

**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Biología**

**PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA COLINÉRGICO CENTRAL EN LA MEMORIA
ESPACIAL ESTABLECIDA CON NIVELES MODERADOS Y ALTOS DE
ENTRENAMIENTO**

TESIS INDIVIDUAL

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Biología

Presenta:

Abril Alma Sánchez Medellín

Dirigido por:

Dra. Gina Lorena Quirarte

SINODALES

Dra. Gina Lorena Quirarte
Presidente

Firma

Dr. Marco Antonio Sánchez Ramos
Secretario

Firma

Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso
Vocal

Firma

Dr. Carlos Isaac Silva Barrón
Suplente

Firma

Biol. Jaime Ángeles Ángeles
Director de la Facultad

Dr. Luis Hernández Sandoval
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Septiembre 2010
México

RESUMEN

La acetilcolina participa en la consolidación de la memoria, ya que la administración de antagonistas colinérgicos la bloquean. Sin embargo, en el aprendizaje incrementado este tratamiento es inefectivo. En la presente tesis reportamos el efecto del bloqueo del sistema colinérgico sobre la consolidación de la memoria espacial con entrenamiento moderado o incrementado (masivo y espaciado). Estudiamos ratas macho de la cepa Wistar que fueron entrenadas en la tarea de laberinto acuático de Morris (LAM). Se realizaron tres experimentos; el primero tuvo como objetivo conocer si el sistema colinérgico participa en la memoria de LAM entrenada de forma moderada (una sesión de 10 ensayos). Se administró i.p., escopolamina (0.4, 0.8 mg/kg), metilescopolamina (0.8 mg/kg) o vehículo. El segundo y tercer experimentos tuvieron como objetivo conocer si el sistema colinérgico participa en la memoria de LAM con entrenamiento incrementado masivo (20 ensayos en una sesión) o espaciado (cuatro sesiones de cinco ensayos cada una). Para cada experimento se formaron tres grupos tratados i.p., con escopolamina (0.4, 0.8 mg/kg) o vehículo. En los dos primeros experimentos la administración se realizó al final de la sesión y en el tercero al final de cada una de las cuatro sesiones. Los resultados indicaron que con respecto a LAM, el sistema colinérgico es necesario para la consolidación de la memoria del aprendizaje moderado, ya que la escopolamina produjo amnesia, no así en los grupos sometidos al aprendizaje incrementado.

Palabras clave: sistema colinérgico central, memoria espacial, entrenamiento moderado, entrenamiento incrementado.

SUMMARY

Acetylcholine is involved in memory consolidation, as administration of cholinergic antagonists block this process. However, this treatment is ineffective in enhanced learning. On the present thesis, we report the effects of cholinergic blockade on spatial memory of moderate and enhanced (massive and spaced) training. Male Wistar rats were trained in the Morris water maze task (MWM). Three experiments were performed. The aim of the first one was to determine if the cholinergic system is involved in memory of moderate MWM training (one 10-trial session); scopolamine (0.4 or 0.8 mg/kg), methylscopolamine or vehicle were injected i.p. The objectives of the second and third experiments were to determine whether the cholinergic system participates in memory consolidation of enhanced massive (one 20-trial session) and spaced (four five-trial sessions) training of MWM. There were three groups in each of these experiments, treated i.p., with scopolamine (0.4 or 0.8 mg/kg) or vehicle. In the first two experiments the treatments were given at the end of the session, while in the third experiment they were given at the end of each of the four sessions. The results indicated that, regarding the MWM task, the cholinergic system is necessary for memory consolidation of moderate learning but not for enhanced training, since scopolamine produced amnesia only after moderate learning.

Key words: central cholinergic system, spatial memory, moderate training, enhanced training.

**Dedico esta tesis a mi mamá Alma, a mi hermano Felipe, a mi esposo
Juan José y a mi pequeño Alex.**

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi reconocimiento a las siguientes personas e instituciones, por el apoyo que me brindaron para la realización de la presente tesis:

A la Dra. Gina Lorena Quirarte, por su comprensión, disposición y ayuda. Por haberme dado la oportunidad de hacer ciencia a su lado.

Al Dr. Roberto A. Prado Alcalá, por sus valiosos consejos y contribuciones para la finalización de la tesis.

A la MVZ Norma Serafín López, por enseñarme todo lo que sabe, por su apoyo incondicional, consejos y gran amistad.

A la Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso por su ayuda técnica, aportaciones al trabajo y por su gran apoyo.

Al Sr. Ángel Méndez, por la ayuda técnica con el cuidado de los animales. Al MVZ José Martín García, por el suministro de animales requeridos para el desarrollo de experimentos y al Bioterio, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

A Jorge García Torres, por su apoyo y disposición durante el análisis estadístico de los datos.

A Osvaldo Alvarado Villanueva, por la valiosa ayuda en el laberinto y por la amistad.

A Juan José Bautista García porque a pesar de no ser científico de profesión, siempre estuvo a mi lado ayudándome en todo momento.

A mis profesores de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Laboratorio de Aprendizaje y Memoria, Departamento de Neurobiología Conductual y Cognitiva, Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla, UNAM.

Dirección General de Asuntos del Personal Académico Universidad Nacional Autónoma de México (Proyecto *PAPIIT-DGAPA*, UNAM IN216708).

A los sinodales Dra. Gina Lorena Quirarte, Dr. Marco Antonio Sánchez Ramos, Dra. Andrea Cristina Medina Fragoso y al Dr. Isaac Silva Barrón por sus sugerencias y revisión de la tesis.

A *PAPIIT-DGAPA*, UNAM IN216708 por la beca otorgada para la realización de la tesis. A la Secretaría de Educación Pública por la beca otorgada para la finalización de tesis.

ÍNDICE

Página

RESUMEN.....	ii
SUMMARY.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
2.1 Aprendizaje.....	2
2.1.1 Aprendizaje espacial.....	3
2.1.2 El aprendizaje normal e incrementado.....	4
2.1.3 El aprendizaje incrementado protege la pérdida de la memoria	4
2.1.4 Modelos en serie y paralelo de la memoria.....	9
2.2 Consolidación.....	12
2.3 Memoria.....	13
2. 3.1 Memoria de corto plazo.....	14
2. 3.2 Memoria de largo plazo.....	14
2. 3.3. Memoria no declarativa o de procedimiento (implícita).....	15
2. 3.4 Memoria declarativa (explícita).....	16
2.3.5 Memoria de trabajo.....	17
2.3.6 Memoria espacial.....	17
2.4 Recuerdo y olvido.....	18
2.5 Reconsolidación.....	19
2.6 Sistema nervioso.....	20
2.6.1 Acetilcolina.....	21
2.6.2 Síntesis.....	22

