



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN PSICOLOGÍA  
METODOLOGÍA DE LA TEORÍA E INVESTIGACIÓN CONDUCTUAL

EFECTOS DEL MIDAZOLAM SOBRE LA ADQUISICIÓN Y  
CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA.

T E S I S  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A  
LIC. GEORGINA CASTILLO ROBERTO

TUTORA PRINCIPAL:  
DRA. SARA EUGENIA CRUZ MORALES  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM.

COMITÉ TUTORAL:  
DR. JOSÉ CRISTÓBAL PEDRO ARRIAGA RAMÍREZ  
MTRA. NORMA LAURA GARCÍA SALDÍVAR  
MTRA. MARÍA REYES ALTAGRACIA GONZÁLEZ LÓPEZ  
DRA. ROSALVA CABRERA CASTAÑÓN  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM.

MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE, 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## INDICE

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1. APRENDIZAJE.....	6
1.1 APRENDIZAJE ASOCIATIVO.....	8
1.2 EVITACIÓN.....	9
2. MEMORIA.....	11
2.1 TIPOS DE MEMORIA.....	11
2.2 NEUROANATOMIA DE LA MEMORIA.....	14
3. NEUROFARMACOLOGIA.....	19
3.1 ACETILCOLINA.....	20
3.2 ACIDO GAMMA-AMINOBUTIRICO.....	23
3.3 TOLERANCIA FARMACOLÓGICA.....	29
3.4 FACTORES QUE ALTERAN LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS.....	29
4. ANTECEDENTES.....	31
5. JUSTIFICACIÓN.....	36
6. OBJETIVO GENERAL.....	37
7. METODOLOGÍA.....	37
7.1 EXPERIMENTO 1.....	40
7.2 EXPERIMENTO 2.....	43
7.3 EXPERIMENTO 3.....	45
7.4 EXPERIMENTO 4.....	47
8. DISCUSIÓN.....	49
9. CONCLUSIONES.....	54
10. REFERENCIAS.....	55

## RESUMEN

### EFFECTOS DEL MIDAZOLAM SOBRE LA ADQUISICIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA

La memoria permite el registro, almacenamiento y evocación de la información. Se ha demostrado que el sustrato neural de la memoria se debe a diferentes circuitos anatómicos a nivel cerebral que son modulados por diferentes neurotransmisores como la acetilcolina, el ácido gama-aminobutírico (GABA) y las monoaminas entre otros. La manipulación farmacológica y conductual puede modificar la actividad de los neurotransmisores para producir deterioro o facilitación de la memoria. El receptor GABAA tiene enlaces para benzodiazepinas (BZ), las cuales son usadas para tratar ansiedad, insomnio, epilepsia o como anestésicos. Las BZ producen diferentes efectos en la memoria en función del momento de administración. El uso prolongado de BZ puede desarrollar tolerancia. Por otro lado se sugiere que el estrés puede alterar alguna de las fases de memoria. Un objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del MZ en diferentes momentos de administración (pre-entrenamiento, post-entrenamiento y pre-prueba) evaluado a las 2 y 24 h en una tarea de evitación inhibitoria (EI); otro objetivo fue analizar el desarrollo de tolerancia administrando MZ 3 días consecutivos y finalmente evaluar el efecto del estrés por restricción con una administración de MZ antes del entrenamiento. Se utilizaron ratas Wistar de 250 a 300g asignados a grupos independientes n=10 con acceso libre de agua y comida, ciclos de luz 12x12 h. Se administró solución salina (S) o MZ 1 mg/kg, ip y se entrenaron en EI recibieron (1mA, 5 s). En el primer experimento se administraron S o MZ 15 min antes del entrenamiento, otros grupos recibieron S o MZ al terminar la tarea, la fase de prueba se realizó a las 2 y 24 h; se observó efecto amnésico al administrar MZ pre-entrenamiento, independientemente del momento en que se realizó la prueba, indicando que el MZ produce amnesia anterógrada. En el segundo experimento se administraron S o MZ 15 min antes del entrenamiento o 15 min antes de la prueba, la cual se realizó a las 2 y 24 h; los resultados muestran que la amnesia anterógrada producida por MZ se revierte cuando los sujetos reciben MZ en pre-prueba y se encuentran bajo las mismas condiciones farmacológicas, por lo que se observa aprendizaje ligado a estado. En el tercer experimento se realizaron 3 administraciones de S o MZ, en el tercer día fueron entrenados después de la inyección y probados a las 2 y 24 h; se observó el desarrollo de tolerancia al MZ cuando fue administrado de manera repetida previo al entrenamiento. El cuarto experimento consistió en que una hora antes de la tarea de EI los sujetos fueron sometidos a 15 min de restricción y también recibieron S o MZ 15 min antes del entrenamiento, los resultados muestran que la administración de 15 min de estrés por restricción no modifica los efectos amnésicos del MZ. Se concluye que el MZ afecta la memoria provocando amnesia anterógrada y produce efectos de aprendizaje ligado a estado; al administrar MZ de manera repetida, se induce tolerancia a los efectos amnésicos y por último el estrés por restricción no afecta la memoria. Lo anterior indica que los receptores GABAA participan en los procesos de memoria, tolerancia y aprendizaje dependiente de estado. Estos datos contribuyen al manejo de BZ con humanos y dejan la propuesta de investigar sobre el rol de otros factores estresantes en los procesos de memoria.

## INTRODUCCIÓN

La conducta de los individuos puede cambiar como resultado de una determinada experiencia, identificar estos cambios específicos es una tarea compleja ya que se tienen que precisar cuáles son los factores que intervienen y de qué manera participan para suscitar un cambio en la conducta. Es importante conocer si existe relación entre los factores de aprendizaje y su almacenamiento en la memoria, ya que los organismos están expuestos a experimentar todo el tiempo pero sólo algunas situaciones específicas son las que cambian la conducta o aprendizaje, tal vez esto pueda deberse a aspectos más concretos de la memoria. Diferentes teorías o marcos conceptuales han intentado explicar el proceso de la memoria, para ello plantean diversas posibilidades en que pueden ordenarse los eventos y mencionan las características generales de cada tipo de memoria. Se han establecido clasificaciones en función del tiempo (memoria de corto y largo plazo) y de las características de la información, etc. Se han desarrollado investigaciones para identificar las regiones del cerebro que pudieran estar implicadas en la memoria. La fisiología ha generado interrogantes y el campo de investigación se amplía con la participación de otras disciplinas como la neurología y la psicología. Se considera que la memoria está constituida de sistemas o circuitos anatómicos que son responsables de registrar, guardar y evocar información. Las investigaciones sugieren que la memoria se establece a través de subprocesos (memoria de corto y largo plazo) y que éstos a su vez pueden subdividirse. En la memoria de largo plazo se encuentra a la memoria declarativa (que incluye memoria episódica y semántica) y la memoria no declarativa (que comprende a la memoria implícita o de trabajo), que son controlados por diferentes estructuras o sistemas de estructuras (Prado-Alcalá, 1991). El almacenamiento y evocación de información implica cambios en el sistema nervioso, dado que hay una alteración en los circuitos neurales que participan en la percepción, ejecución, pensamiento y planificación de eventos (Carlson, 1994). Por lo anterior es conveniente definir algunos conceptos básicos que están implicados en el proceso de la memoria, la relación que se establece con en el sistema nervioso central y algunas regiones que particularmente han sido correlacionadas con procesos de memoria y aprendizaje.

Para ello, este texto presentará una evaluación del efecto del MZ en diferentes momentos de administración: pre-entrenamiento y post-entrenamiento, a fin de obtener evidencia sobre la memoria; así mismo se evaluará el posible desarrollo de aprendizaje ligado a estado administrando MZ en entrenamiento y pre-prueba evaluando a las 2 y 24 h en una tarea de evitación inhibitoria (EI); por otro lado, se analizará si la administración de MZ durante 3 días consecutivos produce tolerancia y finalmente se evaluará el efecto del estrés por restricción con una administración de MZ antes del entrenamiento.

## 1. APRENDIZAJE

El aprendizaje es un proceso en el que la conducta cambia a través de la experiencia y donde las características del cambio registrado en la actividad no puedan explicarse con fundamento en las tendencias innatas de respuesta, la maduración o estados transitorios del organismo (Hilgard & Bower, 1976).

El aprendizaje es una característica básica de la conducta, su principal función es desarrollar conductas adaptativas al medio ambiente que cambia continuamente. De acuerdo con Carlson (1994) existen diferentes tipos de aprendizaje:

1) *Aprendizaje perceptivo* es la capacidad para aprender a reconocer estímulos, la principal función es identificar y categorizar objetos y situaciones, así como distinguirlos de otros similares (establecimiento de cambios en los sistemas sensoriales del cerebro).

2) *Aprendizaje asociativo* o estímulo-respuesta es la capacidad para realizar una conducta ante un determinado estímulo (establecimiento de conexiones entre los sistemas sensoriales y los motores). Por ejemplo, el aprendizaje motor es una forma especial del aprendizaje estímulo-respuesta, ya que intervienen estímulos sensoriales que promueven cambios en los circuitos neurales que controlan el movimiento (establecimiento de cambios en los sistemas motores), esto se refiere al aprendizaje de tipo “asociativo”.

3) Existe otro tipo de aprendizaje, el “no asociativo”, que se refiere a los cambios en la conducta a través de la experiencia con estímulos individuales (aprendizaje de un solo estímulo). *La habituación, sensibilización e impronta* son ejemplos de aprendizaje no asociativo.

El aprendizaje implica un cambio en el mecanismo potencial o neural de la conducta, este cambio es relativamente duradero y es el resultado de la experiencia con eventos ambientales relacionados específicamente con la conducta en cuestión (Domjan, 1998).

La habituación y sensibilización regulan las respuestas reflejas ante los estímulos ambientales. La habituación es la reducción de la respuesta (como resultado de la repetición continua) a un mismo estímulo o situación. En la sensibilización se fortalece la respuesta ante una amplia variedad de estímulos, que sigue a un estímulo intenso o nocivo; la sensibilización no depende del momento exacto en que se da el estímulo intenso respecto al

estímulo más débil, es decir, no requiere de la asociación entre los dos estímulos. La disminución en la intensidad de la conducta provocada se denomina efecto de habituación. La característica más importante de la habituación es que es específica al estímulo que se presenta repetidamente. Los efectos de habituación se han clasificado según exhiban recuperación espontánea o no. Si hay recuperación espontánea sustancial se denomina habituación a corto plazo, y si no se encuentra una recuperación espontánea significativa se denomina habituación a largo plazo. Pueden observarse otros efectos como el relacionado con la frecuencia del estímulo, la intensidad o la exposición a un segundo estímulo y el tiempo entre la presentación de estímulos. El incremento en el nivel de respuestas se denomina efecto de sensibilización. La sensibilización está determinada por la intensidad del estímulo y los factores temporales que participan en el fenómeno de habituación; los efectos de la sensibilización también pueden ser a corto o largo plazo, además los efectos de la sensibilización no son tan específicos a un estímulo particular (Kandel, Schwartz, & Jessell, 2001).

La impronta es otro de los tipos de aprendizaje no asociativo, descrito como el proceso de aprendizaje único que involucra dos funciones: A) formar un vínculo con la madre inmediatamente después del nacimiento y B) más tarde formar una preferencia sexual para un compañero adecuado. El primer proceso se refiere a la impronta filial y el segundo refiere a la impronta sexual donde existe un programa filogenético que determina cuando un organismo joven tiene que aprenderlo, también existen períodos sensibles que hacen que el proceso de aprendizaje de impronta sea irreversible y adaptativo. La impronta es una forma de aprendizaje que se adquiere rápidamente, sin embargo sólo puede adquirirse durante un período crítico temprano del desarrollo post-natal, implica una estrecha relación entre el desarrollo programado y el aprendizaje (Hilgard & Bower, 1976, Kandel *et al.*, 2001).

## 1.1 APRENDIZAJE ASOCIATIVO

El aprendizaje asociativo se refiere al aprendizaje donde pares de estímulos están “asociados” (combinaciones de estímulos), y el cambio en la conducta que ocurre en respuesta a uno de los estímulos depende de cómo haya sido presentado previamente en relación con el otro. Ejemplos de aprendizaje asociativo son el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante.

1.1.1 El condicionamiento clásico fue descrito por Pavlov en 1927 como un proceso por el cual la capacidad de desencadenar una respuesta se transfiere de un estímulo a otro, es decir, se establece una asociación entre estímulos (E-E), desencadenando respuestas, condicionadas e incondicionadas que son muy similares. La característica principal de este tipo de condicionamiento es que el reforzamiento parcial disminuye la fuerza de la respuesta, a diferencia del condicionamiento operante (Ardila, 1988).

1.1.2 En el condicionamiento operante la respuesta se define en términos de una determinada operación o manipulación del ambiente. El condicionamiento operante implica la relación de un estímulo reforzante o reforzador con una respuesta, es decir, si a la ocurrencia de una operante sigue la presentación de un reforzador, la probabilidad de ocurrencia de la respuesta aumenta. Una operante es una parte identificable de la conducta, se estudia como un acontecimiento que aparece espontáneamente con una frecuencia dada; la frecuencia con que ocurre un acontecimiento específico determina la fuerza de la operante la cual puede presentar cambios en la tasa de ocurrencia; la operación del reforzamiento es la presentación de un reforzador en una relación temporal con un estímulo o bien con una respuesta y, el reforzador se define así por su poder de aumentar la probabilidad de la respuesta (Skinner, 1979). El condicionamiento operante también se denomina instrumental ya que implica la presentación periódica de un estímulo o evento significativo. La conducta instrumental provoca la aparición del estímulo, y el estímulo consecuente se denomina reforzador (Domjan, 1998).

El reforzamiento ya sea positivo o negativo aumenta la probabilidad de ocurrencia de una respuesta. En el caso del reforzamiento negativo, la respuesta que pospone (evitación) o termina (escape) con la presentación de un estímulo aversivo aumenta su probabilidad de ocurrencia.

## 1.2 EVITACIÓN

La evitación es una forma de condicionamiento instrumental en donde la respuesta previene la presentación de un estímulo aversivo, implica una contingencia entre una respuesta instrumental y un estímulo motivador o reforzante. Es importante señalar que en el condicionamiento de evitación el estímulo motivador es un evento aversivo o “desagradable” y la contingencia entre la respuesta instrumental y el estímulo motivador es negativa (Domjan, 1998).

1.2.1 La “evitación inhibitoria” es un tipo de respuesta que pospone o impide la ocurrencia de un estímulo aversivo (Iversen & Lattal, 1991). Dado que la tarea de evitación implica inhibir un conjunto de actividades por parte del animal para posponer el evento aversivo, es conveniente denominar a la tarea como evitación inhibitoria más que pasiva (Netto & Izquierdo, 1985).

La tarea de evitación inhibitoria en una cámara donde se administra un choque eléctrico, es uno de los procedimientos más usados para estudiar los efectos de tratamientos farmacológicos sobre el aprendizaje y la memoria, algunas de las ventajas de usar esta tarea son que la respuesta es rápidamente aprendida, la memoria es estable por un tiempo importante después del entrenamiento y los resultados obtenidos son similares a los observados usando otras tareas. El entrenamiento, en este procedimiento, inicia al colocar al animal en un compartimiento y si pasa al otro compartimiento oscuro recibe un choque, después se retira al animal de la cámara y pasado un periodo de tiempo determinado el animal es probado en la cámara de evitación inhibitoria para ver si aprendió a suprimir la respuesta. El tiempo que tarda en pasar al compartimiento donde recibió el choque es la medida de su ejecución o *latencia de retención*. Las latencias altas son interpretadas como una buena retención y las latencias bajas indican una pobre retención o bien la presencia de amnesia. Por estas características la tarea de evitación inhibitoria es un procedimiento adecuado para estudios relacionados con la modulación de memoria (Bammer, 1982; Gold, 1986).

