Oxotremorine attenuates retrograde amnesia induced by post-training administration of the GABAergic agonists muscimol and baclofen. Behavioral and Neural Biology, 56, 25-31.
- Clements, M. P., & Bourne, R. C. (1996). Passive avoidance learning in the day-old chicks is modulated by GABAergic agents. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 53, 629-634.
- Cobos-Zapalaín G. G., Salado-Castillo, R., Sánchez Alvarez, M., Quirarte, G.L., Roldán-Roldán G., Díaz Del Guante, M. A. & Prado-Alcalá R. A. (1996). High level of footshock inhibitory avoidance training prevents amnesia induced by intranigral injection of GABA antagonists. Neurobiology of Learning and Memory, 65, 202-206
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth R. H. (1984) Las bases bioquímicas de la neurofarmacología. 2 Ed México: Manual Moderno.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth R. H. (1996). The biochemical basis of neuropharmacology. 7 Ed New York: Oxford University Press.
- Cruz-Morales S. E. (1992). Interacción de los sistemas colinérgicos y gabaérgicos en memoria. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. UNAM. México.
- Cruz-Morales, S. E., Durán-Arevalo, M., Díaz Del Guante, M. A., Quirarte, G. & Prado-Alcalá, R. A. (1992). A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. Behavioral and Neural Biology, 57, 256-259.
- Cruz-Morales S. E., Quirarte G., Díaz del Guante M. A. & Prado-Alcalá R. A. (1993). Effects of GABA antagonists on inhibitory avoidance. Life Sciences, 53, 1325-1330.
- Cruz-Morales S. E., & Prado-Alcalá R. A. (1990). ¿Participa el sistema colinérgico en la memoria de un aprendizaje mediado por niveles altos de reforzamiento negativo?. Revista Mexicana de Psicología, 9, 71-75.
- Decker, M., Iran, T., & McGaugh, J. (1990) A comparison of the effects of scopolamine and diazepam on acquisition and retention of inhibitory avoidance in mice. Psychopharmacology, 100, 515-521.
- Decker, M. & MacGaugh J. L. (1991). The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory system in learning and memory. Synapse, 7, 151-168.
- Deisz, R. A. (1997) Electrophysiology of GABA<sub>B</sub> receptors. En: Enna S. J. & Bowery N. G. The GABA Receptors. (Eds). 2 Ed. New Jersey: Humana Press. p. 157-207.
- Deutsch, A. J. (1969) The physiological basis of memory. Annual Review of Psychology, 20, 85-103
- Domino, K. B. & Domino, E. F. (1976). Effects of scopolamine and metilscopolamine on acquisition and retention of rat one-way shuttle box behavior and total brain acetylcholine. Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie, 224, 248-257.

- Dubrovina, N. & Ilyutchenok, R. Y. (1995). Effects of leu-enkephalin on the memory reactivation produced by blockade of the benzodiazepine/GABA-chloride ionophore receptor complex. Brain Research, 670, 347-350.
- Dudchenko, P. & Sarter, M. (1991). GABAergic control of basal forebrain cholinergic neurons and memory. Behavioural Brain Research, 42, 33-41.
- Durán-Arevalo, M., Cruz-Morales, S. E., & Prado-Alcalá, R. A. (1990). Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? Brain Research Bulletin, 24, 1-3.
- Eichenbaum, H., Schoenbaum, G., Young, B., & Bunsey, M. (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 93, 13500-13507.
- Enna, S. J. & Bowerly, N. G. (Eds) (1997). The GABA Receptors. 2 Ed. New Jersey: Humana Press.
- Farr, S. A., Flood, J. F., & Morley, J. E. (2000). The effect of cholinergic, GABAergic, serotonergic, and glutamatergic receptor modulation on posttrial memory processing in the hippocampus. Neurobiology of Learning and Memory, 73, 150-167.
- Feria-Velasco, A. (1997). Anatomía funcional del sistema nervioso. En: UNAM y Univ. Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Eds). Actualización en fisiología. XL Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México
- Flicker, Ch, Serby, M., & Ferris S. H. (1990). Scopolamine effects on memory, language, visuospatial praxis and psychomotor speed. Psychopharmacology, 100, 243-250
- Gewiss, M. V., Marley, R. J., Thorndike, E. B., Goldberg, S. R., & Schindler, CH.W. (1994). GABA receptor-linked chloride channels and the behavioral effects of naltrexone in rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 49, 589-597.
- Gibbs, M. E., O'Dowd, B. S., Hertz, R. S., Sedman, G. L., & Ng K. F. (1996). Inhibition of glutamine synthetase activity prevents memory consolidation. Brain Research, 4, 57-64.
- Glick, & Goldfarb. (1976). Behavioral pharmacology. USA. Saint Louis: The C.V. Mosby Company.
- Gold, P. E. (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. Behavioral and Neural Biology, 46, 87-98.