2.6.3 Liberación.....	23
2.6.4 Receptores.....	26
2.6.5 Agonistas y antagonistas del sistema colinérgico.....	28
2.7 Vías cerebrales colinérgicas.....	28
2.8 Los laberintos como una herramienta para el estudio de la neurobiología del aprendizaje y la memoria.....	30
2.8.1 Laberinto acuático de Morris.....	31
2.8.2 Estudios en el laberinto acuático de Morris.....	32
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
IV. HIPÓTESIS.....	35
V. OBJETIVOS.....	35
VI. METODOLOGÍA.....	36
6.1 Sujetos.....	36
6.2 Manipulación.....	36
6.3 Aparatos.....	37
6.4 Grupos.....	38
6.4.1 Experimento I. Entrenamiento moderado.....	38
6.4.2 Experimento II. Entrenamiento incrementado masivo.....	38
6.4.3 Experimento III. Entrenamiento incrementado espaciado.....	39
6.4.4 Experimento IV. Entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples.....	39
6.5 Fármacos.....	40
6.5.1 Preparación del fármaco.....	40
6.5.2 Preparación del vehículo.....	40
6.6 Inyección.....	40
6.7 Pruebas conductuales.....	41
6.7.1 Sesión de adquisición.....	41
6.7.2 Prueba de transferencia a las 24 horas y a los 7 días.....	42
6.8 Análisis estadístico.....	43

VII. RESULTADOS	44
7.1 Experimento I. Entrenamiento moderado.....	44
7.2 Experimento II. Entrenamiento incrementado masivo.....	48
7.3 Experimento III. Entrenamiento incrementado espaciado.....	52
7.4 Experimento IV. Entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples.....	56
VIII. DISCUSIÓN.....	60
IX. CONCLUSIONES.....	65
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1. Esquema del modelo en serie de la memoria.	11
Figura 2. Esquema del modelo en paralelo de la memoria.	12
Figura 3. Clasificación de la memoria.	16
Figura 4. Estructura química de la acetilcolina.	22
Figura 5. Sinapsis colinérgica.	25
Figura 6. Estructura de los receptores de acetilcolina.	27
Figura 7. Distribución de las vías colinérgicas en cerebro.	30
Figura 8. Laberinto acuático de Morris.	37
Figura 9. Esquema de localización de los puntos de inicio para el entrenamiento.	42
Figura 10. Esquema de localización del punto de inicio para las pruebas de transferencia.	43
Figura 11. Gráfica de entrenamiento (moderado).	45
Figura 12. Gráfica de la prueba de transferencia a las 24 hrs. y 7 días (moderado).	47
Figura 13. Gráfica de entrenamiento incrementado (masivo).	49
Figura 14. Gráfica de prueba de transferencia a las 24 hrs. y 7 días (masivo).	51

Figura 15. Gráfica de entrenamiento incrementado (espaciado).	53
Figura 16. Gráfica de la prueba de transferencia a las 24 hrs. y 7 días (espaciado).	55
Figura 17. Gráfica de entrenamiento incrementado (masivo con inyecciones múltiples).	57
Figura 18. Gráfica de prueba de transferencia a las 24 hrs. y 7 días (masivo con inyecciones múltiples).	59
Tabla 1. Prueba post hoc de Tukey. Análisis del primer ensayo contra el último para cada una de las cuatro sesiones del entrenamiento incrementado masivo espaciado.	52

I. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución, el aprendizaje y la memoria son el medio principal de la adaptación de los seres vivos a las modificaciones inciertas de su ambiente (Morgado, 2005). Son diversas las sustancias que participan en los procesos de aprendizaje y memoria entre ellas se encuentran diversos neurotransmisores y hormonas. Una de las aproximaciones al estudio de los mecanismos cerebrales que subyacen al aprendizaje y la memoria, es el estudio de la amnesia experimental. Cruz-Morales et al. (1992) reportó que la administración de escopolamina después de que un sujeto aprendió una tarea produce amnesia. Se ha reportado que el efecto amnésico no se presenta cuando el grado de entrenamiento durante la tarea aprendida es alto, debido a la intensidad del estímulo aversivo o al número de veces que es presentado. (Duran-Arevalo et al., 1990). El estudio de las variaciones en el grado de reforzamiento y sus efectos sobre la memoria es un área nueva de investigación en las neurociencias, que puede cambiar los conceptos acerca de la forma en que el sistema nervioso central procesa la información derivada del aprendizaje y en consecuencia los procesos que subyacen a la formación de la memoria.

En la presente tesis se sometió a la prueba experimental la proposición de que el estado amnésico inducido por la interferencia de la actividad de un neurotransmisor, en este caso la acetilcolina (ACh), puede ser evitado cuando las experiencias de aprendizaje son altamente emotivas, es decir mediante la aplicación de un alto grado de reforzamiento. Dicha hipótesis se ha pupuesto a prueba utilizando diferentes tareas de aprendizaje, lo novedoso del presente estudio es la utilización de una tarea espacial, específicamente el laberinto acuático de Morris, en donde fácilmente se pueden manipular las condiciones como: el número de ensayos y el momento de administración del fármaco durante la tarea, lo que hace que sea un paradigma muy útil para la investigación sobre los procesos neurobiológicos del aprendizaje espacial.

I. ANTECEDENTES

Una de las características más importantes del ser humano es su capacidad de aprender y recordar. El hombre puede reconocer estímulos que ha visto antes, realizar asociaciones entre ellos e incluso orientarse de acuerdo con las relaciones que establece entre los estímulos. La mayoría de los animales también se orientan en el espacio para organizar sus conductas en relación con el entorno en que se encuentran en cada momento. La navegación espacial es importante para muchos de los repertorios conductuales de los animales: búsqueda de comida, conducta parental, reproductiva y regreso al nido o huida a un lugar seguro entre otros (Vicens et al., 2003). Estos aprendizajes no se presentan sin antes pasar por el proceso de consolidación.

La hipótesis de la consolidación de la memoria propuesta 100 años atrás por Müller y Pilzecker continúa siendo una guía para el estudio de la memoria. Entre las conclusiones más importantes de su trabajo, se encuentra que la fijación de la memoria requiere de tiempo (consolidación) y que la memoria es vulnerable durante el periodo de consolidación (Müller y Pilzecker, 1900). Se sabe que la consolidación es el proceso que deriva del aprendizaje y permite que la información se almacene; es decir, permite la formación de la memoria. Diversos estudios han demostrado que este proceso se ve influenciado por neurotransmisores y hormonas (McGaugh, 2000).

2.1 Aprendizaje

El aprendizaje es el conjunto de modificaciones de las respuestas que se producen a partir de la experiencia (Thompson, 1974). En la actualidad la mayoría de los neurobiólogos aceptan que el aprendizaje es el proceso por medio del cual adquirimos nuevos conocimientos acerca de los eventos del mundo (Bermúdez-Rattoni y Prado-Alcalá, 2001).

Morgado (2005) define al aprendizaje como la experiencia que produce cambios en el sistema nervioso (SN) que pueden ser duraderos y se manifiestan en el comportamiento de los organismos.