Las respuestas de exploración son habituales en las ratas, al exponer al animal a un estímulo aversivo en un compartimiento, usualmente los sujetos evitan pasar al otro lado por el recuerdo de ese estímulo, el tiempo que tarda en pasar de un compartimiento a otro

dependerá de la intensidad del estímulo, la duración, las condiciones del sujeto antes del entrenamiento, etc. Todas estas variables intervienen en la formación del aprendizaje y los procesos de memoria, es decir los diferentes tipos de aprendizaje establecen una relación específica con el tiempo en que suceden los estímulos y respuestas de un organismo creando además una relación con los mecanismos de memoria. En la investigación con animales se han estudiado mecanismos de memoria que permiten explicar las funciones básicas del aprendizaje, así como estudiar las bases fisiológicas de la memoria a través de diferentes manipulaciones experimentales como lesiones o administraciones de drogas en diferentes regiones cerebrales.

## 2. MEMORIA

La memoria es un proceso complejo, en una de sus definiciones es considerada como “la facultad de retener y recordar experiencias pasadas”; sin embargo este proceso involucra un grupo de conceptos interrelacionados que participan de diferente manera en la formación de nuevos aprendizajes. La memoria, consta de tres fases:

Fase de adquisición que consiste en adquirir o recibir la información acerca de los estímulos y las respuestas para codificarla en el sistema nervioso.

Fase de consolidación es una etapa de estabilización donde la información, queda almacenada por un periodo de tiempo.

Fase de recuperación donde la información almacenada puede ser recuperada cuando sea necesaria.

Generalmente los estudios de aprendizaje se centran en la fase de adquisición ya que se manipulan las condiciones de adquisición, manteniendo constantes las condiciones de retención y recuperación. En contraste, los estudios de memoria mantienen constantes las condiciones de adquisición y se varían los intervalos de retención y las condiciones de recuperación (Domjan, 1998).

### 2.1 TIPOS DE MEMORIA

El tema de la “memoria” plantea varios aspectos, por ejemplo cómo es recibida y almacenada la información, cómo se organiza en el cerebro y si puede establecerse una división temporal. En primera instancia se estableció una distinción entre memoria de corto plazo y de largo plazo. Posteriormente en función del tiempo de almacenamiento de la información se clasificó a la memoria en 3 tipos:

- Memoria inmediata, se refiere a la memoria que se mantiene por segundos.
- Memoria de corto plazo, se refiere a la memoria que se mantiene por minutos y
- Memoria a largo plazo, puede mantenerse por días o años.

Sin embargo esta clasificación con base en criterios temporales no consideraba otros aspectos, ya que al observar en algunos pacientes pérdida de memoria parcial o solo a eventos específicos, fue necesario explorar y especificar otros factores que intervienen para

el almacenamiento de la memoria, como por ejemplo, el tipo de información que se almacena.

Una clasificación que utiliza como criterio el tipo de información, es la relacionada con memoria espacial. En la memoria a corto plazo hay un tipo de subsistema denominado memoria operativa que se encarga de mantener activa la información necesaria para la ejecución de una tarea en curso, este tipo de memoria puede reajustarse en diferentes momentos. La memoria espacial es un ejemplo de memoria operativa donde se puede almacenar una cantidad limitada de elementos (lugares), la información almacenada es muy resistente al olvido y la forma en que se almacena considera representaciones discretas de cada elemento o lugar (Olton, 1979 en Aguado, 1990).

Considerando las características de la información, la capacidad y el tiempo de almacenamiento se ha propuesto una clasificación de la memoria, diferenciando entre *memoria explícita o declarativa* (memoria episódica y semántica) y *memoria implícita o no declarativa* (memoria de procedimiento o por experiencia). Los dos tipos de memoria se incluyen en la memoria de largo plazo, pero se refieren a diferentes representaciones y no pueden ser sustituidas una por otra, ya que la información de ambas es codificada y organizada de diferente forma. Existen diferencias en el tipo de información registrada, cómo es usada y qué sistema neural es requerido.

1. *Memoria explícita o declarativa*, es aquella donde se pueden tener directamente todos los datos de la recolección “voluntaria” que se hizo de la información y puede expresarse (Kandel *et al.*, 2001). La memoria declarativa se subdivide en:

1.1. *Memoria episódica*, que se refiere a los eventos que ocurren a lo largo de la vida, es la información correspondiente a un episodio o período de tiempo específico, es la acumulación de eventos de la vida de un individuo.

1.1.1. *Memoria de trabajo*: contiene la información para responder en un ensayo o tarea, su duración es limitada ya que las respuestas al estímulo están basadas en lo que el sujeto recuerda del haber estado expuesto al estímulo de muestra del ensayo pero no le es útil para el siguiente ensayo (en procedimientos de igualación a la muestra).

1.2. *Memoria semántica* que se refiere al conocimiento del mundo, al significado de las palabras; este sistema representa organizadamente la información, considerando cada factor, concepto y vocabulario, el contenido de la memoria semántica es explícito.

1.2.1. *Memoria de referencia*: su duración es mayor que la de trabajo, debido a que se refiere a las características constantes de una tarea; se apoya en las características generales del procedimiento que permanecen constantes de un ensayo al siguiente.

2. *Memoria implícita, no declarativa o memoria de procedimiento*, se refiere al tipo de información que se adquiere pero que está involucrada con un procedimiento, se incluye en esta memoria todo lo relacionado con el aprendizaje por experiencia y hábitos. La memoria de procedimiento es también considerada y expresada a través de la activación de diversas estructuras.

2.1. *Memoria de habilidad*, se refiere a las habilidades motoras y cognoscitivas.

2.2. *Memoria "priming" o preparación*, se refiere a la facilitación del procesamiento de la información a su previa presentación.

2.3. *Memoria asociativa*, se refiere a la asociación entre estímulos o respuestas.

2.4. *Memoria no asociativa*, se refiere a la adquisición por la simple presentación de estímulos.

Esta colección de habilidades depende de sistemas de procesamiento específico; el trabajo experimental sugiere que el sistema nervioso central reorganiza y distingue entre los dos tipos de procesos o sistemas de memoria. La memoria declarativa se distingue por considerar la información en función del tiempo y capacidad, está implicada la región temporal medial; por otro lado, en la memoria de trabajo no se divide el tipo de información ya que son tareas o ensayos de procedimientos (Squire, 1987).

La memoria no declarativa o de procedimiento puede considerar simultáneamente información diversa como datos, tiempo y lugares de eventos, es decir, implica operaciones cognoscitivas modificables donde la nueva información es adaptada por los procesos de aprendizaje, sin embargo no siempre puede darse esta adaptación en todos los sistemas de procesamiento de información. El acceso al sistema de procesamiento puede estar limitado; es un aspecto de memoria que se desarrolla lentamente, es más automática que la memoria declarativa y más concreta.

Las clasificaciones antes mencionadas señalan en primera instancia la complejidad del sistema de memoria, los diferentes tipos de organización de información, los factores que intervienen antes, durante y después de eventos específicos, así como la importancia del tiempo en que suceden los eventos para facilitar o dificultar su almacenamiento.

Dentro de los mecanismos generales de la memoria, pueden existir fuentes de error identificadas como interferencias que dificultan el recordar situaciones o eventos específicos. La amnesia es considerada como una falla en la recuperación de la información, y está relacionada con el tipo de evento y el tiempo en que sucede, de tal manera que se pueden señalar los siguientes tipos de amnesia:

- Amnesia anterógrada. Es una deficiencia en la capacidad de aprender nuevos hechos.
- Amnesia retrógrada. Es la incapacidad para recordar hechos y eventos de periodos previos al trauma (Bermúdez & Prado-Alcalá, 2001). De manera similar Domjan (1998), señala que este tipo de amnesia consiste en un error para recuperar la información necesaria durante la fase de retención, es decir los sujetos no pueden recordar lo que pasó antes del evento traumático, debido a que los efectos de la droga interfieren en la consolidación.

El aprendizaje y la memoria se han asociado con la participación de diferentes neurotransmisores como la acetilcolina (ACh), el ácido gamma amino butírico (GABA), dopamina (DA), noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT).

## 2.2 NEUROANATOMÍA DE LA MEMORIA

Las investigaciones sobre el proceso de memoria han aportado datos que permiten hacer clasificaciones de este proceso en función del tiempo de almacenamiento de la información, el tipo de información y las características específicas de dicha información. Estas diferenciaciones se atribuyen a la participación de diversos sistemas cerebrales. A través de estudios animales (con monos) se demostró que la memoria implica una función cerebral distinta a las que participan en otras habilidades perceptuales y cognoscitivas. Para tratar de identificar las regiones que intervienen en el proceso de memoria, se han realizado estudios de “resonancia magnética” en primates y en humanos vivos, así como también se realizan tareas que permiten evaluar la memoria

De acuerdo con Squire (1987), la memoria de largo plazo se clasifica en memoria declarativa (explícita) y de procedimiento o no declarativa (implícita). Los diferentes procesos de memoria son mediados por distintos sistemas funcionales del cerebro.

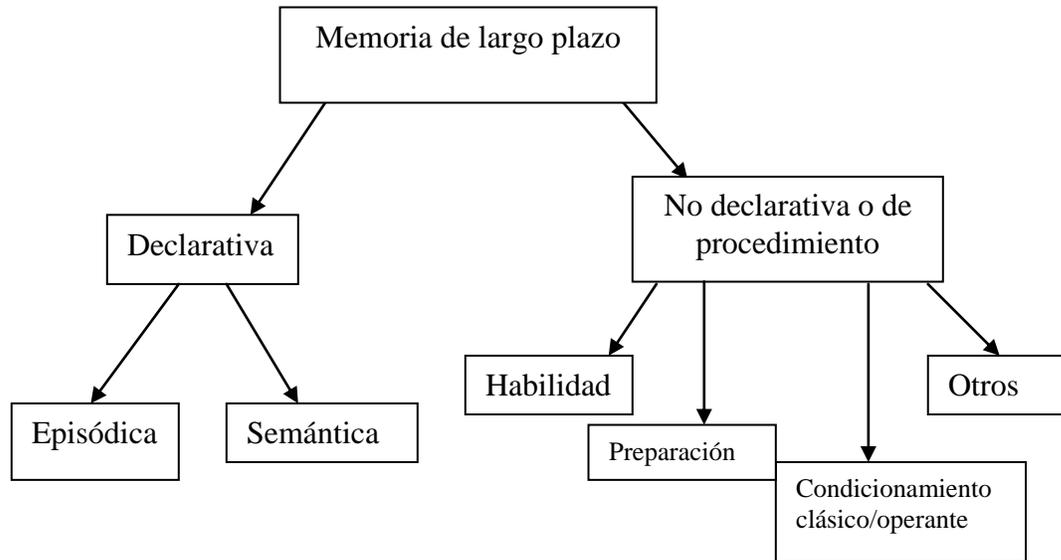


Figura 1. Clasificación de la memoria a largo plazo, de acuerdo con lo planteado por Squire (1987).

### 2.2.1 Memoria declarativa.

En la memoria declarativa participa la región del lóbulo temporal medial, el hipocampo es considerado como región mediadora de la memoria declarativa. El sistema de memoria declarativa incluye a la corteza cerebral, la región parahipocampal y el mismo hipocampo. La principal función del sistema de memoria hipocampal es su sistema de conexión de tres componentes, con un conjunto de conexiones bidireccionales entre la corteza y la región parahipocampal y otro conjunto de conexiones bidireccionales entre la región parahipocampal y el hipocampo. Estos tres sitios y sus dos vías de comunicación proporcionan el marco básico de información acerca de lo que pasa a través del sistema y cómo trabaja el mismo.

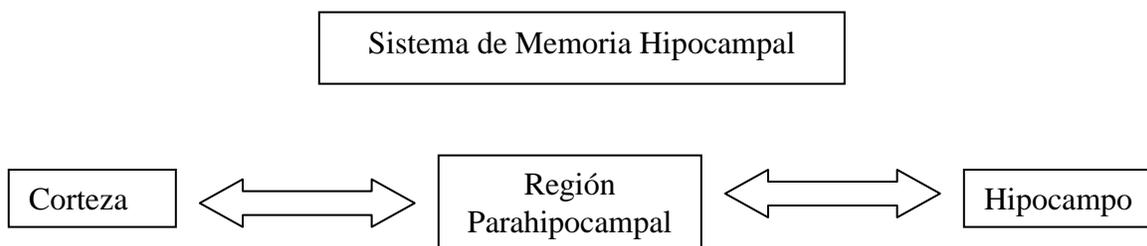


Figura 2. Sistema de memoria en hipocampo.

Las áreas de la corteza cerebral proporcionan información específica a las estructuras del lóbulo temporal medial, esta información es manipulada en dos etapas y el producto de esta manipulación tiene como objetivo influir las mismas áreas corticales que proporcionan la entrada original (Valadez, 2006). El primer mensaje que se transporta desde estas estructuras anatómicas hasta aquellas que tienen la función de aumentar el almacenamiento del lóbulo temporal medial puede cambiar la organización o por otro lado modificar la naturaleza de la representación cortical.

Sólo la información sensorial preprocesada alcanza las estructuras del lóbulo temporal medial, pero esta entrada puede ser virtualmente toda el área de procesamiento cortical de alto orden. La información sensorial inicia primeramente en áreas corticales, después pasa a través de múltiples estados secundarios y terciarios del procesamiento sensorial que es segregado por cada modalidad sensorial.

La región parahipocampal comprende a tres zonas corticales distintas y adyacentes, que son la corteza entorrinal, corteza perirrinal y corteza parahipocampal, cada una de estas zonas ha sido caracterizada como área de entrada donde ocurre la asociación neocortical y esto constituye un importante sitio de convergencia de la entrada neocortical hacia el hipocampo (McGaugh, Bermúdez-Rattoni & Prado-Alcalá, 1995).

Las conexiones de entrada a la región parahipocampal aparecen en prácticamente todas las áreas de asociación de alto orden, incluyendo partes importantes de la corteza prefrontal, corteza parietal, corteza temporal, así como en la corteza olfatoria. Una importante similitud de las áreas perirrinales y parahipocampal es que ambas se proyectan hacia partes de la corteza entorrinal; estas áreas se conectan con subdivisiones del hipocampo y tiene una mejor proyección posterior a las mismas áreas neocorticales que proporcionan una mejor entrada.

El hipocampo está compuesto de varios sub-espacios que se distinguen de acuerdo a los tipos y formas de células, y las conexiones anatómicas de estas células. Estos sub-espacios incluyen un área conocida como hasta o Cuerno de Ammon (que a su vez está formada por dos subdivisiones conocidas como CA1 y CA3), el giro dentado y el subiculum. El hipocampo está conectado en otra área del cerebro con dos vías que tienen rutas bidireccionales. Una de estas rutas es la vía mejor conocida como axones del fórnix, cada transportador conecta entradas y salidas con el hipocampo y varias áreas subcorticales.