- Gold, P. E. (1989). Memory modulation: neurobiological context. En: Lynch, G., McGaugh, J. L. & Weinberger, N. M. (Eds) Neurobiology of Learning and Memory. USA: The Guilford Press p 374-382
- Goodman, L., & Gilman, A. (1998). The pharmacological basis of therapeutics. 9 Ed USA: McGraw Hill.
- Guyton, A. C. & Hall, V. E. (1997). Tratado de fisiología médica México. 9º Ed Interamericana Editores. p.787-789
- Halgren, H. (1994). Physiological integration of the declarative memory system. En: Delacour, J. De. (Ed). The Memory System of the Brain USA: World Scientific

- Haroutunian, V., Barnes, E., & Davis, K. L. (1985). Cholinergic modulation of memory in rats Psychopharmacology, **87**, 206-271.
- Hilgard, R. E., & Bower, H. G. (1989). Teorías del Aprendizaje. 2 Ed. México: Trillas.
- Introni-Collison, I. B., Castellano, C., & McGaugh, J. (1994). Interaction of GABAergic and  $\beta$  noradrenergic drugs in the regulation of memory storage. Behavioral and Neural Biology, **61**, 150-155.
- Iversen, S.D. (1997). Behavioural evaluation of cholinergic drugs Life Science, **60**, 1145-1152.
- Izquierdo, I. (1989). Different forms of post-training memory processing. Behavioral and Neural Biology, **51**, 171-202.
- John, R. (1977) Mecanismos de la memoria. México: Trillas
- Kandel, E., Jessell, T. & Schwartz, J. (1996). Neurociencia y conducta. México: Prentice Hall.
- Klein, S.B. (1995). Aprendizaje: Principios y aplicaciones. 2 Ed. México: McGraw Hill.
- Kolob, B. & Whishaw, I. (1985). Fundamentos en neuropsicología humana. Barcelona España: Labor.
- Krosgaard-Larsen, P., Frouland, B. & Bjarke, E. (1997). GABA<sub>A</sub> receptor agonists, and antagonists. En: Enna, S. J. & Bowery, N. G. (Eds) The GABA Receptors. 2<sup>o</sup> Ed. New-Jersey USA: Human Press. p. 37-119.
- Kumamoto, E. (1997). The pharmacology of amino-acid responses in septal neurons. Progress in Neurobiology, **52**, 197-259.
- López Antunez L. (1979). Anatomía Funcional del Sistema Nervioso. México: Limusa.
- Magnani, M., Pozzi, O., Biagetti, S., & Dorigotti, L. (1992). Oxiracetam antagonizes the disruptive effects of scopolamine of memory in the radial maze. Psychopharmacology, **106**, 175-178.
- Maurin, S. (1978). Physiological Psychology. USA: Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs.
- McGaugh, J. L. (1973). Drug facilitation of learning and memory. Annual Review of Pharmacology, **13**, 229-241.
- McGaugh, J. L. (1989a). Involvement of hormonal and neuromodulatory system in the regulation on memory storage. Annual Review of Neuroscience, **12**, 255-287.
- McGaugh, J. L. (1989b). Retention enhancement with post-training picrotoxin lack of state dependency. Behavioral and Neural Biology, **51**, 165-170.
- McGaugh, J.L. & Cahill, L. (1997). Interaction of modulator systems modulating memory storage. Behavioral Brain Research. **83**:31-38.
- Melvin, H., Marx. (1976) Procesos del aprendizaje. México: Trillas.
- Misgeld, U., Bijak, M. & Jarolimek, W. (1995). A physiological role for GABA<sub>B</sub> receptors and the effects of baclofen in the mammalian central nervous system. Progress in Neurobiology, **46**, 423-462.

- Möhler, H., Benke, D., Benson, J., Lüscher, B., Rudolph, U. & Fritschy, J. M. (1997). Diversity in structure, pharmacology, and regulation of GABA<sub>A</sub> receptors. En: Enna, S. J. & Bowery, N. G. (Eds) The GABA Receptors 2 Ed. New Jersey: Humana Press. p. 11-36.
- Nabeshima, T., Kosawa, T., Furukawa, H., & Kameyama, T. (1986). Phencyclidine-induced retrograde amnesia in mice. Psychopharmacology, **89**, 334-337.
- Nabeshima, T., Noda, Y., Itoh, K., & Kameyama, T. (1988). Role of cholinergic and GABAergic neuronal systems in cyclohexamide-induced amnesia in mice. Pharmacology Biochemistry and Behavior, **31**, 405-409.
- Nabeshima, T., Noda, Y. & Kameyama, T. (1988). GABAergic modulation of memory with regard to passive avoidance and conditioned suppression task in mice. Psychopharmacology, **94**, 69-73.
- Nakagawa, Y., Ishibashi, Y., Yoshii, I. & Tagashira, E. (1995). Involvement of cholinergic systems in the deficit of place learning in Morris water maze task induced by baclofen in rats. Brain Research, **683**, 209-214
- Noback, Ch. R., Strominger, N. L., & Demarest, R. J. (1993). El sistema nervioso. 4ª Ed México: Interamericana-McGraw-Hill p 435.