La información derivada de una experiencia de aprendizaje podría quedar almacenada en virtud de cambios en la estructura y metabolismo neuronales (crecimiento dendrítico, génesis de espinas dendríticas, incremento en la producción y liberación de neurotransmisores, síntesis de receptores de membrana sensibles a neurotransmisores específicos, etc.) (Prado-Alcalá et al., 2006).

2.1.1 Aprendizaje espacial

Los roedores pueden adoptar cuatro formas principales de navegación; es decir, el procedimiento de búsqueda para la resolución de tareas espaciales: orientación, guía, cartográfica e integración de la ruta (Santin et al., 2000).

En el aprendizaje de orientación los animales basan su búsqueda en movimientos aprendidos durante la ejecución de la tarea; en el aprendizaje de guía aprenden asociaciones entre los estímulos señal y la meta. Estas dos formas de navegación se explican mediante paradigmas asociativos de condicionamiento. El aprendizaje cartográfico, implica el uso de señales distales con las que los animales se forman una representación de su entorno (mapa cognitivo) mediante el que localizan la meta. Por último, la integración de la ruta consiste en un proceso de actualización de la información cuando las pistas ambientales no ofrecen lo suficiente, mediante un sistema interno de referencia basado en el lugar de salida antes de iniciar la navegación, para lo que el animal podría utilizar principalmente pistas cinestésicas y señales vestibulares (Santin et al., 2000). Estas estrategias de navegación espacial parecen depender de distintos sistemas de memoria. Por ejemplo, en el laberinto de agua las ratas tienden a aproximarse a la plataforma sumergida desde una dirección conocida, sugiriendo la utilización de representaciones específicas para reconocer su localización, lo que implicaría establecer las relaciones entre los distintos estímulos (Wang y Spelke, 2002).

2.1.2 El aprendizaje normal e incrementado

Desde el punto de vista conductual, se han manejado dos niveles de aprendizaje: normal e incrementado.

Por aprendizaje normal se entiende aquella situación en la que el sujeto experimental ha recibido un número de sesiones de entrenamiento o una intensidad de estimulación aversiva (en el caso de condicionamiento de evitación) suficiente para que se manifieste la conducta aprendida o para alcanzar un nivel de ejecución asintótico. Este es el nivel de entrenamiento al que comúnmente se somete a los animales de experimentación para determinar los efectos de la administración de tratamientos experimentales. Por otra parte, la situación experimental en la que los sujetos son sometidos a un gran número de sesiones corresponde al aprendizaje incrementado (Prado-Alcalá et al., 2004).

2.1.3 El aprendizaje incrementado protege la pérdida de la memoria

El sistema de neurotransmisión que más ha recibido atención debido a su probable participación en los procesos de memoria es el sistema colinérgico. Numerosos estudios demuestran que la administración sistémica o intracerebral de antagonistas a acetilcolina producen deficiencias significativas en una gran variedad de tareas aprendidas incluyendo la evitación inhibitoria.

En 1990, Duran-Arévalo et al., confirmaron el clásico efecto amnésico producido por la administración intraperitoneal (i.p.) de escopolamina (bloqueador de los receptores muscarínicos a acetilcolina) a ratas, inmediatamente después del entrenamiento en la tarea de evitación inhibitoria con niveles moderados (3.0 mA) y altos (6.0 y 9.0 mA) de choque eléctrico. Encontrando amnesia en los grupos tratados con 3.0 mA. Y además contribuyeron a este campo con un importante hallazgo. Cuando los animales de experimentación fueron entrenados de igual manera, pero aumentando la intensidad del estímulo aversivo al doble o

triple de la intensidad que se aplicó cuando se produjo amnesia, el tratamiento con el anticolinérgico no produjo deficiencia alguna en la memoria (Duran-Arevalo et al., 1990), aunque también se han señalado algunos resultados negativos (Lewis y Bregman, 1972).

Siguiendo esta línea experimental, Cruz-Morales et al. (1992), realizaron un estudio para determinar si el efecto protector inducido por el incremento en la experiencia de aprendizaje era inducido en forma gradual o si se tenía que alcanzar cierto umbral de activación para que se diera este efecto. Entrenaron ratas aplicando, en grupos independientes, intensidades de choque eléctrico que se fueron incrementando en pasos de 0.1 mA. Encontraron que, a pesar de que todas las intensidades produjeron un aprendizaje óptimo en los grupos controles, dentro de un rango de intensidades relativamente bajas, la administración i.p. de escopolamina produjo un fuerte cuadro amnésico, pero a partir de cierta intensidad, bastó con incrementarla en 0.1 mA (menos del 4%) para que a partir de ese punto el tratamiento farmacológico ya no tuviera efecto alguno sobre la memoria. Algunas variables conductuales relacionadas con los procedimientos del entrenamiento tales como la magnitud del reforzamiento y el grado de entrenamiento previenen el efecto amnésico de los anticolinérgicos administrados después del entrenamiento.

De igual forma Quirarte et al. (1993) estudiaron los efectos de la escopolamina inyectada sistémicamente después del entrenamiento, sobre la consolidación de la memoria de grupos de ratas entrenadas con choques bajos, medianos o altos. Como era de esperarse la escopolamina produjo el típico cuadro amnésico en los grupos con un nivel de entrenamiento intermedio y ningún efecto en los animales con un alto nivel de entrenamiento. Sorpresivamente, los animales con un bajo nivel de entrenamiento no mostraron deficiencia alguna en su memoria.

La explicación de Quirarte y colaboradores a esto es que, cuando el animal se enfrenta a una situación en la que la integridad física no está amenazada (baja intensidad de choque eléctrico) sistemas neuroquímicos diferentes al colinérgico se encargan de que la información derivada de la experiencia de aprendizaje quede almacenada. Cuando la situación se torna relativamente peligrosa (intensidades normales y supranormales de choque) la activación de los sistemas colinérgicos es indispensable para que la memoria del evento se consolide. Por último, cuando la integridad del organismo está seriamente amenazada (intensidades bastante altas de choque eléctrico) se activarán simultáneamente múltiples sistemas neuroquímicos, de tal manera que aunque el colinérgico sigue participando en los procesos de consolidación, este ya no es indispensable para que se almacene la memoria, mientras que los restantes se hacen cargo de esta función (Quirarte et al., 1993).

La explicación que da Cruz-Morales et al. (1992) es que al incrementar la magnitud del reforzador se alcanza un umbral a partir del cual la actividad colinérgica del sistema nervioso central no es necesaria para el proceso de consolidación. Tanto el efecto protector del alto reforzamiento como su establecimiento a partir de una intensidad umbral fue confirmado un año más tarde (Prado-Alcalá y Quirarte, 1993) y reforzada años después (Quirarte et al., 2004).

En conjunto, estos datos indican que la actividad colinérgica cerebral es indispensable para que se lleve a cabo la consolidación de la memoria cuando hay un nivel “intermedio” de aprendizaje, es decir, cuando la magnitud de los estímulos reforzantes no es muy grande ni muy pequeña. También puede decirse que el aprendizaje incrementado protege a la memoria en contra de tratamientos amnésicos de agentes anticolinérgicos (Prado-Alcalá et al., 2006). Una pregunta importante en este campo de la investigación fue, si este fenómeno pudiera generalizarse a otros sistemas neuroquímicos. Como se describe a continuación la respuesta fue positiva.