Esta ruta de conexión soporta múltiples influencias modulatorias sobre el hipocampo, incluyendo el control atencional que comunica al hipocampo cuando ha sido activado y el control rítmico que controla este ciclo de procesamiento. La otra ruta de comunicación para el hipocampo es la vía de la región parahipocampal; esta ruta en contraste al trayecto del fórnix, transporta información específica de entrada al hipocampo desde una variedad de áreas corticales así como salidas a partir del hipocampo hacia las mismas áreas corticales.

La organización de las proyecciones consiste en que las partes más anteriores de la región parahipocampal proyectan hacia áreas corticales anteriores y las áreas parahipocampales más posteriores hacia los sitios corticales posteriores. Las áreas de asociación cortical proporcionan información específica a la región parahipocampal e hipocampo y cada uno es influido por la salida de estas áreas de procesamiento (Eichenbaum, 2002).

#### 2.2.2 Memoria no declarativa o de procedimiento.

El sustrato anatómico que media la memoria de procedimiento es altamente complejo y solamente se han explorado algunas regiones cerebrales. El área cortical motora trabaja en relación estrecha con dos estructuras subcorticales principales, el estriado y el cerebelo; cada una de estas áreas tiene una función específica con las proyecciones para la corteza y la terminación es en la ruta del tálamo hacia la corteza (Squire, 1987).

El estriado es una estructura subcortical formada por los núcleos caudado y putamen que participa en la función de la regulación motora y se conecta con la corteza y tálamo. El estriado recibe las entradas corticales desde toda la corteza cerebral y estas proyecciones son capaces de activar cambios en la respuesta. El estriado proyecta principalmente hacia otros componentes de los ganglios basales y al tálamo, cada proyección regresa para ambas cortezas premotora y motora y la corteza de asociación prefrontal (Netter & Brass, 1994).

El patrón de conectividad anatómica sugiere que el estriado no está involucrado directamente en el control de las salidas motoras, sin embargo, las conexiones para la corteza premotora y prefrontal sugieren que el circuito estriatal-cortical contribuye a las funciones motoras superiores incluyendo la planeación y ejecución de secuencias motoras complejas.

El cerebelo es una estructura que se distingue particularmente por la regularidad de sus circuitos internos. Esta estructura tiene una subdivisión y cada parte está asociada con las diferentes funciones sensoriales y motoras; el cerebelo es la entrada para otras áreas corticales como el estriado y las áreas sensoriales y motoras proyectadas a través del núcleo del tallo cerebral dentro de la parte lateral de la corteza cerebelar.

El cerebelo es una vía independiente que establece comunicación con el tálamo, esta estructura interviene en el proceso de aprendizaje de respuestas condicionadas ya que al lesionar esta estructura se ha observado deterioro en el aprendizaje y dificultad para aprender nuevas tareas (Squire, 1987).

La memoria emocional ha sido relacionada con amígdala, ya que algunos estudios muestran que cuando hay un daño específico en amígdala hay decremento de las respuestas a los estímulos afectivos. En estudios con humanos que presentan daño bilateral en amígdala se observa deterioro en el reconocimiento de expresiones emocionales en fotografías de rostros humanos; datos electrofisiológicos tanto en monos como en humanos muestran que las neuronas en amígdala responden a rostros, también se ha demostrado la participación de amígdala en tareas donde se observan rostros de miedo versus rostros neutrales. Tanto el tálamo como la amígdala están implicados en las tareas de memoria emocional; un ejemplo es el aprendizaje de respuestas de miedo ante un simple estímulo auditivo, un estímulo auditivo entra por vía del tallo cerebral al circuito a través del tálamo y llega a las áreas de la amígdala, se proyectan hacia el núcleo central; las salidas se distribuyen hacia las áreas subcorticales controlando un gran rango de conductas relacionadas con el miedo, incluyendo respuestas autónomas y motoras (Eichenbaum, 2002).

### 3. NEUROFARMACOLOGÍA

A través de la investigación celular se ha podido identificar la participación específica de algunas estructuras y cuáles de sus conexiones sinápticas más cercanas pueden mediar una conducta o los efectos de un fármaco determinado en ésta. A través de técnicas moleculares y conductuales se pueden obtener datos sobre la naturaleza de la comunicación interneuronal (excitación, inhibición o modulación), ya que esta comunicación tiene lugar en un sistema de transmisión central específico, a través de neurotransmisores. Los impulsos nerviosos provocan reacciones a través de la liberación de neurotransmisores químicos específicos.

Los neurotransmisores, son sustancias químicas que se localizan en las vesículas de las terminales nerviosas y son liberadas en las sinapsis. Su acción puede variar según el contexto de los sucesos sinápticos; una de las propiedades funcionales de los neurotransmisores consiste en establecer conexiones interneuronales específicas. Los neurotransmisores participan en transmisiones de tipo excitador, inhibitorio o modulador (Hardman & Limbird, 1996).

En la transmisión excitatoria se abren los canales para permitir la entrada de iones produciendo despolarización con una reducción de la resistencia eléctrica de la membrana; es decir se incrementa la probabilidad de generar un potencial de acción. En la transmisión inhibitoria los movimientos de iones selectivos generan hiperpolarización y disminuye la resistencia de la membrana, es decir disminuye la probabilidad de producir un potencial de acción (Kandel *et al.*, 2001).

En la transmisión moduladora se desarrolla una acción “condicional”, donde una sustancia transmisora intensifica o suprime la reacción de la neurona blanco con relación a los transmisores excitadores o inhibidores clásicos, a la vez que se origina un mínimo cambio en el potencial de membrana o en la conducción iónica cuando se aplica de manera aislada (Hardman & Limbird, 1996).

Entre los neurotransmisores más estudiados en relación con memoria y aprendizaje se encuentran: la acetilcolina, las monoaminas (noradrenalina, dopamina y serotonina), el ácido gama-aminobutírico (GABA), glicina, ácido aspártico y ácido glutámico. A través de la manipulación farmacológica se puede modificar la actividad de estos neurotransmisores

en los diferentes receptores, ya sea en la síntesis, liberación, almacenamiento, en las vías de transmisión o en los sitios de acción de los receptores específicos.

Un neurotransmisor después de ser liberado, interactúa con un componente específico de la membrana de la célula que se denomina “receptor” (Bowman & Rand, 1985). Un agonista es una sustancia o droga que actúa sobre receptores específicos y desencadena una respuesta parecida a un neurotransmisor específico y el antagonista es una sustancia o droga que impide o bloquea la acción o fijación de un neurotransmisor o de sus agonistas, al actuar sobre los sitios de los receptores específicos (antagonista competitivo) o en un sitio diferente del receptor (antagonista no competitivo).

A través de manipulaciones farmacológicas y conductuales se pueden obtener datos de la participación de neurotransmisores específicos en el sistema nervioso central, periférico o del funcionamiento endocrino y su relación con la memoria y el aprendizaje. En algunas investigaciones se ha observado deterioro en la memoria dependiendo del tipo de tratamiento experimental, el método o procedimiento en el entrenamiento y la interacción entre el entrenamiento y el tratamiento. Es decir, que la asociación o interacción de variables y el tiempo de exposición a estas, puede producir cambios en la memoria, ya sea induciendo facilitación o amnesia, dependiendo de los procedimientos conductuales o farmacológicos utilizados (McGaugh, 1973; Szuran, Pliska, Pokorny & Welzl, 2000).

### 3.1 ACETILCOLINA

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor que se libera de las neuronas colinérgicas, actúa en los receptores de las placas terminales del músculo esquelético, en músculos lisos, en las células ganglionares del sistema nervioso autónomo y en células del SNC. La acetilcolina puede adoptar diversas conformaciones, ya que es una molécula flexible; en su conformación “transoide” estimula los receptores muscarínicos y en conformación “cisoide” estimula los receptores nicotínicos. Este neurotransmisor se libera en las terminales de los nervios colinérgicos, se difunde al espacio sináptico e interactúa con los receptores en la membrana postsináptica, ocasionando un movimiento del Na al interior de la célula y una salida del K de la célula; el resultado es una despolarización localizada (Cooper, Bloom & Roth, 1996).

### 3.1.1. Síntesis y metabolismo

La acetilcolina se sintetiza a partir de la colina y acetilcoenzima A, la reacción es catalizada por la enzima acetiltransferasa de colina. La acetiltransferasa se sintetiza en los ribosomas del cuerpo de la célula nerviosa y es transportada a los axones terminales por el flujo axoplásmico como proceso dependiente de los neurofilamentos; la acetilcolina se sintetiza principalmente en los terminales de los axones (Bowman & Rand, 1985).

La acetiltransferasa puede provenir de la glucosa, del citrato o del acetato (por la acetatotiocinasa), es sintetizada en las mitocondrias, se encuentra en el citoplasma sinaptosómico; la colina se transporta al cerebro por la sangre en forma libre y de fosfolípido, atraviesa las membranas celulares por mecanismos de alta y baja afinidad. Hay tres mecanismos por los cuales se puede disponer de sustancias que desacoplan al transmisor: la difusión, la degradación enzimática y la recaptura. La difusión suprime a alguno de los mensajeros químicos que puede ser determinante para que la hendidura sináptica elimine al transmisor. La degradación enzimática de la sustancia transmisora se utiliza por el sistema colinérgico, la enzima extracelular es la acetilcolinesterasa, esta enzima hidroliza al neurotransmisor ACh en colina y acetato, contribuye para la terminación rápida de la señal y se concentra densamente en la lámina basal de los pliegues de la unión en la fibra muscular. Como los receptores se concentran en la superficie muscular y la esterasa se fija a la membrana basal en el interior de los pliegues, una vez que se disocia una cantidad de ACh del receptor ésta se diluye en los pliegues de unión y se hidroliza en colina y acetato, es decir que una función de la esterasa es interrumpir rápidamente el mensaje sináptico. También se recaptura la colina antes de que se aleje demasiado de la hendidura sináptica por la difusión, la colina retenida e hidrolizada por la esterasa se mantiene en una baja concentración y después se devuelve al terminal nervioso colinérgico por un mecanismo de recaptura de alta afinidad (Cooper *et al.*, 1996; Kandel *et al.*, 2001).

### 3.1.2. Distribución anatómica

La ACh se localiza tanto en cuerpos celulares como en terminaciones nerviosas; la mitad de la ACh se encuentra en las vesículas sinápticas y la otra parte en el citoplasma sinaptosómico. Es transmisor en los ganglios autónomos, las sinapsis postganglionares

parasimpáticas y la unión neuromuscular. Tomando en cuenta la actividad excitadora en las terminaciones nerviosas sensoriales, se sugiere que la ACh puede actuar como un transmisor sensorial en receptores térmicos, en las fibras terminales del gusto y en los quimiorreceptores. La ACh se localiza en el sistema nervioso central y periférico, predominando en la corteza, en la zona reticular del tronco encefálico, en el estriado, en el tálamo, en hipocampo, núcleo medial septal, en el sistema reticular activador ascendente, en las vías visuales y auditivas, en las células piramidales de la corteza motora, en las motoneuronas de la médula espinal y en las uniones neuromusculares (Cooper *et al.*, 1996).

### 3.1.3. Tipos de receptores

La ACh tiene la estructura molecular apropiada para interactuar con cualquier tipo de receptor ya que es flexible y puede adoptar varias conformaciones. Los receptores de acetilcolina tienen propiedades diferentes en varios sitios anatómicos. La ACh interactúa en 2 diferentes tipos de receptores:

1) Los receptores *nicotínicos* son receptores postsinápticos que ligan a la acetilcolina, la nicotina se liga exclusivamente a este receptor y mimetiza la acción de la ACh. Los receptores nicotínicos están compuestos por aminoácidos, producen una respuesta neuronal casi inmediata después de la unión del ligando. Los receptores nicotínicos se distribuyen en tres estados conformacionales básicos: cerrado, abierto y desensibilizado, esta distribución depende de la presencia de los ligandos acetilcolina o nicotina, estos receptores participan en médula suprarrenal, se encuentran en la unión neuromuscular y en los ganglios del sistema nervioso autónomo (Cooper *et al.*, 1996; Jiménez, Bascarán, García-Portilla, Sáiz, Bousoño & Bobes, 2004; Kandel *et al.*, 2001).

2) Los receptores *muscarínicos*, se encuentran en la periferia y en el sistema nervioso central donde hay células colinérgicas como en el estriado. En el músculo liso, son estimulados selectivamente por la muscarina. Los agentes muscarínicos (oxotremorina) inhiben la liberación de ACh en hipocampo y corteza (Cooper *et al.*, 1996). Se ha confirmado que hay actividad muscarínica en neostriado dorsal (Galárraga *et al.*, 1999).

Se ha encontrado que el sistema colinérgico central está implicado en la modulación de procesos de aprendizaje y memoria tanto en animales como en humanos. Los agonistas colinérgicos como la oxotremorina, fisostigmina, arecolina, nicotina y 4-aminopiridina,

mejoran el aprendizaje y la memoria. Por el contrario, los antagonistas colinérgicos deterioran las ejecuciones relacionadas con aprendizaje y memoria, entre ellos se encuentran la atropina y la escopolamina. En una investigación realizada para evaluar los efectos de agonistas colinérgicos se administraron 5 diferentes fármacos (oxotremorina, fisostigmina, arecolina, nicotina y 4-aminopiridina) por vía intraperitoneal inmediatamente después del entrenamiento en una tarea de evitación pasiva de un ensayo, al comparar los resultados se observó mejoría en la retención probada a las 72 h (Haroutunian, Barnes & Davis, 1985).

Se realizó un estudio para explorar los efectos de los antagonistas colinérgicos administrando diferentes fármacos con el objetivo de bloquear el efecto de los agonistas, encontrándose que las administraciones de oxotremorina y fisostigmina (0.125, 0.250 y 0.500  $\mu\text{Mol/kg}$ ) post-entrenamiento facilitan la retención de respuestas de evitación inhibitoria en ratones, y que al administrar atropina y metilatropina se bloquean los efectos iniciales ya que se encontró que la mejoría en la retención producida por oxotremorina y fisostigmina fue revertida por atropina, no así por la administración post-entrenamiento de metilatropina ya que no hubo deterioro significativo en las retenciones medidas a las 24 h (Baratti, Huygens, Miño, Merlo & Gardella, 1979). La facilitación producida por oxotremorina y fisostigmina se debe a que son agonistas colinérgicos y favorecen la liberación de ACh; la atropina pudo revertir el efecto de los agonistas porque atraviesa barrera hematoencefálica y actúa en el sistema nervioso central disminuyendo la liberación de ACh a diferencia del antagonista metilatropina que no puede atravesar la barrera y no producen cambios significativos en las concentraciones de ACh.

El hemicolinium-3 (HC-3) es un inhibidor de la síntesis de ACh que deteriora el aprendizaje espacial, sus efectos de déficit pueden ser revertidos por inhibidores de acetilcolinesterasa (fisostigmina) y algunos agonistas de los receptores muscarínicos como la oxotremorina, arecolina, aceclidina y pilocarpina (Hagan, Jansen & Broekkamp, 1989).