- Obrocea, G. V. & Morris, E. M. (1998). Changes in the [K] evoked by baclofen in guinea pig hippocampus. Canadian Journal Physiology Pharmacology, **76**, 148-154.
- Ortega, A., Díaz del Guante, M. A., Prado-Alcalá, R. A., & Alemán, V. (1996). Changes in rat brain muscarinic receptors after inhibitory avoidance learning. Life Science, **58**, 799-809.
- Page, C., Curtis, M., Sutter, M., Walker, M. & Hoffman, B. (1997). Integrated pharmacology. London : Mosby International
- Paredes, R., & Agmo, A. (1991). GABA and behavior: the role of receptor subtypes. Neuroscience and Behavioral Reviews, **16**, 1-26.
- Pasantes H., Sánchez J., & Tapia R. (1991) Neurobiología Celular. México: Secretaría de Educación Pública y Fondo de Cultura Económica
- Prado-Alcalá, R.A. (1995). Serial and parallel processing during memory consolidation. En: McGugh, J., Bermúdez Rattóni, F., & Prado-Alcalá, R.A., (Eds) Learning and Memory. New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers.
- Prado-Alcalá, R.A., Cruz-Morales, S. E., & López-Miro, F. A. (1980). Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. Neuroscience Letters, **18**, 339-345
- Prado-Alcalá, R. A. & Cobos-Zapiain, G. G. (1977). Learning deficit induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. Brain Research, **138**, 190-196.
- Prado-Alcalá, R. A. & Cobos-Zapiain, G. G. (1979). Improvement of learned behavior through cholinergic stimulation of the caudate nucleus. Neuroscience Letters, **14**, 253-258.
- Quirarte, G. L., Cruz-Morales, S. E., Díaz Del Guante, M. A., García, M., & Prado-Alcalá, R.A. (1993). Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. Brain Research Bulletin, **32**, 521-524
- Rachlin, H. (1986) Introducción al conductismo moderno México: Debate.

- Reynolds, G. S. (1973) Compendio de condicionamiento operante. México: Ciencia de la Conducta.
- Rousseaux, M. (1994) Amnesia following limited thalamic lesions. En: Delacour, J. De. The Memory System of the Brain. USA: World Scientific.
- Rush, D. K., & Streit, K. (1992). Memory modulation with peripherally acting cholinergic drugs. Psychopharmacology, 106, 375-382.
- Salado-Castillo, R., Díaz del Guante, M., Alvarado, R., Quirarte, G. & Prado-Alcalá, R.A. (1996). Effects of regional GABAergic blockade of striatum on memory consolidation. Neurobiology of Learning and Memory, 66, 1-7.
- Salinas, J.A. & McGaugh, J.L. (1995). Muscimol induces retrograde amnesia for changes in reward magnitude. Neurobiology of Learning and Memory, 63, 277-285.
- Savage, U. C., Bryant, F., W., Lambert, P., & Moerschbaecher, J. M. (1996). Effects of scopolamine on learning and memory in monkeys. Psychopharmacology, 123, 9-14
- Silva, A. J. & Giese, K. P. (1998). Gene targeting: A novel window into the biology of learning and memory. En: Martínez, J. & Kesner, R. (Eds). Neurobiology of Learning and Memory. New York: Academic Press p. 90-134.
- Skinner, B., F. (1975). Registro acumulativo. Barcelona, España: Fontanella. Conducta Humana No.24
- Squire, L.R., & Davis, H.P. (1981). The pharmacology of memory: a neurobiological perspective. Annual Review Pharmacology & Toxicology, 21, 323-356.
- Swartzwelder, H. S., Tilson, H. A., McLamb, R. L., & Wilson. (1987). Baclofen disrupts passive avoidance retention in rats. Psychopharmacology, 92, 398-401.
- Tamayo, J.M. (1999). Bases moleculares de la neuropsicofarmacología. <http://psicofarmacologia-bizland.com/biol.html>.
- Veloz-Gómez, L. (1999). Interacción colinérgica y GABAérgica en una tarea de evitación inhibitoria entrenada con bajas intensidades. México: Tesis. ENEP Iztacala UNAM
- Von, Haller, G. (1974). Picología general. México: Harla.
- Wesnes, K. & Warburton, D. M. (1984). Effects of scopolamine and nicotine on human rapid information processing performance. Psychopharmacology. 82, 147-150.
- White, N. M., & Salinas, J. A. (1998). Pharmacological approaches to the study of learning and memory. En: Martínez, J. & Kesner, R.R. (Eds). Neurobiology of Learning and Memory. New York: Academic Press.
- Wolfman, C., Fin, C., Dias, M., Bianchin, M., Da Silva, R., Schmitz, P., Medina, J., & Izquierdo, I. (1994). Intra-hippocampal or intra-amygdala infusion of KN62, a specific inhibitor of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, causes retrograde amnesia in rat. Behavioral and Neural Biology, 61, 203-205
- Zola-Morgan, S. & Squire, L. R. (1993). Neuroanatomy of memory. Annual Review Neuroscience, 16, 547-563