La depleción, el bloqueo de la serotonina cerebral y lesiones de vías del sistema serotoninérgico central impiden el aprendizaje normal y la memoria, mientras que la activación de alguno de los 14 subtipos de receptores de serotonina mejoran el proceso cognitivo (Altman y Normile, 1986).

En un primer acercamiento para saber si el incremento en el aprendizaje contrarresta el típico efecto amnésico de la interferencia de la actividad serotoninérgica, se utilizó p-cloroanfetamina (PCA). Cuando se inyecta i.p. PCA se produce una importante depleción de serotonina cerebral, ya que causa la lesión de neuronas que sintetizan y de axones que contienen el neurotransmisor.

Se ha reportado el efecto protector del aprendizaje incrementado en contra de los efectos amnésicos de una droga que interfiere con la actividad serotoninérgica cerebral (PCA). Se entrenaron ratas que fueron inyectadas i.p. con PCA o solución salina 30 minutos antes de ser sometidas al entrenamiento de evitación inhibitoria, usando intensidades altas de choques eléctricos (2.0, 2.5, 3.0 o 3.5 mA). La retención de la tarea se probó 24 horas más tarde, encontrando que las dos intensidades más bajas presentaron el típico cuadro amnésico, mientras que con las intensidades de 3.0 y 3.5 mA se encontró un efecto protector de la memoria en contra de los efectos amnésicos que produce la PCA (Solana-Figueroa et al., 2002).

El efecto protector contra la interferencia con la memoria, producida por la administración de PCA ha sido corroborado y extendido a otro tipo de aprendizaje: la evitación activa, esta tarea implica que los sujetos deben desplegar una activación motora, para así evitar que les sea administrado un estímulo aversivo. Se estudiaron grupos de ratas a las que se aplicó la PCA 30 minutos antes del entrenamiento de evitación activa en una sesión de 20 ensayos. En grupos independientes se aplicó una variedad de intensidades de choque eléctrico, encontrándose una deficiencia significativa en la adquisición de la tarea en los grupos que recibieron intensidades bajas; en contraste cuando el entrenamiento

se llevó a cabo aplicando una intensidad alta, los animales mostraron un aprendizaje perfecto (Galindo et al., 2008).

El efecto protector en contra de la amnesia, producido por el incremento en la experiencia de aprendizaje dio lugar a una nueva hipótesis de que el mismo efecto se encontraría al bloquear la actividad del sistema GABAérgico. Se entrenaron ratas en la tarea de evitación inhibitoria usando una intensidad de 2.0 mA, dos minutos después del entrenamiento se inyectó picrotoxina (1µg/1 µl), un bloqueador de la acción del GABA en las regiones posteroventral y lateral. La prueba de retención 24 horas después del entrenamiento sugiere que la actividad GABAérgica juega un rol crucial en la consolidación de la memoria (Salado-Castillo et al., 1996).

Cobos-Zapiaín et al. (1996) decidieron explorar los efectos de la administración de bicuculina y de picrotoxina (bloqueadores de la acción de GABA) en la sustancia nigra, en grupos independientes de ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria con un alto (2.0 mA) o bajo (4.0 mA) nivel de estimulación aversiva. Los resultados ya no fueron sorprendentes ambas drogas produjeron amnesia en los grupos de bajo entrenamiento, mientras que los entrenados con un alto nivel de choque eléctrico no sufrieron deterioro alguno en su memoria.

Debido a la importancia del efecto protector encontrado, diferentes autores exploraron estructuras cerebrales que participan en los procesos de la memoria. Con la posibilidad de encontrar el mismo efecto protector al incrementar el aprendizaje, cuando se lesiona o inactiva una estructura.

Se encontró el efecto protector del aprendizaje incrementado, en animales a los que se les lesionó crónicamente o se les inactivó reversiblemente la amígdala o el hipocampo, estos resultados indican que el efecto protector descrito puede generalizarse a estructuras pertenecientes al sistema límbico (Salado-

Castillo et al., 1995; Martínez et al., 2002; Solana-Figueroa et al., 2002; Quiroz et al., 2003).

Más tarde Quirarte et al. (2004) mencionan que, al incrementar la intensidad del choque eléctrico en la tarea de evitación inhibitoria, en condiciones de aprendizaje incrementado y administrando antagonistas ya sea al sistema colinérgico o al sistema serotoninérgico, los sistemas que mantienen su actividad normal son suficientes para que se establezca la memoria de largo plazo. También proponen que estructuras cerebrales, tales como el estriado, la amígdala y la sustancia nigra tienen una participación diferencial en la intensidad del aprendizaje.

El efecto protector del aprendizaje incrementado también sucede cuando este es mediado por reforzadores positivos; dicho efecto no es privativo para una sola especie animal, sino que cuando menos se manifiesta en roedores y felinos. También es importante hacer notar que el alto nivel de entrenamiento protege a la memoria en contra de los efectos de un buen número de agentes amnésicos, tales como las lesiones permanentes, la inactivación reversible producida por la lidocaína, la tetrodotoxina, la escopolamina, la bicuculina y la picrotoxina, así como agentes que depletan la serotonina cerebral (Prado-Alcalá et al., 2006).

2.1.4 Modelos en serie y paralelo de la memoria

Modelo en serie de la memoria

En muchos casos, si se interfiere con la actividad normal de una estructura cerebral determinada se produce una deficiencia en la consolidación o en la retención de la memoria. Lo mismo ocurre si se interfiere con la actividad de alguna otra estructura, y así sucesivamente. El punto es que existe un conjunto de núcleos cerebrales que son indispensables para que se establezca la memoria y que basta con que uno sólo de ellos no funcione correctamente para que la información derivada del aprendizaje no sea almacenada. Estos hechos

permitieron postular que estas estructuras están conectadas funcionalmente, en serie, y que la información derivada de una experiencia de aprendizaje debe transitar por todas ellas para llegar a algún centro de integración, de cuya activación depende la consolidación de la memoria (Figura 1) (Prado-Alcalá, 1995).

Modelo en paralelo de la memoria

Postula que en condiciones de aprendizaje mediado por altos niveles de reforzadores positivos o negativos, o por un número incrementado de ensayos o de sesiones de entrenamiento (o por alguna combinación de estos factores), las estructuras que originalmente estaban conectadas en serie (u otras estructuras sumadas a las originales), ahora sufren un cambio, conectándose funcionalmente en paralelo. De esta forma, aunque alguna de las estructuras del circuito no funcione normalmente o esté dañada, la actividad derivada de la experiencia de aprendizaje podrá seguir su trayecto hacia un posible centro integrador, haciendo posible la consolidación de la memoria (Figura 2) (Prado-Alcalá, 1995).