### 3.2. ACIDO GAMMA-AMINOBUTIRICO

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) fue sintetizado en 1883 como producto del metabolismo de microbios y plantas, pero hasta 1950 se identificó en mamíferos como

elemento del sistema nervioso central y otros tejidos, con excepción de la retina. El GABA, es un transmisor inhibitorio, por estas propiedades inhibitorias, el GABA se ha sido relacionado de manera directa o indirecta con desordenes de tipo neurológico y psiquiátrico. Se ha encontrado relación de GABA con enfermedades de Parkinson, epilepsia, esquizofrenia, discinesias y demencia senil, así como en otro tipo de desórdenes conductuales como la ansiedad.

### 3.2.1 Síntesis

Es importante señalar que en el cerebro hay una gran cantidad de ácido glutámico, precursor de GABA. El ácido gama-aminobutírico pertenece al grupo de los aminoácidos y es un neurotransmisor central que media el balance entre neuronas excitatorias e inhibitorias, se forma a partir del aminoácido L-glutamato. La enzima que hace esta conversión es la glutamato descarboxilasa y utiliza como cofactor al 5-fosfato de piridoxal (Bowman & Rand, 1985).

Son 3 enzimas primarias involucradas en el metabolismo de GABA,

- 1) La enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD), la responsable de la conversión del glutamato a GABA.
- 2) La enzima GABA-Transaminasa (GABA-T), la responsable de la conversión del glutamato a GABA por transaminación, esta reacción es reversible.
- 3) La enzima semialdehído succínico dehidrogenasa (SSADH), es responsable de la transformación de GABA a  $\gamma$ -hidroxibutarato (GHB), y este a su vez se puede transformar en GABA por transaminación.

El GABA actúa con receptores de membrana postsinápticos y presinápticos, al administrar agonistas algunos receptores cambian selectivamente la permeabilidad de la membrana a los iones de cloro. Este cambio hiperpolariza la neurona receptora en el caso de una inhibición postsináptica y de una despolarización en el caso de una inhibición presináptica. Además de la transaminación y el inicio del ciclo de Krebs, el GABA es precursor de una gran variedad de derivaciones, un ejemplo es la transformación de GABA a  $\gamma$ -hidroxibutarato (GHB), donde este a su vez se puede transformar en GABA por transaminación (Cooper *et al.*, 1996).

### 3.2.2 Distribución anatómica

En los mamíferos el GABA se encuentra en altas concentraciones en el cerebro. El GABA aparece con una distribución discreta en el sistema nervioso central (SNC). Las neuronas GABAérgicas se encuentran distribuidas en algunas estructuras como la corteza, el estriado, la amígdala, el hipocampo, el cerebelo y la retina; también se han identificado algunas guías GABAérgicas como la estríato-nigral y la cerebelo-vestibular (Brailowsky, 1995). Algunas de las funciones de regulación de GABA pueden ser controladas por las neuronas centrales o bien por las neuronas periféricas; la mayoría están bajo el control de las neuronas centrales (Enna & Bowery, 1997). El GABA participa en el metabolismo de las células cerebrales, siendo intermediario en el ingreso de glutamato en el ciclo del ácido tricarbóxico, por lo cual su distribución es muy amplia.

El ácido gama-aminobutírico se libera en los líquidos de perfusión del cuarto ventrículo del gato después de estimular las fibras de Purkinje del cerebelo. También es liberado por la superficie de la circunvolución lateral posterior de la corteza cerebral occipital durante la inhibición cortical producida estimulando eléctricamente la superficie del cerebro o del núcleo geniculado lateral (Bowman & Rand, 1985).

### 3.2.3 Receptores a GABA

Existen diferentes tipos de receptores GABA. Los más conocidos son los receptores GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>. Los receptores GABA<sub>A</sub> están ligados a canales de cloro que se abren ante la liberación de GABA.

Los receptores GABA<sub>A</sub> están conformados por un repertorio heterogéneo de 17 subunidades, que a su vez se agrupan por su similitud en 6  $\alpha$ , 4  $\beta$ , 4  $\gamma$ , 1  $\delta$  y 2  $\rho$ ; al combinar estas subunidades se forma una estructura pentámera con diversos subtipos de receptores, por lo cual el receptor de GABA es un sitio de acción para una amplia variedad de drogas, incluyendo barbitúricos, etanol, neuroesteroides, benzodiazepinas, picrotoxina, bicuculina y penicilina. El receptor GABA<sub>B</sub> es un receptor metabotrópico acoplado a las proteínas G y su activación abre canales de potasio; los receptores GABA<sub>B</sub> son selectivos a baclofen y presentan falta de sensibilidad con bicuculina. Se ha encontrado que los receptores libres de GABA<sub>A</sub> contienen subunidades que pueden ser idénticas o muy similares, proponiendo al grupo de receptores GABA<sub>C</sub>, el cual es sensible al ácido-cis-4-

aminopentano-2-oico, estos receptores han sido identificados en la retina. Los receptores GABA<sub>C</sub> son homoméricos conteniendo subunidades  $\rho 1$  y ligandos con los canales de cloro (Enna & Bowery, 1997).

Una propiedad de relevancia farmacológica del GABA es que cerca del 80% de todos los receptores GABA<sub>A</sub> contienen el sitio de enlace clásico a benzodiazepinas, los subtipos de receptores sensibles a las BZ se caracterizan por una combinación de las subunidades  $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2$ ,  $\alpha 2 \beta 3 \gamma 2$ ,  $\alpha 3 \beta 3 \gamma 2$ , además de otras combinaciones de receptores que contienen  $\alpha 5 \beta x \gamma 2$  y  $\alpha x \beta x \gamma 2 \delta$  que participan en los sitios de enlace clásico pero son más abundantes.

De acuerdo a la afinidad y eficacia de las benzodiazepinas clásicas en los ligandos pueden actuar con alta afinidad y alta eficacia (fungiendo como agonistas totales o bien como agonistas parciales).

Entre los agonistas de los receptores GABA<sub>A</sub> se encuentra el muscimol y la isoguvacina; entre los antagonistas se encuentra la bicuculina, la estricnina y picrotoxina.

La bicuculina es un alcaloide convulsionante que bloquea las reacciones hiperpolarizantes de GABA y de la estimulación eléctrica sobre células corticales, hay una interacción competitiva sobre receptores de GABA, es decir la bicuculina es antagonista a GABA porque bloquea las respuestas a GABA y a la estimulación nerviosa inhibitoria. La picrotoxina es una droga convulsionante, es una mezcla equimolar de picrotina inactiva y picrotoxina activa, puede bloquear solo algunas respuestas a GABA. La estricnina es una droga convulsionante, no bloquea respuestas de los nervios inhibitorios que parecen utilizar GABA como transmisor (Bowman & Rand, 1985).

Con los neuroesteroides (pregnanolona, y sulfato de dehidroepiandrosterona) se ha encontrado que actúan como neuromoduladores de la acción de los barbitúricos actuando como antagonistas GABA<sub>A</sub>. La inyección intracerebroventricular post-entrenamiento de dehidroepiandrosterona en diferentes intervalos mejora la retención en una tarea de evitación activa cuando se administra inmediatamente; pero no tiene efecto cuando se administra a los 90 o 120 min en ratones (Brioni, 1993).

Se han evaluado los efectos cognoscitivos de los agonistas y antagonistas GABAérgicos en diferentes procedimientos conductuales (Tomaz, Ventura & Leite, 1982). La inyección sistémica del agonista GABAérgico muscimol después del

entrenamiento induce un deterioro significativo sobre la retención de la tarea de evitación inhibitoria (Castellano & Pavone, 1988). El THIP (tetrahidroisosesazolo 5,4-C piridin-3ol) que es otro agonista GABA<sub>A</sub> se ha encontrado que tiene un efecto amnésico al administrarlo después del entrenamiento en roedores (Brioni, 1993).

Las inyecciones post-entrenamiento de los antagonistas picrotoxina y bicuculina mejoran el aprendizaje en ratas en tareas de laberinto en T (Breen & McGaugh, 1961 en Brioni, 1993) y en el laberinto de Hebb-Williams (Garg & Holland, 1968 en Brioni, 1993).

La picrotoxina post-entrenamiento en ratones facilita la ejecución en evitación activa (Bovet, McGaugh & Oliverio, 1966). Estos datos coinciden con lo reportado por Garín (2000) quien evaluó en ratas Wistar los efectos de los antagonistas picrotoxina y bicuculina y 2 ansiolíticos (diazepam y buspirona) utilizando una tarea de evitación inhibitoria de un ensayo y de ensayo múltiple; los resultados indican efectos facilitatorios por la administración de bicuculina y picrotoxina. Adicionalmente se ha encontrado que los efectos de facilitación en memoria por la administración de bicuculina dependen de la intensidad del choque y que de igual manera la bicuculina puede revertir la amnesia inducida por escopolamina cuando las intensidades de choque son altas (García, 2002).

Se ha encontrado que el efecto facilitador de la bicuculina en los procesos de consolidación en la tarea de evitación inhibitoria es dependiente de la intensidad del estímulo y de la dosis (García, 2002), con dosis bajas que no generan convulsiones se puede observar este efecto de facilitación (Brioni & McGaugh, 1988). Los estudios de Nabeshima *et al.* (1988), muestran datos contradictorios sobre los efectos de bicuculina y picrotoxina ya que estos investigadores encontraron deterioro de la retención en ratones y que los efectos amnésicos fueron revertidos por muscimol y baclofen. Por otro lado García (2002) reporta deterioro de memoria en ratas Wistar al administrar picrotoxina en un procedimiento de evitación inhibitoria y con un choque de 1mA.

#### 3.2.4 Benzodiazepinas

Las benzodiazepinas (BZ) son un grupo de fármacos que actúan en los receptores GABA<sub>A</sub>, en los sitios conocidos como receptores benzodiazepínicos, dentro del grupo de las BZ se han considerado como agonistas clásicos al diazepam, flunitrazepam, triazolam, alprazolam, clonazepam, midazolam y clordiazepóxido, los cuales se utilizan con

frecuencia en la práctica clínica para tratar ansiedad, insomnio, espasmos musculares, epilepsia, además de ser usados como preanestésicos; estos fármacos se distribuyen con rapidez hacia el cerebro, su vida media es rápida (el midazolam se elimina en un promedio de tres horas). En humanos se han identificado efectos de sedación, reducción de ansiedad y amnesia anterógrada hasta por 6 horas, también se observa una correlación de las BZ clásicas con los efectos fisiológicos y bioquímicos del estrés (Enna & Bowery, 1997; Hardman & Limbird, 1996).

Los agonistas pueden participar de dos maneras: como agonistas parciales o bien como agonistas inversos. Los *agonistas parciales* tienen menor eficacia que los agonistas clásicos y entre estos se encuentra el bretazenil y abecarnil con propiedades anticonvulsivantes y ansiolíticas. Por otro lado el grupo de *agonistas inversos* entre los que se incluyen las  $\beta$ -carbolinas, tienen efectos funcionales opuestos a los agonistas clásicos y decrementan la acción de GABA en los receptores GABA<sub>A</sub>; inducen ansiogénesis, efectos convulsivantes y ansiedad severa en diferentes especies animales. Entre los *antagonistas* de los receptores benzodiazepínicos está el flumazenil, este se utiliza para revertir la sedación inducida por las benzodiazepinas en pacientes anestesiados o en los casos de sobredosis, debido a que compite en los receptores específicos, también puede disminuir el síndrome de abstinencia y revertir la tolerancia (Enna & Bowery, 1997; Uriarte, 2003).

Los receptores a benzodiazepinas se han encontrado en diversas estructuras o sistemas como el complejo amigdaloides o amígdala, región estriatal, hipocampo y corteza (Priest *et al.*, 1979).

De acuerdo a la vida media de las BZ se clasifican en: de acción prolongada, entre las que se encuentra el diazepam, clordiazepóxido y flunitrazepam, de acción intermedia como el flurazepam y lorazepam y de acción ultracorta, entre las que se encuentra el triazolam y el midazolam (Malamed, 1996).

### 3.2.5 Midazolam

El midazolam (MZ) es usualmente usado como pre anestésico o en intervenciones quirúrgicas, para tratar la epilepsia y puede producir tolerancia. Tiene una acción depresora sobre el sistema nervioso central con propiedades sedantes, ansiolíticas, amnésicas, anticonvulsivantes y relajantes musculares. El nombre químico del midazolam es la 8-

cloro-6-(2-fluorofenil)-2metil-4H-imidazol [1,5-a] [1,4]-benzodiazepina. Después de la administración sistémica, su absorción es rápida y precisa en el tracto gastrointestinal, la iniciación de sus efectos se produce aproximadamente a los 15 min con un efecto pico entre 30 y 60 min; y con un tiempo de recuperación de los efectos de 2 h; la vida media de eliminación es de 3 h. El MZ es metabolizado en el hígado a  $\alpha$ -hidroxi-midazolam y es excretado por la orina (Hardman & Limbird, 1996).

### 3.3 TOLERANCIA FARMACOLÓGICA

La tolerancia farmacológica es la disminución de la respuesta a un fármaco debido a una exposición previa, es decir la tolerancia es un cambio cuantitativo en la sensibilidad al fármaco, el grado de tolerancia puede variar en la disminución de los efectos. Para conservar los efectos iniciales del fármaco utilizado es necesario incrementar la dosis. Tolerancia cruzada es una interacción medicamentosa donde un fármaco induce el metabolismo de otro, la eliminación del fármaco original aumentará y disminuirá su efecto farmacológico induciendo el metabolismo del segundo, es decir es el resultado de administrar un fármaco que produce disminución de la respuesta (como efecto a ese fármaco específicamente) y posteriormente administrar otro fármaco diferente al primero y obtener efectos similares de tolerancia a este segundo fármaco. La tolerancia cruzada puede darse solo para algunos efectos (Goldstein, Aronow & Summer, 1979; Hardman & Limbird, 1996).

Tolerancia aguda, consiste en realizar una sola administración de fármaco y obtener efectos de tolerancia sin hacer otras administraciones (Goldstein *et al.*, 1979).

### 3.4 FACTORES QUE ALTERAN LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS.

Otro aspecto que es importante considerar en neurofarmacología son algunos factores que pueden modificar el efecto de las drogas en la conducta. A continuación se analizan los más importantes.

a) Administración de fármacos pre-entrenamiento. Algunos estudios indican que el aprendizaje es facilitado cuando se administra un fármaco al sujeto antes de ser entrenado

en alguna tarea. Por ejemplo las administraciones pre-entrenamiento de pentilenetetrazol o la administración pre-entrenamiento de anfetaminas (2mg/kg) en tareas de evitación inhibitoria facilitan adquisición pero no la retención probada 5 días después (McGaugh, 1973).

b) Administración de fármacos post-entrenamiento. La administración de algún fármaco después de haber recibido entrenamiento en alguna tarea conductual puede modificar el aprendizaje. En un estudio de McGaugh en 1968 administró a ratones sulfato de estriquina en varios tiempos después de ser entrenados en una tarea de discriminación visual, los resultados mostraron que la retención aumentó cuando se administró estriquina 60 minutos después del entrenamiento. El efecto de los fármacos sobre la memoria es un proceso dependiente del tiempo, la producción de amnesia retrógrada por estriquina es un efecto de la administración post-entrenamiento.

c) Vías y sitios de administración. La vía de administración desempeña un papel importante ya que la absorción del fármaco puede resultar más rápida, más lenta e incluso puede variar la distribución de éste. La administración de fármacos puede ser por vía *enteral* (oral) o *parenteral* (subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebral, etc.). Se pueden observar efectos de aumento o deterioro de memoria y aprendizaje dependiendo de la región de estimulación. La administración intramuscular o intravenosa puede ser más o menos dolorosa en función de la dilución del fármaco administrado y la irritación que este produce.

d) Intensidad de estímulos. Los estímulos son eventos del medio ambiente que pueden utilizarse para controlar un tipo de respuesta. Los estímulos pueden ser positivos o negativos, se puede graduar la intensidad de un estímulo sonoro en decibeles o variar el color, tamaño, luminosidad y tiempo de presentación o administración de electrochoques, tiempo de permanencia en situaciones aversivas, el tipo de tarea o la magnitud entre otras; cualquiera de estos estímulos puede asociarse con la administración de drogas antes o después de la realización y evaluación de tareas.

e) Especies de animales. En los procedimientos de investigación conductual se utilizan diferentes sujetos experimentales como: roedores, monos, perros, gatos, aves, entre otros.