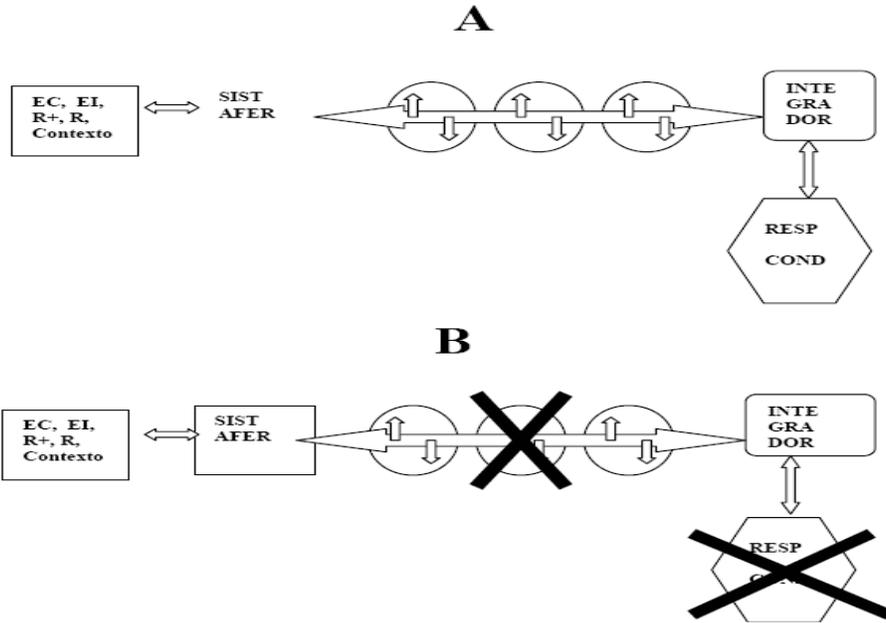


Figura 1. Modelo que representa la manera en que en condiciones de aprendizaje considerado normal, la interferencia con la actividad de estructuras cerebrales produce amnesia. La información de la situación de aprendizaje (EC, estímulo condicionado, EI, estímulo incondicionado, R+, reforzador positivo y R reforzado) es captada por los sistemas sensoriales o aferentes (SIST AFER) y es relevada a las distintas estructuras (óvalos) que intervienen en el proceso de consolidación de la memoria; a su vez, estas se comunican con un integrador de información que permite el almacenamiento o consolidación, así como la ejecución de la respuesta condicionada (RESP COND). En este sistema, el flujo de información es bidireccional entre todos los elementos que están conectados, funcionalmente, en serie (Modificado de Prado-Alcalá et al., 2006).

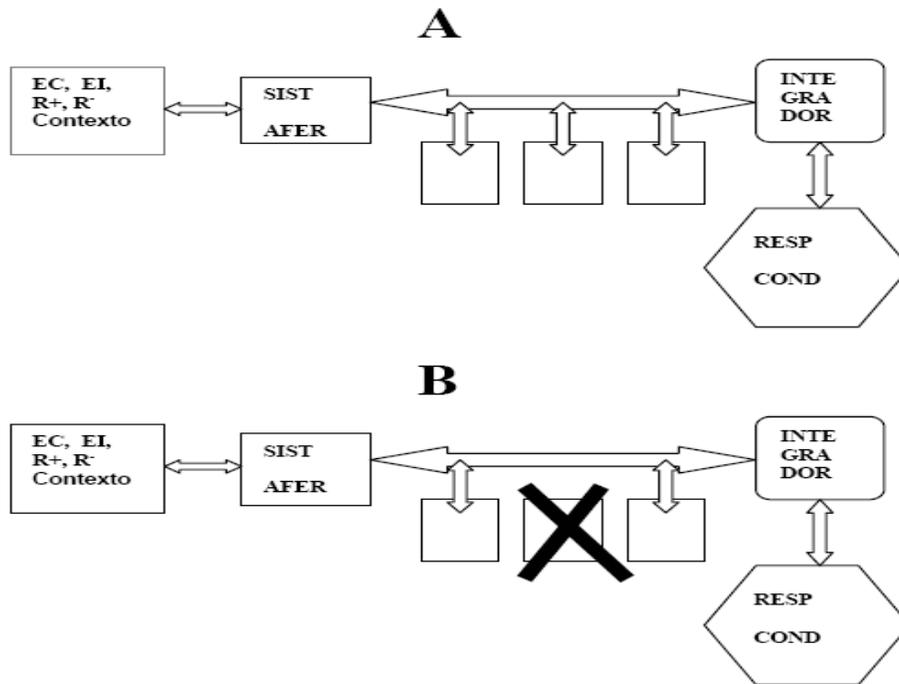


Figura 2. Modelo que representa la manera en que el aprendizaje incrementado protege en contra de la amnesia que habitualmente se produce por la aplicación de tratamientos que típicamente impiden la consolidación de la memoria, interfiriendo con la actividad de ciertas estructuras cerebrales. La información procedente de la situación de aprendizaje (EC, estímulo condicionado, EI, estímulo incondicionado, R+, reforzador positivo y R reforzado) es captada por los sistemas sensoriales o aferentes (SIST AFER) y es relevada a las distintas estructuras que intervienen en el proceso de consolidación de la memoria (rectángulos entre SIST AFER e INTEGRADOR); a su vez, estas se comunican con un integrador de información que permite el almacenamiento o consolidación, así como la ejecución de la respuesta condicionada (RESP COND). En este sistema el flujo de información es bidireccional entre todos los elementos, pero como consecuencia del aprendizaje incrementado, las estructuras involucradas en la consolidación de la memoria sufren un cambio funcional y se reconectan en paralelo (Modificado de Prado-Alcalá et al., 2006).

2.2 Consolidación

La hipótesis de la consolidación, postula que la memoria se forma después de una experiencia inicial que al principio es frágil, y que con el transcurso del tiempo se estabiliza y se torna menos vulnerable a la interferencia (Prado-Alcalá et al., 2004).

Un protocolo clásico para estudiar la consolidación es el entrenamiento de evitación inhibitoria, también conocido como prevención pasiva, seguido por la administración de tratamientos amnésicos, tales como choques electroconvulsivos, hipoxia, hipotermia, inhibidores de la síntesis de proteínas y toda una gama de drogas que afectan el funcionamiento del sistema nervioso, particularmente la transmisión sináptica. También son utilizadas las tareas espaciales, para estudiar la consolidación, entre otras (Prado-Alcalá et al., 2004).

Conforme se incrementa el intervalo entre el entrenamiento y la aplicación del tratamiento el estado amnésico es menor, hasta que llega un punto en el que el tratamiento es totalmente inefectivo; es decir, la memoria se encuentra intacta; este momento define la conclusión del proceso de consolidación. La duración del proceso de consolidación varía desde unos cuantos segundos o minutos, dependiendo del tipo de tarea y del agente amnésico estudiado (McGaugh, 1966).

2.3 Memoria

El proceso de memoria es clásicamente dividido en las siguientes fases 1) adquisición, siendo esta fase la primera confrontación con una experiencia; 2) retención, la cual consiste en el almacenamiento de la información que conlleva a modificaciones en el sistema nervioso (consolidación); 3) evocación, la cual se refiere a la recuperación de la información y 4) extinción, en la cual se va reduciendo la magnitud de la respuesta (Prado-Alcalá, 1991; Kalat, 1995).

Desde el punto de vista neurobiológico, la memoria es definida bajo dos categorías funcionales: la memoria de corto plazo y la de largo plazo. La primera es una memoria lábil, de poca capacidad y duración reducida, mientras que la segunda es relativamente permanente, de gran capacidad y resistente a la interferencia (Prado-Alcalá et al., 2004).

2.3.1 Memoria de corto plazo

Una hipótesis relativamente antigua, pero que es vigente, acerca del establecimiento de la memoria de corto plazo asevera que este tipo de memoria depende de actividad reverberante en circuitos neuronales, inducida por la experiencia de aprendizaje. En esta memoria se guardan datos que son útiles durante periodos temporales cortos (Hebb, 1949).

La memoria de corto plazo es de corta duración y puede consolidarse y pasar a la memoria de largo plazo que es más permanente. Esta memoria es lábil y parece deberse a la actividad eléctrica del sistema nervioso, así como de diferentes sistemas de neurotransmisión (Cruz-Morales, 2006).

2.3.2 Memoria de largo plazo

La memoria de largo plazo depende de que la información adquirida haya ocupado primero el pequeño almacén de corto plazo. La conversión de la memoria de corto a la de largo plazo depende de un proceso hipotético denominado consolidación; parece que esta conversión está supeditada a por lo menos dos factores dependientes de la experiencia: la importancia relativa que la información tiene para el organismo y la frecuencia con la que la información es captada por el sistema nervioso (Prado-Alcalá et al., 2004).

El almacenamiento de este tipo de memoria produce cambios sinápticos y a nivel molecular se producen cambios morfológicos en el sistema nervioso (Cruz-Morales, 2006). Depende de la interacción de múltiples sistemas de neurotransmisores, que ejercen su acción en diversas estructuras cerebrales. Entre aquellos, los más estudiados y de los que no hay duda acerca de su participación en la consolidación de la memoria están la acetilcolina (ACh) y la serotonina (5-HT) (Quirarte et al., 2004).

Otra forma en que recientemente es dividida la memoria de acuerdo a la estructura cerebral encargada de formarla, es la memoria declarativa y la memoria de procedimiento. Cada una de las memorias está involucrada con alguna estructura del cerebro como se muestra en la Figura 3.

2.3.3 Memoria no declarativa o de procedimiento (implícita)

Es una memoria evocada inconscientemente (Milner et al., 1998; Kandel et al., 2000); es la información que se refiere a cómo realizar alguna tarea, por ejemplo como manejar una bicicleta. Ésta conlleva cambios en las habilidades conductuales y es la que facilita responder apropiadamente a un estímulo por medio de la práctica, aún siendo afectada por la amnesia (Cohen y Squire, 1980), pues involucra el entrenamiento de reflejos motores o habilidades de percepción (Milner et al., 1998). También promueve la habilidad para detectar o identificar objetos como el resultado de una previa exposición a ellos, lo que se conoce como *priming* (Shimamura, 1986). Para esta memoria, el desempeño cambia como resultado de la práctica, pero sin tener un acceso consciente a estos eventos previos (Squire y McKee, 1993).

Podemos decir que la memoria implícita es rígida y está estrechamente conectada a las condiciones del estímulo original bajo el cual ocurrió el aprendizaje. Además, depende de estructuras como el estriado y la neocorteza.

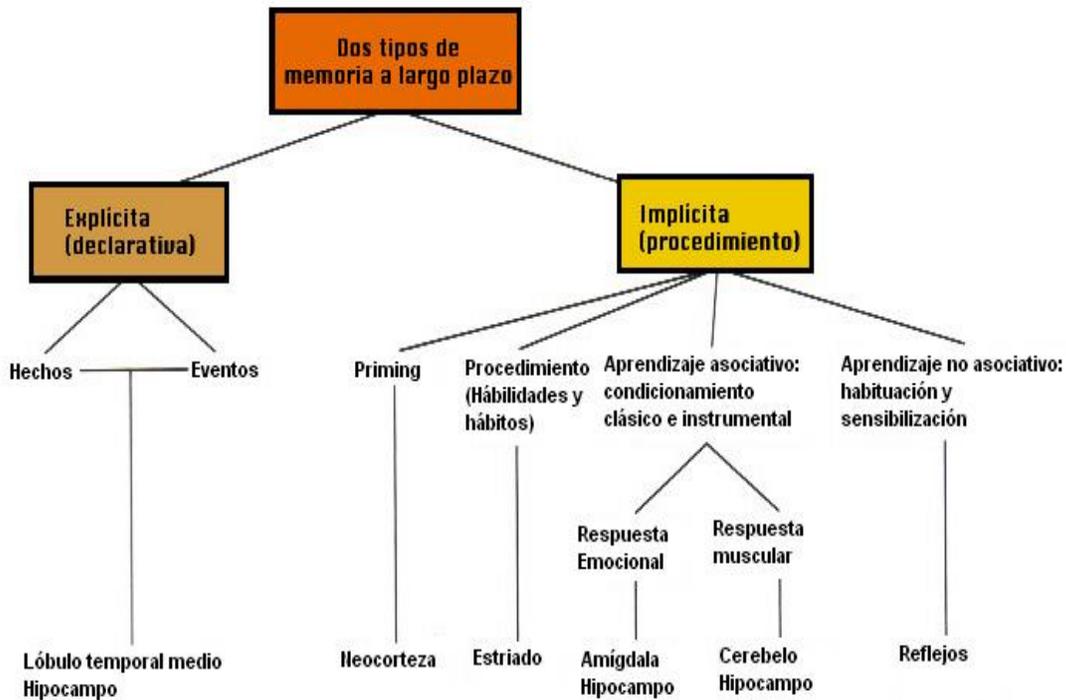


Figura 3. Modelo que proponen Thompson y Kim para explicar las posibles estructuras que se hallan involucradas en los procesos de memoria explícita e implícita (Modificado de Kandel et al., 2000).

2.3.4 Memoria declarativa (explícita)

Esta memoria es a la que nos referimos coloquialmente cuando hablamos de la memoria. El conocimiento de personas, lugares, cosas, y saber lo que estas significan (Kandel y Squire, 2000). Depende de la integridad del lóbulo temporal medio y del hipocampo. Nos permite ser capaces de recordar hechos y eventos por un esfuerzo deliberado y consciente, así como modelar el mundo exterior (Thompson y Kim, 1996; Squire y Kandel, 1999a). Es proposicional, es decir, puede ser verdadera o falsa (Squire y McKee, 1993; Milner et al., 1998).

La memoria explícita es muy flexible e involucra la asociación de muchos pedazos de información.