En investigación farmacológica conductual se ha trabajado preferentemente con roedores (ratones, ratas, cuyos...), ya que se ha encontrado que presentan sensibilidad a diferentes

fármacos y que al administrar una o varias drogas, los animales presentan cambios conductuales en tareas de aprendizaje y memoria. Los resultados son diferentes en función de la especie que se utilice.

#### 4. ANTECEDENTES

El sistema GABAérgico se ha relacionado con procesos de memoria y aprendizaje. Se han encontrado receptores específicos a benzodiazepinas en diferentes estructuras (estriado, hipocampo, corteza) y se ha observado que los efectos en memoria varían dependiendo del sitio de recepción (Enna & Bowery, 1997).

En investigaciones conductuales se ha encontrado que las BZ (tales como el midazolam, diazepam y flunitrazepam, entre otros), afectan el proceso de memoria, la magnitud y duración de la amnesia depende de la droga, la dosis y la vía de administración así como del tipo de tarea que se realice (George, & Dundee, 1977; Lister, 1985).

Se ha identificado la participación de amígdala en la modulación de memoria y se ha encontrado que las BZ deterioran la consolidación de memoria cuando se administran en núcleo basolateral pero no induce amnesia cuando se administra en el núcleo central (Tomaz, Dickinson-Anson & McGaugh, 1992). También se ha reportado que el diazepam causa amnesia en ratas en tareas de evitación inhibitoria cuando se inyecta en núcleo basolateral pero no en núcleo central de la amígdala (De Souza-Silva & Tomaz, 1995, citado en Squire & Kosslyn, 1998). La inyección de MZ en amígdala basolateral deteriora la respuesta de evitación condicionada e hipoalgesia condicionada (Harris & Westbrook, 1995, citado en: Squire & Kosslyn, 1998). Los mecanismos dependientes de amígdala y su participación en la memoria se han relacionado con la modulación por BZ, ya que las administraciones de antagonistas GABAérgicos (como la bicuculina) bloquean la amnesia inducida por la administración sistémica del MZ (Dickinson-Anson, Mesches, Coleman & McGaugh, 1993). En otro estudio Dickinson y McGaugh (1993) administraron MZ en amígdala previo al entrenamiento para probar sus efectos amnésicos en una tarea de evitación inhibitoria en ratas, realizaron la prueba de retención a las 48 h y observaron que hubo deterioro de memoria. Dickinson-Anson y McGaugh (1997) encontraron que la administración de MZ indujo amnesia anterógrada y que fue bloqueada por bicuculina. En

la investigación realizada por Itoh, Nabeshima y Kameyama (1991), se compararon los efectos de 6 diferentes fármacos que actúan a nivel de receptores GABA, utilizando el laberinto elevado en cruz encontraron que todas las drogas inducen deterioro en el aprendizaje y la memoria, pero que el efecto que producen en la memoria es diferente dependiendo de la dosis administrada.

En otros estudios se ha demostrado que BZ tales como el diazepam pre-administrado en tareas de memoria episódica en humanos produce amnesia anterógrada (Lister, 1985) y de manera similar el MZ administrado intraperitonealmente (ip) previo al entrenamiento produce amnesia anterógrada independientemente de que aumenten o disminuyan los reforzadores (Salinas, Dickinson-Anson & McGaugh, 1994).

Diferentes investigaciones han encontrado que las BZ deterioran la memoria, cuando se realizan tareas conductuales como las de evitación inhibitoria o laberinto elevado en T, lo cual indica que las BZ participan en el proceso de adquisición de la memoria, ya que al administrar sistémicamente alguna BZ antes de la realización de una tarea se producen cambios en la memoria; sin embargo estos efectos pueden ser bloqueados por un antagonista si se administra después de realizar una tarea (Gómez-Romero, González-López, García-Saldívar, Arriaga & Cruz-Morales, 2006). Los efectos de las BZ sobre la memoria generalmente han sido evaluados con administraciones previas al entrenamiento, y a través de tareas conductuales como laberinto elevado en "T" y evitación inhibitoria; con base en los resultados obtenidos se ha sugerido que las BZ pueden afectar el almacenamiento de memoria; esto implicaría que algunas BZ como el MZ sólo tienen efecto en memoria si se administra antes de ejecutar una tarea (amnesia anterógrada) y que estos efectos pueden observarse al realizar las pruebas de retención.

En un estudio realizado para probar los efectos del MZ en la tarea de evitación inhibitoria en ratas (2.5 mA), se administró MZ (1mg/kg ip) 15 min antes del entrenamiento, la retención fue medida a los 15 min y se realizó la prueba a las 2 ó 24 h, el MZ produjo amnesia anterógrada en todos los grupos, independientemente del tiempo en que la retención fue evaluada (Ochoa-Galván, González-López, Arriaga & Cruz-Morales, 2001). En otros grupos que recibieron MZ antes del entrenamiento y de la prueba realizada 24 h después, se observó amnesia anterógrada pero el efecto fue menos significativo: estos

datos sugieren que el aprendizaje ligado a estado puede tener un papel importante en el efecto amnésico de las benzodiazepinas (Ochoa *et al.*, 2001).

El término de *aprendizaje ligado a estado* o bien *aprendizaje dependiente de estado* se refiere a que la información adquirida en un “estado alterado” del sistema nervioso central esta inaccesible para recordar cuando se regresa al estado normal y solo puede ser recordada la información cuando el estado alterado es reintroducido (Overton, citado en McIntyre & Gunter, 1979). El estado alterado puede ser producido por varios agentes farmacológicos cuya acción química produce cambios en la memoria. En estudios con ratas se ha encontrado que una baja estimulación eléctrica en el núcleo caudado puede producir dependencia de estado (McIntyre & Gunter, 1979).

De acuerdo con Jârbe (citado en Kumar, Ramalingam & Karanth, 1994) el término dependencia del estado se refiere a que una conducta aprendida en un estado particular puede recordarse más fácilmente bajo el mismo estado o condiciones en las que se presentó el aprendizaje. Al administrar diferentes dosis de fenitoína (20, 40 y 60mg/kg i.p.) en una tarea de evitación inhibitoria se observaron efectos de dependencia de estado.

En una tarea de evitación inhibitoria en ratas se administró insulina (5 IU/kg) antes del entrenamiento y salina antes de la prueba y se observaron efectos de deterioro, este efecto fue revertido por la re-administración de insulina antes de la prueba, señalando así un aprendizaje dependiente de estado (Ahlers, Gordon & Riccio, 1991)

Las BZ pueden desarrollar diversos efectos en función de la dosis y frecuencia de uso. El término de tolerancia farmacológica se refiere a la disminución de la respuesta en animales o humanos después de una previa administración de droga o algunas sustancias relacionadas (Iversen & Latal, 1981). Además se considera que el efecto de tolerancia es un término utilizado para describir la reducción de la eficacia conductual y no lleva implicaciones para los mecanismos subyacentes, ya que se ha demostrado el desarrollo de tolerancia a los efectos sedantes, anticonvulsivantes y acciones ansiolíticas de las BZ (File, 1985).

Los efectos protectores del estrés pueden ser mediados por un incremento en los niveles cerebrales de receptores agonistas benzodiazepínicos. El estrés no controlado causa una variedad de patologías en modelos animales y humanos, incluyendo déficits en aprendizaje instrumental, el estrés induce analgesia, inmunosupresión y ulceración gástrica.

Varios sistemas neuroquímicos muestran cambios en el registro siguiente a la exposición incontrolada de estrés, incluyendo reducción de dopamina, incremento en los niveles del ácido dihidroxifenilacético en regiones de corteza frontal y mesocortical.

Muchas de las alteraciones conductuales y neuroquímicas son producidas por el compromiso de un sistema de neurotransmisión (noradrenalina, dopamina y serotonina) y pueden ser prevenidas con precursores o compuestos donde incrementa la actividad de dicho neurotransmisor. Más específicamente, la noradrenalina, dopamina, serotonina y GABA pueden bloquear o revertir estos déficits.

Las secuelas patológicas de la exposición al estrés pueden ser aminoradas por cualquier incremento farmacológico de neurotransmisión GABAérgica. Cada estrategia de afrontamiento incluye la habilidad para alterar el conjunto, duración, intensidad o patrón de una experiencia aversiva (Drugan, Basile, Ha & Ferland, 1994).

Se ha demostrado que la exposición a diferentes estresores ya sea de tipo psicológicos o como los choques eléctricos y el nado forzado, pueden modular los procesos de aprendizaje y memoria, en la adquisición, consolidación, retención y recuperación en diferente manera y sugieren la participación de mecanismos opioides y no-opioides en los procesos dependiendo del tipo de estrés. El estrés por choque (2mA) administrado pre y post-entrenamiento y pre-prueba induce facilitación de la memoria, el estrés psicológico (ver y oír a los sujetos que recibieron choque) pre-entrenamiento induce facilitación y el estrés por nado forzado (5 min) pre-prueba provoca deterioro; los efectos dependen del tiempo de la exposición al estrés así como a su efecto agudo (Kaneto, 1997).

Al generar estrés por choque eléctrico pre y post-entrenamiento y pre-prueba usando una tarea de evitación inhibitoria se observó facilitación de la memoria en ratones, la mejoría en memoria se presentó al evaluar a las 24, 48, 72 y hasta 96 h; sin embargo los efectos de facilitación desaparecen cuando la exposición al choque fue realizada con 2 ó 3 horas de diferencia con respecto al entrenamiento, estos efectos de mejoría fueron revertidos por la administración de escopolamina ya que se afectó la ejecución en los grupos que recibieron el estrés por choque antes y después del entrenamiento (Jodar, Takahashi & Kaneto, 1996).

Por otro lado Stillman, Shukitt-Hale, Levy y Lieberman, (1998) evaluaron la memoria espacial bajo dos condiciones de estrés agudo por restricción y frío utilizando el

laberinto radial para evaluar la ejecución de ratas macho después de haber sido expuestos a dos condiciones de estrés y a una condición controlada de restricción normotérmica. Se observaron efectos significativos ya que hubo un decremento en la ejecución en ambas condiciones de estrés, de acuerdo con sus resultados se observó que el estrés por restricción y frío deteriora la ejecución en tareas de memoria y que este deterioro está relacionado con la severidad del estrés al que fueron sometidos.

Se ha considerado que el estrés está vinculado con las tareas de aprendizaje y memoria produciendo efecto de mejoría o deterioro en la ejecución y que estos efectos están en función del tipo e intensidad del estresor así como del tiempo en que se administra, por lo que sería conveniente explorar si hay algún efecto del estrés por restricción en administración aguda al evaluar memoria en una tarea de evitación inhibitoria aunado a la administración de MZ.

Otro neuroesteroide que participa en la memoria y el aprendizaje es la hormona adrenocorticotropina (ACTH), que es liberada de la hipófisis anterior de acuerdo al grado de alerta o estrés que acompañan las experiencias del aprendizaje (Gold & Delanoy, 1981). La relación es baja cuando la cantidad de este neuromodulador es moderada; después de un entrenamiento con experiencia de alerta o estresor, cantidades bajas de la ACTH junto con epinefrina, facilitan la consolidación. Con cantidades mayores las sustancias tienen efectos opuestos, es decir se observa amnesia; esto es explicado por la liberación de B-endorfina que puede ser revertido por antagonistas de los receptores opiáceos (Izquierdo, 1994).

## 5. JUSTIFICACION.

Dado que el proceso de memoria sucede en diferentes fases (adquisición, retención y recuperación), los efectos de los fármacos pueden variar en relación al tiempo en que estos son administrados, ya sea antes o después de realizar la tarea o antes de la prueba.

Como las investigaciones en su mayoría se han centrado en explorar el proceso de memoria administrando diferentes fármacos y por diferentes vías antes del entrenamiento, pudiera sugerirse que las BZ afectan a la memoria: específicamente los efectos del MZ han sido evaluados con administración pre-entrenamiento en tareas conductuales, sin embargo no se cuenta con datos comparativos sobre los efectos que pudiera tener la administración sistémica del MZ en diferentes tiempos de administración en relación con el entrenamiento en la tarea experimental (pre y post-entrenamiento) así como el posible efecto de la administración del MZ antes de evaluar la tarea (pre-prueba). Por lo que en este estudio se pretende explorar el efecto de la administración del MZ antes del entrenamiento (amnesia anterógrada) y después del entrenamiento (amnesia retrógrada), en una tarea de evitación inhibitoria. Se estudiará si los efectos de la administración del MZ son dependientes de estado (para lo cual el MZ se administrará antes del entrenamiento y antes de la prueba). Finalmente se evaluará si varias administraciones de MZ antes del entrenamiento desarrollan tolerancia.

El trabajo de Jodar *et al.* (1996) plantea que el estrés facilita la memoria al evaluar con una tarea de evitación inhibitoria, independientemente de si la administración del estrés es pre o post-entrenamiento o pre-prueba, tal vez este efecto generalizado de mejoría se debe a que el estresor (choque eléctrico) es parecido a la tarea en que fueron entrenados o bien que el estresor pudo ocasionar una disminución en la actividad locomotora, aunque los autores señalan que las latencias de retención no se debieron a conductas de congelamiento.

El estrés está relacionado con los procesos de aprendizaje y memoria, por lo que se evaluará el efecto de 15 minutos de estrés por restricción sobre una tarea de evitación inhibitoria con y sin la administración de MZ en el entrenamiento y realizando la prueba a las 24 horas.

## 6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del MZ en diferentes momentos: de administración (pre-entrenamiento, post-entrenamiento y pre-prueba) y de prueba a las 2 y 24 h. en una tarea de evitación inhibitoria (EI) en grupos independientes en ratas.

## 7. METODOLOGÍA

### Sujetos

Se utilizaron 200 ratas Wistar macho de 250 a 300gr. Alojadas en cajas individuales con acceso libre de comida y agua, permanecieron al menos 2 días en cuarto de alojamiento con períodos de luz oscuridad de 12 h. Los sujetos fueron asignados a grupos independientes de 10 sujetos cada uno de manera aleatoria.

### Drogas

Midazolam (Roche) en la dosis de 1mg/kg de peso administrado por vía intraperitoneal. Solución salina al 0.9 % en dosis de 1ml/kg de peso administrado por vía intraperitoneal.