2.3.5 Memoria de trabajo

La llamada memoria de trabajo (MT) consiste en la representación consciente y manipulación temporal de la información necesaria para realizar operaciones cognitivas complejas, como el aprendizaje, la comprensión del lenguaje o el razonamiento. Su relevancia se acrecienta por su contribución a la memoria de largo plazo y por su relación con la inteligencia fluida; es decir, con la capacidad de razonamiento general y de resolución de problemas. La MT se ha estudiado preferentemente en tareas de respuesta demorada, donde el sujeto tiene que memorizar temporalmente la información que le permitirá responder más tarde adecuadamente (Morgado, 2005).

2.3.6 Memoria espacial

Nos referimos a la memoria espacial como aquella con la cual realizamos mapas mentales para ubicarnos en el espacio y guiarnos a través de un lugar determinado. Forma parte de la memoria declarativa, ya que podemos formar una imagen mental del mapa que se utiliza (Squire y Kandel, 1999b). El entrenamiento en el laberinto acuático de Morris evalúa la memoria espacial.

El aprendizaje y la memoria espacial se relacionan con la capacidad de adquirir y retener asociaciones de las características del ambiente, lo que permite al organismo desenvolverse en el espacio. La memoria espacial consiste en múltiples mecanismos especializados en codificar, almacenar y recuperar información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales (Vicens et al., 2003).

Existe amplia evidencia del papel crítico que juega el hipocampo en la memoria espacial en roedores. En 1978, O'Keefe y Nadel propusieron que el hipocampo podría ser la estructura cerebral a través de la cual se forma el mapa cognitivo que permite al animal navegar en el espacio. Los animales pueden realizar una representación de las relaciones espaciales mediante las

estimaciones de la distancia y las relaciones entre estímulos. Se ha asociado a la potenciación a largo plazo (LTP) del hipocampo con este tipo de aprendizaje espacial (D'Hooge y de Deyn, 2001).

Estudios recientes confirman la estrecha correlación entre la memoria espacial evaluada en el laberinto de agua y las representaciones espaciales en el hipocampo (Gallagher et al., 2003).

2.4 Recuerdo y olvido

El recuerdo puede ser rápido y automático en el caso de las respuestas reflejadas condicionadas e incondicionadas. En muchas situaciones el recuerdo es una reconstrucción del pasado que se basa no sólo en la información originalmente adquirida, sino también en los nuevos conocimientos, motivaciones, sentimientos y experiencias de toda índole (Morgado, 2005). Es por tanto un proceso activo cuyo resultado puede no ser idéntico a la experiencia original. Se ha observado que las regiones sensoriales específicas de la corteza cerebral activadas durante una percepción se reactivan diferencialmente durante el recuerdo de la misma información, y que las regiones de la corteza visual que responden preferentemente a la percepción de diferentes tipos de objetos muestran una activación similar cuando el sujeto trata de imaginar esos mismos objetos (Buckner y Wheeler, 2001).

Un tipo particular de recuerdo es la memoria de reconocimiento, basada en dos procesos cognitivos independientes: el recuerdo consciente de una experiencia específica y un sentido añadido de familiaridad derivado de la exposición previa a estímulos particulares. Es decir, la recolección verídica de la experiencia parece implicar la reactivación de los procesos o representaciones presentes durante la codificación original (Kahn et al., 2004). El hipocampo podría ser una estructura críticamente involucrada en esa reactivación, tal como indican los resultados de recientes experimentos que han puesto de manifiesto la

existencia en ratas de un proceso dual similar de memoria de reconocimiento (Fortin et al., 2004).

Los mecanismos moleculares del recuerdo se han estudiado también en roedores. Un estudio con ratones transgénicos ha mostrado la necesidad de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) en la región CA3 (Cuerno de Ammon) del hipocampo para que los animales sean capaces de recordar un aprendizaje espacial en la prueba del LAM cuando el estímulo que activa la memoria consiste únicamente en una fracción del original (Nakazawa et al., 2002). En ratas se ha observado también que el recuerdo del aprendizaje en la tarea de evitación de un ensayo requiere de la activación de receptores de glutamato y proteincinasas en el hipocampo y las cortezas entorrinal, parietal posterior y cingulada anterior (Barros et al., 2003).

También la línea cognitiva tiene una explicación para el importante mecanismo del olvido. Se ha considerado el olvido como un proceso más de aprendizaje, pues es también una modificación de esquemas para adaptarse a las situaciones cambiantes. Cuando se van incorporando nuevos datos a la memoria, en el reajuste que se realiza, la información se transforma recordándose integrada muchas veces de manera distinta a como se introdujo, habiéndose eliminado datos superfluos o poco significativos y quedando únicamente aquellos que engendran emociones que ya de por sí les brindan relevancia.

Es así como se van organizando esquemas y estructuras mentales, de manera compleja, con elementos que paulatinamente se incorporan y de los cuales se hace una selección al organizarlos y clasificarlos mentalmente (Morgado, 2005).

2.5 Reconsolidación

Los estímulos que elicitán el recuerdo podrían tener efectos diferentes según su duración. Los breves tienden a iniciar un proceso hipotético conocido como “reconsolidación de la memoria”, que consiste en que cuando una memoria

ya consolidada se reactiva, se vuelve nuevamente lábil y capaz de alterarse o recomponerse si en ese momento se introduce nueva información o algún tratamiento específico (Morgado, 2005).

La reconsolidación, en cualquier caso, parece depender de la fuerza y antigüedad de la memoria original, ya que las recientes y débiles son más fácilmente reconsolidables que las antiguas y fuertes (Suzuki et al., 2004). Sin embargo, investigaciones recientes cuestionan el proceso mismo de la reconsolidación al no observar labilidad tras la reactivación de la memoria (Biedenkapp y Rudy, 2004; Cammarota et al., 2004) o comprobar que los efectos de la inhibición proteica tras la reactivación son sólo temporales (Lattal et al., 2004).

Al recordar no se forma una nueva traza de la memoria, como proponen los teóricos de la reconsolidación, sino que se activa un proceso celular distinto que podría servir para mantener la memoria que ya existía (Lee et al., 2004).

2.6 Sistema Nervioso

El sistema nervioso se divide esquemáticamente en dos grandes componentes: El sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El SNC incluye las estructuras nerviosas del cerebro y de la médula espinal, situadas dentro del cráneo y del conducto raquídeo respectivamente, y el SNP a todos los axones aferentes y eferentes del SNC y a las neuronas localizadas por fuera de esas estructuras centrales. (Malgor-Valsecia, 2000).

La organización de numerosas regiones del sistema nervioso se ve influenciada por sustancias neuroquímicas, entre las que se incluyen las hormonas y los neurotransmisores. Además muchos circuitos neurales son activados o inhibidos por mensajes químicos (Rosenzweig y Leiman, 1998).

Existen varios neurotransmisores en el cerebro, la acetilcolina es uno de estos, ya que interactúa en la regulación de múltiples funciones importantes en el cerebro.