### Aparatos

Cámara de evitación Gemini (San Diego Instruments), consta de dos compartimentos separados por una compuerta, el piso cuenta con barras metálicas de acero inoxidable. El compartimento de seguridad (iluminado) y el compartimento de castigo (oscuro), provisto con barras en el piso para administrar choques eléctricos de 1 mA por 5 segundos. La cámara estaba conectada a un programa de computadora proporcionado por el proveedor que permitió el control del evento experimental, el registro de los datos y la administración del choque.

Figura 3. CAMARA GEMINI



## **Restricción**

Se emplearon contenedores de acrílico con orificios para respiración y ranuras que permitían la colocación de una placa para adaptar la longitud del contenedor al tamaño del sujeto.

Figura 4. CONTENEDOR PARA RESTRICCIÓN



## **Evitación Inhibitoria.**

### **-Entrenamiento**

Los sujetos fueron entrenados bajo condiciones de obscuridad, al inicio de la sesión se colocaba a cada sujeto en el *compartimento de seguridad* de la cámara donde tuvieron un período de adaptación de 10 s, al término de este período se encendía de manera automática una lámpara interna y simultáneamente se abría la compuerta que comunica con el otro compartimento de castigo para que el sujeto pudiera cruzar libremente; al pasar al compartimento oscuro se cerraba automáticamente la compuerta y se administraba a través de las barras del piso un choque eléctrico con intensidad de 1 mA durante 5s, el tiempo que tardaba cada sujeto en pasar de un compartimento a otro, fue registrado por el programa (*latencia de adquisición*). Aquellos sujetos que tardaban más de 100 s para pasar de un compartimento a otro fueron eliminados.

### **-Prueba**

Los sujetos fueron probados bajo condiciones de obscuridad y se colocaban en el compartimento de seguridad de la cámara con un período de adaptación de 10 s, al término de este período se encendía nuevamente la luz interna y se abría la compuerta que comunica con el otro compartimento, en esta fase no se administraba choque, se registraba

el tiempo que tardaban en pasar de un lado a otro (*latencia de retención*); y si la rata no pasaba al otro compartimento antes de 600 s, se daba por terminada la prueba.

#### **-Restricción**

Los sujetos fueron sometidos a 15 min de restricción de movimiento ajustando con las placas de acrílico al tamaño de cada sujeto. El tiempo de restricción se comenzó a contar a partir de que el animal estaba adentro del contenedor y asegurado con cinta adhesiva para prevenir el escape, 60 min antes del entrenamiento en evitación inhibitoria.

#### **Procedimiento**

Se siguió el mismo procedimiento de evitación inhibitoria, los tratamientos se administraron ip, antes o después del entrenamiento la droga o solución salina dependiendo de las diferentes situaciones experimentales.

#### **Análisis Estadístico**

Se realizaron análisis independientes para las latencias de adquisición y retención por medio de ANOVAS y una prueba *post hoc* cuando se encontraron diferencias significativas.

## 7.1 EXPERIMENTO 1. Efectos del midazolam sobre la memoria.

Objetivo: Evaluar el efecto de la administración de MZ antes o después del entrenamiento de evitación inhibitoria sobre la ejecución evaluada a las 2 ó 24 h.

### a) Administraciones Pre-Entrenamiento

#### Procedimiento

Cuatro grupos de Ss recibieron solución salina o MZ 15 minutos antes del entrenamiento en una tarea de evitación inhibitoria, los Ss se probaron a las 2 h y 24 h (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos de la administración de MZ antes del entrenamiento. S= salina, MZ= midazolam, 2 ó 24 = tiempo (h) en realizar la prueba después del entrenamiento.

FASE DE ENTRENAMIENTO	FASE DE PRUEBA
15 MIN PRE-ENTRENAMIENTO	TIEMPO DE PRUEBA
S 2	2 h
MZ 2	2 h
S 24	24 h
MZ 24	24 h

#### Resultados

En las latencias de adquisición no se encontraron diferencias significativas entre los grupos realizando la prueba a las 2 ó 24 h respecto a sus grupos control (salina).

En las latencias de retención se encontraron diferencias estadísticamente significativas debidas al  $MZF(1,36) = 6.66, p < 0.05$ , no se detectaron diferencias para el tiempo en que se realizó la prueba, ni en la interacción (tratamiento x tiempo de prueba).

Se observa un efecto amnésico en los grupos que tuvieron una administración de MZ antes del entrenamiento, independientemente del momento en que se realizó la prueba ( $p < 0.05$ ), es decir el MZ provoca amnesia anterógrada ya que hay deterioro en la memoria y este deterioro persiste al pasar el tiempo.

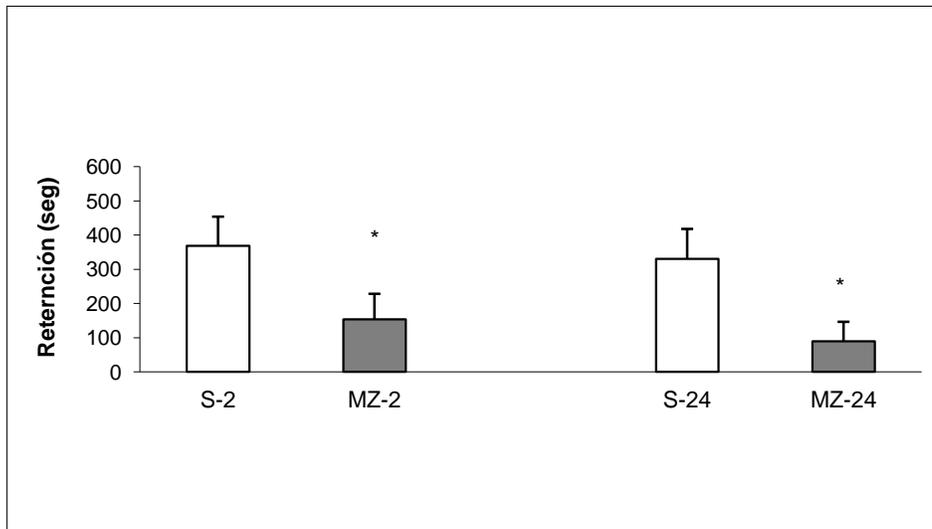


Figura 5. Promedio ( $\pm$  ETM) de la retención en grupos que recibieron una administración de S ó MZ 15 min antes (pre-entrenamiento) y fueron probados a las 2 o 24 h. S: salina, MZ: midazolam, \* $p < 0.05$

b) Administraciones Pos-Entrenamiento

**Procedimiento**

Cuatro grupos de Ss recibieron solución salina o MZ 5 min después del entrenamiento en una tarea de evitación inhibitoria, los Ss se probaron a las 2 h y 24 h (Tabla 2).

Tabla 2.Efectos de la administración de MZ después del entrenamiento. S= salina, MZ= midazolam, 2 ó 24 = tiempo (h) en realizar la prueba después del entrenamiento.

FASE DE ENTRENAMIENTO	FASE DE PRUEBA
5 MIN POS-ENTRENAMIENTO	TIEMPO DE PRUEBA
S 2	2 h
MZ 2	2 h
S 24	24 h
MZ 24	24 h

**Resultados**

En los grupos que recibieron administraciones pos-entrenamiento no se observaron diferencias significativas en las latencias de adquisición comparando con sus grupos control (salina).

En las latencias de retención no se detectaron diferencias significativas en ANOVA (tratamiento x prueba), es decir no hay efecto del MZ cuando se administra inmediatamente después, a ninguno de los dos tiempos de prueba (2 ó 24 h).

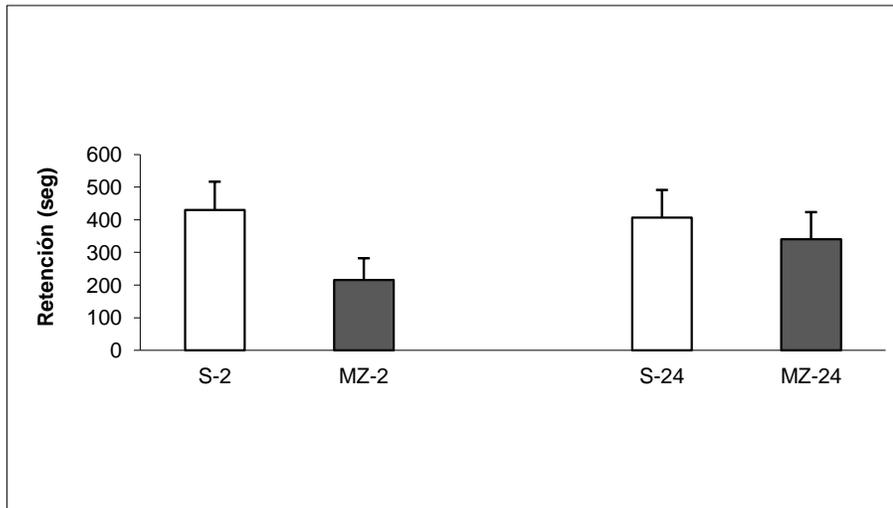


Figura 6. Promedio ( $\pm$  ETM) de la latencia de retención de los grupos que recibieron una administración pos-entrenamiento de S o MZ (S=salina, MZ=midazolam).

## 7.2 EXPERIMENTO 2. Aprendizaje Ligado a Estado.

Objetivo. Analizar el efecto del MZ administrando antes del entrenamiento y antes de la prueba en una tarea de evitación inhibitoria.

### Procedimiento

Se emplearon 4 grupos a los que se les administró S o MZ 15 min antes del entrenamiento y adicionalmente a todos los grupos se les administró S o MZ 15 min antes de la prueba en una tarea de evitación inhibitoria. Los sujetos fueron probados a las 2 h y 24 h.

Tabla 3. Tratamientos para evaluar aprendizaje ligado a estado del midazolam S= salina. MZ= midazolam. 2 ó 24= tiempo (h) en que se realizó la prueba después del entrenamiento.

FASE DE ENTRENAMIENTO	FASE DE PRUEBA	
Con administración 15 min Pre-entrenamiento	Con administración 15 min pre-prueba	Hora de prueba
S	S	2 h
MZ	MZ	2 h
S	S	24 h
MZ	MZ	24 h

### Resultados.

En las latencias de adquisición tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas. En contraste, en las latencias de retención se detectaron diferencias significativas, como puede verse en la Figura 7.

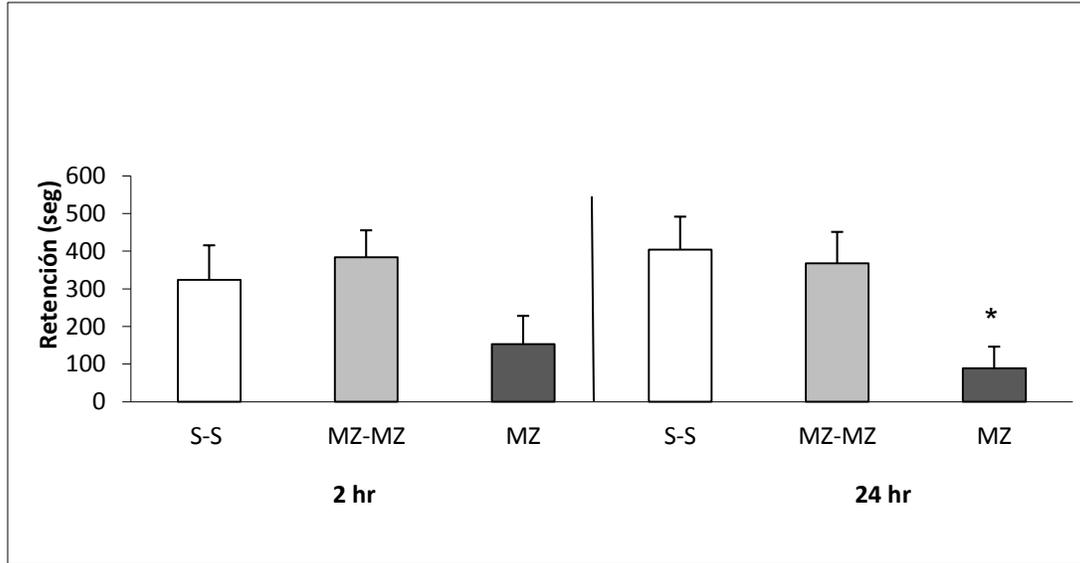


Figura 7. Promedio ( $\pm$  ETM) de la latencia de retención en grupos que recibieron S ó MZ 15 min antes del entrenamiento y S ó MZ 15 min antes de la prueba, los cuales fueron probados a las 2 ó 24 h. Tratamientos (S-S=2 administraciones de salina, MZ-MZ=2 administraciones de Midazolam, MZ=una sola administración de Midazolam, con prueba a las 2 ó 24 h) \* $p < 0.05$  vs control.

Los resultados muestran que una sola administración de MZ sí produce amnesia anterógrada cuando la prueba es realizada a las 24 h y que este efecto amnésico no se observa cuando los sujetos están bajo las mismas condiciones farmacológicas, es decir cuando reciben MZ en pre-entrenamiento y en pre-prueba a las 24 h ya no se presenta la amnesia, por lo que se observa aprendizaje ligado a estado.

### 7.3 EXPERIMENTO 3. Desarrollo de Tolerancia al Midazolam.

Objetivo. Analizar el desarrollo de tolerancia al MZ a través de una administración de 3 días consecutivos antes del entrenamiento.

#### Procedimiento

A cuatro grupos se les administró solución salina o MZ durante 3 días. El tercer día fueron entrenados en una tarea de evitación inhibitoria y al cuarto día (24 h) fueron probados con o sin la administración de solución salina o MZ.

Tabla 4. Tratamientos para evaluar el efecto tolerancia del midazolam (una administración diaria por tres días). S= salina, MZ = midazolam.

FASE DE ENTRENAMIENTO	FASE DE PRUEBA
Una administración diaria por 3 días consecutivos, la tercera administración realizada 15 min pre-entrenamiento	Hora de prueba
S-3	24 h (4° DIA)
MZ-3	24 h (4° DIA)

#### Resultados

Los grupos de salina agudo y crónica son estadísticamente iguales por lo que se compararon los grupos que recibieron MZ agudo y crónico contra el grupo de salina. En las latencias de adquisición no se encontraron diferencias significativas entre los grupos respecto a sus grupos control (salina).

En las latencias de retención se encontraron diferencias significativas ( $F(2,27)=4.08; p<0.05$ ), los grupos de MZ y S que recibieron 3 administraciones, difirieron del grupo de MZ con una sola administración ( $*p<0.05$ ) y entre ellos no se detectaron diferencias. Se observó el desarrollo de tolerancia al MZ cuando fue administrado de

manera repetida previo al entrenamiento ya que al comparar las retenciones no hubo diferencias con S-3.

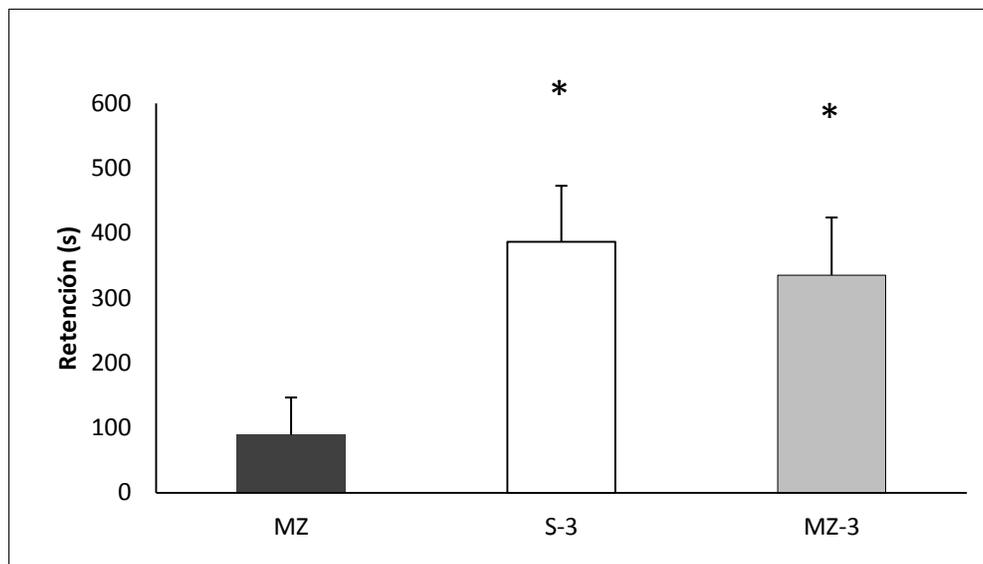


Figura 8. Promedio ( $\pm$  ETM) de las latencias de retención en ratas tratadas con una sola administración de midazolam (MZ) y las que recibieron 3 administraciones de salina (S-3) o 3 administraciones de midazolam (MZ-3)  $*p < 0.05$  vs. MZ.

#### 7.4 EXPERIMENTO 4. Efecto de estrés y midazolam sobre la memoria.

Objetivo. Analizar el efecto del estrés por restricción con una administración de MZ antes del entrenamiento.

##### **Procedimiento**

Los grupos fueron sometidos a 15 min de estrés por restricción 60 min antes del entrenamiento en evitación inhibitoria y adicionalmente se administró solución salina o MZ pre-entrenamiento, para evaluar los efectos de los grupos experimentales se compararon los resultados contra un grupo intacto o control, el cual no recibió estrés.

Dos de los grupos fueron tratados con 15 min de estrés por restricción (R) luego se esperó 30 min y se administró S o MZ y 15 min antes de entrenar a los sujetos en la tarea de evitación inhibitoria (transcurrieron 60 min desde el inicio de la R hasta que se entrenaron en EI), y la prueba se realizó a las 24 h. El tercer grupo solo recibió 15 min de R y fue entrenado en la tarea sin la presencia de S o MZ, se realizó la prueba a las 24 h. El cuarto grupo no recibió R solo fueron entrenados en EI y probados a las 24 h.

Tabla 5. Tratamientos para evaluar el efecto del estrés por restricción. I= intacto, R= restricción durante 15 min, S=salina, MZ= midazolam.

ESTRÉS 15 MIN PRE- ENTRENAMIENTO	ADMÓN. DE SAL O MZ	ENTRENAMIENTO EN EI	PRUEBA A LAS 24 h
INTACTO (C)	Nada	Si	Si
R	Nada	Si	Si
R-S	SAL	Si	Si
R-MZ	MZ	Si	Si

## Resultados.

En la figura 9 se muestran los resultados obtenidos al someter a estrés por restricción a grupos independientes entrenados en una tarea de evitación inhibitoria.

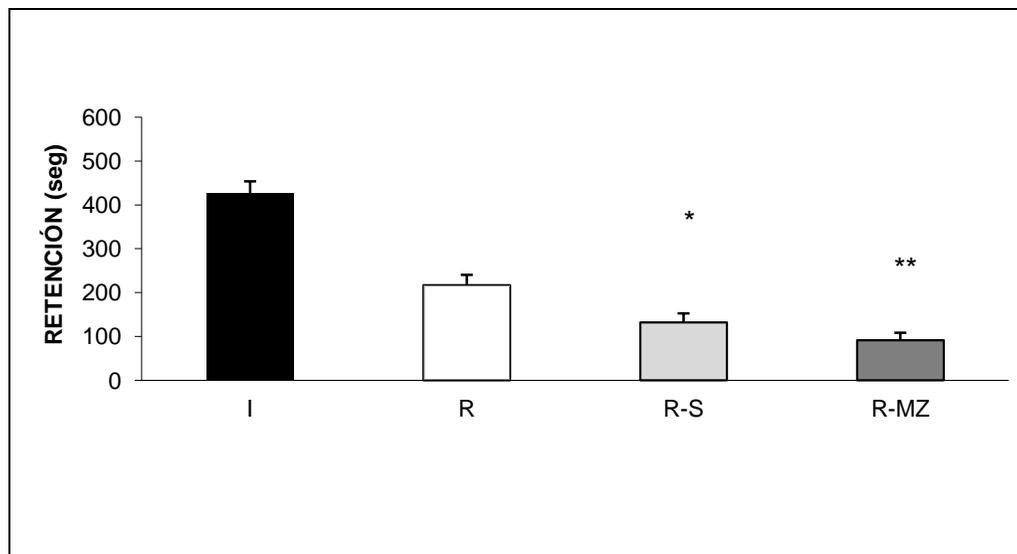


Figura 9. Medias  $\pm$  del ETM de la retención (s) de los grupos sometidos a 15 min de restricción y administración de solución S o MZ (I=intacto; R=15 min de restricción; S=salina y MZ=midazolam) \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  ambos vs I.

No se detectaron cambios en las latencias de adquisición con respecto a sus grupos control (salina). Los datos muestran el efecto amnésico del MZ ya que las latencias de retención son menores en el grupo que fue pre-administrado con la droga, la administración de 15 min de estrés por restricción no modifica los efectos amnésicos del MZ.

## 8. DISCUSIÓN

En el Experimento 1, no se detectaron diferencias en las latencias de adquisición entre los grupos, cuando el MZ se administró antes del entrenamiento, indicando esto que las dosis empleadas no producen cambios en la actividad motora. En las latencias de retención se observó que los grupos tratados con MZ y evaluados tanto a las 2 como a las 24 h mostraron latencias más cortas que los respectivos grupos de salina, es decir el MZ produjo amnesia anterógrada. Estos resultados coinciden con reportes previos donde la pre-administración de midazolam en tareas de memoria episódica en humanos produce amnesia anterógrada (Lister, 1985). En otras investigaciones para explorar los efectos amnésicos de diferentes fármacos, encontraron amnesia anterógrada al administrar de 1 a 4 mg/kg de diazepam pre-entrenamiento utilizando un procedimiento de laberinto elevado en T, sin embargo no se observaron efectos significativos en memoria al administrar dosis de 1 a 2mg/kg de isapirona (agonista parcial de 5HT<sub>1A</sub>) (Viana, Tomaz & Graeff, 1994). En otras palabras, los resultados presentes son consistentes con lo reportado por (Viana et al., 1994) y apoyan la evidencia de que las BZ producen amnesia anterógrada aun cuando se utilicen diferentes procedimientos.

Efectos similares se han reportado con administraciones intracerebrales, en un estudio la administración de MZ (3 µg ó 10 µg) intra-amígdala 5 min antes del entrenamiento en una tarea de evitación inhibitoria y produjo deterioro de la ejecución en la prueba de retención a las 48 h (Dickinson-Anson & McGaugh, 1993).

Algunos reportes sugieren que los efectos amnésicos del MZ están relacionados con el estado de absorción y eliminación del fármaco, y que por eso los efectos a las BZ dependen del tiempo, sin embargo el efecto amnésico del MZ persiste al menos 24 h después de realizada la pre-administración, tiempo durante el cual ya se eliminó el fármaco y al momento de la prueba ya los sujetos no están bajo sus efectos, pero debido a su pre-administración se produjo un bloqueo o alteración en la adquisición de la memoria produciendo amnesia anterógrada (Beracochea, 2006).

Los datos de estudios con pos-administraciones de BZ son contradictorios ya que en algunos casos se reporta deterioro en la memoria, en otros no se detectan efectos y finalmente en otros se han descrito efectos facilitatorios en memoria (Beracochea, 2006).

Existen reportes que señalan tanto efectos de amnesia anterógrada como retrógrada al utilizar alguna BZ tales como el brotizolam utilizando dosis bajas (0.01mg/kg) en ratones (Anand, Saraf & Prabhakar, 2007). Lo anterior contrasta con lo reportado en esta investigación donde no se observaron efectos significativos al administrar MZ pos-entrenamiento, es decir no se observó amnesia retrógrada con la administración de MZ en la dosis de 1mg/kg. Estos resultados pueden explicarse como un proceso de estabilización de la memoria, ya que una revisión sobre administraciones pre y pos-entrenamiento señalan que los receptores GABA<sub>A</sub> están involucrados en la adquisición y consolidación de la memoria y que las regiones posiblemente implicadas son hipocampo y amígdala (Makkar, Zhang & Cranney, 2010), es decir que los cambios en la memoria aun cuando no hayan sido estadísticamente significativos, apuntan hacia la participación del sistema GABAérgico dejando un espacio a nuevas exploraciones sobre el tema.

En cuanto a los datos de aprendizaje ligado a estado, los resultados concuerdan con lo obtenido con Banerjee (1975), donde utilizaron ratas blancas noruegas para evaluar el efecto en evitación condicionada de discriminación demorada de 8 drogas en 2 diferentes dosis cada una. Se evaluaron sulfato de anfetamina (2.4 y 4.5 mg/kg/día), alcohol etílico (3.5 y 6 g/kg/día), meprobamato (80 y 124mg/kg/día), sulfato de morfina (4 y 8 mg/kg/día), medazepam (12.5 y 25 mg/kg/día), nitrazepam (15 y 25 mg/kg/día), fenobarbital sódico (12 y 18 mg/kg/día) y pentobarbital sódico (17.5 y 35 mg/kg/día), todas las drogas fueron diluidas en agua excepto la morfina. Encontraron una transferencia de lo aprendido cuando estaban bajo el efecto de la droga, el aprendizaje dependiente de estado fue más claro en los grupos tratados con el sulfato de anfetamina y con el sulfato de morfina ya que en el grupo de nitrazepam de dosis alta (25 mg/kg) se deterioró su ejecución, pero no era tan clara la dependencia de estado probablemente debido a la concentración del fármaco. En otro estudio Zarrindast (2006) administró morfina en ratones macho albinos y observó un aprendizaje dependiente de estado al evaluar con una tarea de evitación pasiva. Se observan resultados similares al administrar muscimol (5mg/kg, i.p) en ratas evaluando en una tarea de laberinto de Morris, los datos obtenidos indican aprendizaje dependiente de estado (Nakagawa, Ishibashi, Yoshii & Tagashira, 1995). Tanto los estudios revisados como los datos de la presente investigación sugieren una importante participación de los receptores a GABA en el desarrollo de aprendizaje dependiente de estado.

Los receptores a GABA cobran mayor importancia al evidenciar su participación en procesos de memoria y aprendizaje ligado a estado, sin embargo las administraciones agudas abren la pauta para dirigir el interés hacia los posibles efectos de las BZ con administraciones crónicas. El desarrollo de tolerancia es diferente para cada uno de los efectos y puede variar entre las diferentes BZ (File, Wilks & Mabbutt, 1989). Algunos autores señalan el desarrollo de tolerancia a los efectos de las BZ sobre la actividad motora, por ejemplo cuatro administraciones de diazepam (5mg/kg i.p.) 30 min pre-entrenamiento en ratas Wistar produjeron tolerancia en una prueba de campo abierto (Marín, Salvatierra & Ramírez, 1996). En esta investigación se encontró desarrollo de tolerancia a los efectos amnésicos del MZ al administrarlo en tres ocasiones, lo cual coincide con el planteamiento de Lader & File (1987) donde se sugiere que las BZ pueden producir efectos de tolerancia en un corto tiempo o incluso con una sola administración.

En el experimento donde se evaluó el efecto del estrés por restricción y del MZ, se observó que el grupo expuesto solo a restricción mostró latencias de retención más bajas comparadas con el grupo intacto, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas; la restricción de 15 min no produjo efectos sobre la retención. En otras investigaciones se ha reportado que el estrés por restricción administrado antes de una tarea de evitación inhibitoria puede producir deterioro de la memoria (Yamada, Santos-Yamada & Wada, 2003). También se ha reportado facilitación de la memoria, en un estudio de Kaneto (1997), se usaron varios estresores: estrés por choque de 2 mA durante 5 min, estrés psicológico donde escuchaban y veían a los sujetos que recibían el choque por 5 min y estrés por nado forzado durante 5 min, la exposición a los estresores 30 min antes del entrenamiento en una tarea de evitación pasiva de un ensayo, el efecto de facilitación puede estar asociado a la similitud en la intensidad del choque del estresor ( 2 mA) y de la prueba (0.6mA), es decir que en ambos estudios, la intensidad con la que se trabajó en la tarea de evitación inhibitoria resultó suficientemente aversivo para que el evento se recuerde. La intensidad del choque produce diferentes efectos en la memoria, al evaluar los efectos de la intensidad en ratas con administración de escopolamina se produjo amnesia cuando las intensidades fueron moderadas, en tanto que no se observó efecto amnésico cuando las intensidades el choque fueron bajas (Quirarte, Cruz-Morales, Díaz Del Guante, García &

Prado-Alcalá, 1993), o con intensidades altas (Cruz-Morales, Durán-Arevalo, Díaz Del Guante, Quirarte & Prado-Alcalá, 1992).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los grupos que además de la restricción recibieron la administración de S o de MZ, siendo más marcadas las diferencias en el grupo que recibió el MZ. Probablemente estos datos están relacionados con la re-exposición a un segundo estresor (la inyección), ya que se ha demostrado que la re-exposición puede modificar las respuestas tanto conductuales como fisiológicas al estrés (Bremner *et al.*, 1996).

El estrés por restricción puede inducir cambios en la ejecución en tareas de aprendizaje espacial, pero estos cambios pueden variar en función del sexo y de otros factores con los que esté asociada la tarea. Szuran *et al.* (2000) diseñaron un experimento para evaluar el efecto del estrés maternal sobre parámetros cognoscitivos y endocrinos, sometieron a estrés por restricción a las ratas preñadas, recibieron 30 min de estrés 3 veces al día durante los días 15 a 19. A los 12 meses de edad se evaluó la memoria con una tarea de aprendizaje espacial en el laberinto de Morris con agua fría y caliente de hembras y machos que recibieron estrés prenatal y compararon los datos con ratas sin estrés. Encontraron diferencias en las ejecuciones en función del sexo, en machos con estrés prenatal hubo un deterioro del aprendizaje cuando el agua del laberinto mantenía una temperatura caliente y una facilitación cuando el agua era fría (la cual se considera que es más estresante). El estrés prenatal produjo cambios en los niveles de corticosterona pero independientes de los cambios en la conducta. Los animales expuestos a estrés prenatal son sensibles a la temperatura, así también se puede mencionar que la pre-exposición de estrés induce cambios en el aprendizaje, cambios en la conducta sexual, en las ejecuciones en laberinto, y en pruebas de depresión. Los cambios conductuales como efecto de la pre-exposición de estrés por restricción pueden estar asociados con otros factores estresantes de la tarea de aprendizaje.

De acuerdo con los resultados de esta investigación y con lo reportado por Szuran *et al.* (2000) los efectos de la exposición a estrés por restricción pueden variar en función de la tarea a realizar y en función de otros factores asociados a la tarea. En este caso la pre-exposición de 15 minutos de estrés por restricción fue seguida de la administración ip de S

ó MZ antes del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria, los efectos en retención son más similares entre los grupos que recibieron la inyección y más diferentes al grupo que solo recibió estrés o el grupo intacto. Por lo anterior se puede hablar de que la pre-exposición de estrés por restricción tiene un efecto de deterioro de la memoria sin embargo no modifica los efectos amnésicos originados por una sola administración del MZ.

## 9. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye que el MZ administrado pre-entrenamiento produce amnesia anterógrada y que la administración pos-entrenamiento de MZ no produce amnesia retrógrada en estas condiciones experimentales de dosis e intensidad de estímulo.

Por otro lado la administración sistémica de MZ produjo efectos de aprendizaje ligado a estado. Las repetidas administraciones de esta benzodiazepina, incluso con tres administraciones inducen el desarrollo de tolerancia a los efectos amnésicos. Los efectos del MZ sobre la memoria pueden cambiar en función del número de administraciones.

El estrés por restricción no tuvo efectos sobre la memoria, sin embargo la restricción produce un efecto amnésico únicamente cuando se suma a otro estresor como la inyección de MZ.

Por lo anterior se concluye que la activación de los receptores GABA a interfieren en la adquisición y consolidación de la memoria, y que el sistema GABAérgico participa en diferentes procesos de memoria, participa en el desarrollo de tolerancia a efectos amnésicos y en el desarrollo de aprendizaje dependiente de estado. La aportación de esta investigación cobra relevancia ya que los datos pueden tener implicaciones para los tratamientos utilizados con humanos en casos de pérdida de memoria y desórdenes de ansiedad entre otros. Así mismo se abren otras oportunidades para indagar sobre el rol que desempeñan factores estresantes en los procesos de memoria, utilizando otras BZ o con diferentes dosis de MZ.

## 10. REFERENCIAS.

- Aguado, A. L. (1990). *Cognición comparada: Estudios experimentales sobre la mente animal*. Madrid: Alianza Editorial.
- Ahlers, S. T., Gordon, T. L. & Riccio, D. C. (1991). The effects of preexposure to the drug on state dependent retention. *Physiology & Behavior*, 50, 365-371.
- Ardila, R. (1988). *Psicología del Aprendizaje*. México: Edición Siglo XXI.
- Anand, A., Saraf, M. K. & Prabhakar, S. (2007). Sustained inhibition of brotizolam induced anterograde amnesia by norharmane and retrograde amnesia by L-glutamic acid in mice. *Behavioural Brain Research*, 182, 12-20.
- Bammer, G. (1982). Pharmacological investigations of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding a review and some new results. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 6, 247-296.
- Banerjee, U. (1975). Conditioned avoidance behavior in pretrained rats intermittently treated with addictive drugs. *Physiology & Behavior*, 15, 349-356.
- Baratti, C. M., Huygens, P., Miño, J., Merlo, A. & Gardella, J. (1979). Memory facilitation with postrial injection of oxotremorine and physostigmine in mice. *Psychopharmacology*, 64, 85-88.
- Beracochea, D. (2006). Anterograde and retrograde effects of benzodiazepines on memory. *The Scientific World Journal*, 6, 1460-1465.
- Bermúdez-Rattoni, F. y Prado, A. R. F. (2001). *Memoria. dónde reside y cómo se forma*. México: Trillas.
- Bovet, D., McGaugh, J.L. & Oliverio, A. (1966). Effects of postrial administration of drugs on avoidance learning on mice. *Life Sciences*, 5, 1309-1315.
- Bowen, S. E., Fowler, S. C., Stanford J. A. y Kallman M. J. (2000). Behavioral tolerance to the force differentiation effects of diazepam and midazolam in rats. *Psychopharmacology*, 148, 327-335.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J. (1985). *Farmacología, bases bioquímicas y patológicas*. México: Interamericana.
- Brailowsky, S. (1995). *Las sustancias de los sueños*. México: Fondo de Cultura Económica.

- Bremner, J. D., Kristal, J.H., Southwick, S.M & Charney, D.S. (1996). Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, 23, 28-38.
- Brioni, J. D. & McGaugh, J. L. (1988). Posttraining administration of GABAergic antagonists enhances retention of aversively motivated tasks. *Psychopharmacology*, 96, 505-510.
- Brioni, J. D. (1993). Role of GABA during the multiple consolidation of memory. *Drug Development Research*, 28, 3-27.
- Carlson, N. (1994). *Fisiología de la Conducta*. Barcelona: Ariel
- Castellano, C. & Pavone, F. (1988). Effects of ethanol on passive avoidance behavior in the mouse. Involvement of GABAergic mechanisms. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 29, 321-324.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth, R. H. (1996). *The biochemical basis of neuropharmacology*. New York: Oxford, University Press.
- 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. y Prado-Alcalá, R. A. (1993). ¿Participa el sistema colinérgico en la memoria de un aprendizaje mediado por niveles altos de reforzamiento negativo? *Revista Mexicana de Psicología*, 9, 71-75.
- Dickinson-Anson, H., Mesches, M., Coleman, K. & McGaugh, J. L. (1993). Bicuculine administered into the amygdala blocks benzodiazepine induced amnesia. *Behavioral Neural Biology*, 60, 1-4.
- Dickinson-Anson, H. & McGaugh, J. L. (1993). Midazolam administered into the amygdala impairs retention of an inhibitory avoidance task. *Behavioral and Neural Biology*, 60, 84-87.
- Dickinson-Anson, H. & McGaugh, J. L. (1997). Bicuculine administered into the amygdala after training blocks benzodiazepine-induced amnesia. *Brain Research*, 752, 197-202
- Domjan, M. (1998). *Bases del aprendizaje y el condicionamiento*. México: La Paz.

- Drugan, R. C., Basile, A. S., Ha, J. H. & Ferland, R. J. (1994). The protective effects of stress control may be mediated by increased brain levels of benzodiazepine receptor agonists. *Brain Research*, 661, 127-136.
- Eichenbaum, H. (2002). *The Cognitive Neuroscience of Memory*. New York: Oxford, University Press.
- Enna, S. J. & Bowery, N. G. (1997). *The GABA Receptors*. New Jersey: Humana Press.
- File, S. E. (1985). Tolerance to the behavioral actions of benzodiazepines. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 9, 113-121.
- File, S. E., Wilks, L. J. & Mabbutt, P. S. (1989). Withdrawal, tolerance and sensitization after a single dose of lorazepam. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 31, 937-940
- Galárraga, E., Hernández-López, S., Reyes, A., Miranda, I., Bermúdez-Rattoni, F., Vilchis, C. & Vargas, J. (1999). Cholinergic modulation of neostriatal output: a functional antagonism between different types of muscarinic receptors. *The Journal of Neuroscience*, 19 (9), 3629-3638.
- García, S. N. L. (2002). *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*. (Tesis inédita de Maestría). FES- Iztacala UNAM. México
- Garín, A. M. E. (2000). *Efecto de antagonistas GABAérgicos y de dos ansiolíticos sobre la adquisición y la retención de una tarea de evitación inhibitoria*. (Tesis de Maestría). ENEP- Iztacala UNAM. México.
- George, K. A. & Diundee, J. W. (1977). Relative amnesic actions of diazepam, flunitrazepam and lorazepam in man. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 4, 45-50.
- Gold, P. & Delanoy, R. D. (1981). VTH modulation of memory storage process. En: Delacour, J., *The memory systems of the brain*. (365-388). New Jersey: World Scientific.
- Gold, P. E. (1986). The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. *Behavioral and Neural Biology*, 46, 87-98.
- Goldstein, A. M. D., Aronow, L. P. H. O. & Summer, M. K. M. D., (1979). *Farmacología*. México: Limusa.

- González, L. M. R. A. (2005). *Efecto de agonistas y antagonistas GABAB en la amnesia inducida por escopolamina*. (Tesis inédita de Maestría). FES-Iztacala UNAM, México.
- Gómez-Romero, González-López, García-Saldívar, Arriaga & Cruz-Morales (2006). Disociación de los efectos amnésicos y ansiolíticos en el laberinto elevado en T. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32, 271-290.
- Hagan, J. J., Jansen, J. H. M. & Broekkamp, C. L. E. (1989). Hemicholinium-3 impairs spatial learning and the deficit is reversed by cholinomimetics. *Psychopharmacology*, 98, 347-356.
- Haefely, W. E. (1979). Biological basis of the therapeutic effects of benzodiazepines. En: Priest, R.G., Filho, U.V., Amrein, R. & Skreta, M. (Eds), *Benzodiazepines today and tomorrow*. Lancaster: MTP Press.
- Hardman, J. G. & Limbird L. E. (1996). Goodman & Gilman: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Haroutunian, V., Barnes, E. & Davis, K. L. (1985). Cholinergic modulation of memory in rats. *Psychopharmacology*, 87, 266-271.
- Hilgard, E. R. & Bower, G. H. (1976). *Teorías del aprendizaje*. México: Trillas.
- Itoh, J., Nabeshima, T. & Kameyama, T. (1991). Utility of an elevated plus-maze for dissociation of amnesia and behavioral effects of drugs in mice. *European Journal of pharmacology*, 194, 71-76
- Iversen, I. H. & Lattal, K. A. (1991). *Experimental Analysis of Behavior*. Part 1. Amsterdam: Elsevier
- Izquierdo, I. (1994). Pharmacology of memory: drugs acting upon the neurotransmitter, mechanisms involved in memory consolidation. En: Delacour, J. (Ed), *The memory systems of the brain*. (365-388). New Jersey: World Scientific.
- Jiménez, T. L., Bascarán, F. M. T., García-Portilla, G. M. P., Sáiz, M. P. A., Bousoño, G. M. y Bobes, G. J., (2004). La nicotina como droga. *Monografía de Tabaco*. 16 (sup. 2).
- Jodar, L., Takahashi, M. y Kaneto, H. (1996). FS Stress induces long-lasting memory facilitation: involvement of cholinergic pathways. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53, 735-740.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H. & Jessell, T. M. (2001). *Neurociencia y conducta*. Madrid: Prentice Hall.

- Kaneto, H. (1997). Learning/memory processes under stress conditions. *Behavioral Brain Research*, 83, 71-74.
- Kumar, K. B., Ramalingam, S. & Karanth, K. S. (1994). Phenytoin and phenobarbital: a comparison of their state-dependent effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47 (4), 951-956.
- Lader, M. & File, S. (1987). The biological basis of benzodiazepine dependence. *Psychological Medicine*, 17, 539-547.
- Lister, R. G. (1985). The amnesic action of benzodiazepines in man. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 9, 87-94.
- Lowe, G. (1986). State-dependent learning effects with a combination of alcohol and nicotine. *Psychopharmacology*, 89, 105-107.
- Malamed, S. F. (1996). *Sedación. Guía práctica*. España: Mosby 3ª ed.
- Marín, R. H., Salvatierra, N. A. y Ramírez, O. A. (1996). Rapid tolerance to benzodiazepine modifies rat hippocampal plasticity. *Neuroscience Letters*, 215, 149-152.
- Makkar, S. R., Zhang S. Q. & Cranney, J. (2010). Behavioral and neural analysis of GABA in the acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of fear memory. *Neuropsychopharmacology*, 35, 1625-1652.
- McGaugh, J. L. (1973). Drug facilitation of learning and memory. *Annual review of pharmacology*, 13, 229-241.
- McGaugh J. L., Bermúdez, F., Rattoni & Prado-Alcalá (Eds). (1995). *Plasticity in the central nervous system: Learning and memory*. New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- McIntyre, D. C. & Gunter, J. L. (1979). State-dependent learning induced by low intensity electrical stimulation of the caudate or amygdale nuclei in rats. *Physiology & Behavior*, 23, 449-454.
- Millenson, J. R. (1971). *Principles of Behavioral Analysis*. E. U.: MacMillan.
- Nabeshima, T., Noda, Y. & Kameyama, T. (1988). GABAergic modulation of memory with regard to passive avoidance and conditioned suppression tasks in mice. *Psychopharmacology*, 19, 69-73.
- Nakagawa Y., Ishibashi Y., Yoshii T. y Tegashira E. (1995). Muscimol induces state-dependent learning in Morris water maze task in rats. *Brain Research*, 681, 126-130.

- Netter, F. H. & Brass, A. (1994) *Sistema Nervioso: Anatomía y Fisiología*. Barcelona: Plaza.
- Netto, C. A. & Izquierdo, I. (1985). On how passive is inhibitory avoidance. *Behavioral and neural biology*, 43, 327-330.
- Ochoa-Galván, L., González-López, M., Arriaga, P. & Cruz-Morales, S. (2001). Midazolam produce amnesia anterógrada en ratas ¿aprendizaje ligado a estado? *Memorias del XLIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, Monterrey, N. L., México.
- Prado-Alcalá, R. A. (1991). En busca del engrama de la memoria: datos experimentales y especulaciones. En: Colotla, V. A. (Ed.) *La investigación del comportamiento en México*. México: UNAM.
- Quirarte, G. L., Cruz-Morales, S. E., Díaz Del Guante, M. A., García, M., & Prado-Alcalá. (1993). Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Brain Research Bulletin*, 32, 521-524.
- Salinas, J. A., Dickinson-Anson, H. & McGaugh J. L. (1994). Midazolam administered to rats induces anterograde amnesia for changes in reward magnitude. *Behavioral Neuroscience*, 108, 1059-1064
- Skinner, B. F. (1979). *La conducta de los organismos*. España: Fontanella
- Squire, L. R. (1987). *Memory and Brain*. USA: Oxford University Press
- Squire, L. R. & Kosslyn, S. M. (Eds.). (1998). *Findings and Current Opinion in cognitive neuroscience*. USA.
- Stillman, M. J., Shukitt-Hale, B., Levy, A. y Lieberman, H. R. (1998). Spatial memory under acute cold and restraint stress. *Physiology & Behavior*, 64, 605-609.
- Szuran, T. F., Pliska, V., Pokorny, J. & Welzl, H., (2000). Prenatal stress in rats: effects on plasma corticosterone, hippocampal glucocorticoid receptors, and maze performance. *Physiology & Behavior*, 71, 353-362.
- Tomaz, C. A., Ventura, D. F. & Leite, J. R. (1982). Effects of sodium barbitone on learning and memory-storage of an appetitive and an aversive task. En Brioni, J.D. (1993). Role of GABA during the multiple consolidation of memory. *Drug Development Research*, 28, 3-27.

- Tomaz, C., Dickinson-Anson, H., McGough, J. L. (1992). Basolateral amygdala lesions block diazepam induced anterograde amnesia in an inhibitory avoidance task. *Proc. Natl Academic science. US*, 89, 3615-3619.
- Uriarte, B. V. (2003). *Psicofarmacología*. México: Trillas.
- Valadez, R. J. (2006). *Neuroanatomía Funcional*. México: Ediciones de Neurociencias.
- Viana, M. B., Tomaz, C. & Graeff, F. G. (1994). The elevated T-Maze: a new animal model of anxiety and memory. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49, 549-554.
- Yamada, K., Santos-Yamada, Y. & Wada K. (2003). Stress-induced impairment avoidance learning in female neuromedinB receptor-deficient mice. *Physiology and Behavior*, 78, 303-309.
- Zarrindast, M-R., Bananej, M., Khalilzadeh, A., Fazli-Tabaei, S., Haeri-Rohani, A. & Rezayof, A. (2006). Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86, 286-292.