2.6.1 Acetilcolina

La acetilcolina (ACh) fue el primer neurotransmisor caracterizado tanto en el SNP como en el SNC de los mamíferos, participa en la regulación de diversas funciones como fenómenos de activación cortical, el paso de sueño a vigilia y los procesos de memoria y de asociación. Se le denominó acetilcolina, pues su estructura química resulta ser de gran simplicidad, un éter del ácido acético y la colina (Figura 4).

En la periferia, la ACh es el neurotransmisor del sistema nervioso parasimpático y se conoce, desde hace más de 60 años la existencia de diversos subtipos de receptores que median sus acciones. La enorme riqueza de terminales colinérgicas en la placa motora y el órgano eléctrico del pez *Torpedo marmorata* ha constituido una ayuda de primer orden en el esclarecimiento de la neurotransmisión colinérgica. Así, el receptor nicotínico es el primer receptor de neurotransmisores purificado y del cual se conoció su estructura primaria. Durante la década de los noventa y gracias a la aplicación de técnicas de Biología Molecular, se han clonado e identificado distintos subtipos de receptores colinérgicos (nicotínicos y muscarínicos) (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

La participación de la ACh en multitud de funciones fisiológicas y su carácter de neurotransmisor en la unión neuromuscular, propició la aparición de una farmacología muy extensa, destinada a bloquear o incrementar la actividad colinérgica en la periferia; sin embargo, existen pocos fármacos con acción selectiva para los sistemas colinérgicos cerebrales (Díaz-Hernández et al., 2000).

En el cerebro de los mamíferos, el efecto fisiológico más importante de la ACh es una reducción de la permeabilidad a K⁺, de tal forma que las neuronas sensibles a la ACh son más susceptibles a otras influencias excitatorias. Todas las regiones de la corteza cerebral están inervadas por acetilcolina, por lo que no es de extrañar que la función cortical esté fuertemente influida por la ACh. Por ello, varios grupos neuronales están relacionados esencialmente con fenómenos de activación cortical, el paso de sueño a vigilia y también con la memoria (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

Las vías colinérgicas del hipocampo parecen estar también involucradas en procesos de memoria y asociación. Se ha sugerido que la inervación colinérgica de áreas corticales y límbicas, tienen participación en procesos de consolidación de la memoria y de componentes emocionales. Finalmente, las neuronas colinérgicas del estriado juegan un papel primordial en el control de la actividad motora (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

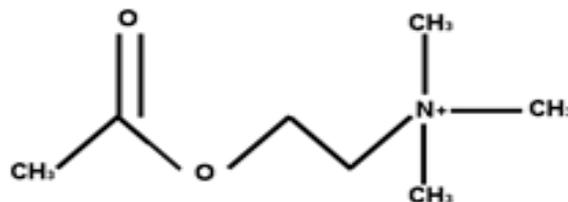


Figura 4. Estructura química de la acetilcolina

2.6.2 Síntesis

En el cerebro de los mamíferos, la información entre las neuronas se transmite a través de neurotransmisores, que se liberan en las sinapsis como respuesta a un estímulo específico. El neurotransmisor secretado actúa en sitios receptores especializados y altamente selectivos, que se localizan en la célula postsináptica, lo que provoca cambios en el metabolismo de esta, los cuales

modifican su actividad celular. Uno de los neurotransmisores involucrados en este proceso es la ACh (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

La ACh se sintetiza a partir de la colina, que se acumula en las neuronas colinérgicas mediante una reacción con la enzima acetil CoA y bajo la influencia enzimática de la colina acetiltransferasa (CAT). La CAT se localiza en el SNC, específicamente donde tiene lugar la síntesis de ACh. La mayor actividad de la CAT se encuentra en el núcleo interpeduncular, el núcleo caudado, la retina, el epitelio coronal, el hipocampo, la corteza cerebral y las raíces ventrales de la médula espinal; se sintetiza en el soma neuronal y viaja a lo largo del axón, posiblemente unida a los neurotúbulos, que actúan como transportadores; sin embargo, también se ha señalado la síntesis de esta proteína en los axones preterminales y botones terminales (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

2.6.3 Liberación

En las terminales colinérgicas el neurotransmisor es sintetizado en el citoplasma, de donde puede ser liberado directamente al espacio sináptico, o bien, ser transportado al interior de las vesículas sinápticas para ser liberado por exocitosis (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

En este proceso, la acetilcolina contenida en vesículas es liberada al exterior al fusionarse la membrana vesicular con la membrana de la terminal presináptica. Este mecanismo está constituido por varias etapas; primeramente, las vesículas transportan el neurotransmisor a su interior mediante una proteína transportadora con 12 dominios transmembranales, que utilizan un gradiente electroquímico generado por una bomba (ATPasa) de protones (H⁺). La mayor parte de las vesículas sinápticas (~90%) que contienen el neurotransmisor, no están libres en el citoplasma, sino que se encuentran unidas al citoesqueleto de la terminal presináptica mediante la interacción de proteínas presentes en la

membrana de la vesícula (sinapsinas I y II) con proteínas del citoesqueleto (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

Característicamente, las sinapsinas son fosforiladas por diversas cinasas de proteína, que incluyen las cinasas I y II, dependientes de iones de Ca^{++} y de la proteína calmodulina (CaMK I y CaMK II), y por la cinasa dependiente de AMPc (PKA). Cuando un potencial de acción alcanza la terminal nerviosa, se genera un potencial de membrana que activa canales de Ca^{++} . Debido al gradiente electroquímico, se genera un influjo de iones de Ca^{++} , que en conjunto con la calmodulina activan las cinasas CaMK I y CaMK II, las que fosforilan a la sinapsina I (CaMK I y CaMK II) y a la sinapsina II (CaMLII) (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

La adición de un grupo fosfato a las sinapsinas debilita la unión de las vesículas sinápticas al citoesqueleto, facilitando así su transporte a la zona activa. Una vez transportadas, las vesículas se fijan a la zona activa (anclaje o “docking”), donde experimentan un proceso que las hace competentes para la exocitosis (maduración o “priming”) (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

La propagación del impulso nervioso hacia la terminal axónica, despolariza la terminal, llevando su potencial desde -70 mV hasta +20 o +30 mV, lo que permite la apertura de canales de Ca^{++} sensibles al voltaje, particularmente aquellos que se abren en el rango de -20 a 0 mV (canales de alto umbral, que incluyen a los tipos L, N, P y Q). La apertura de estos canales permite que en su vecindad se formen zonas de alta densidad (“nubes”) de Ca^{++} , donde su concentración llega a ser hasta de 100-200 M, es decir, 1,000 veces la concentración en reposo (100-200 nM) (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

El aumento de la concentración de Ca^{++} afecta a diversas proteínas, entre ellas, aquellas involucradas en la exocitosis, en un proceso donde una proteína, la sinaptotagmina, parece funcionar como un sensor de Ca^{++} , que

termina de manera súbita el proceso de fusión de la vesícula una vez que se han formado complejos por proteínas, como la syntaxina, la SNAP-25, el factor sensible a netilmaleimida (NSF) y proteínas de unión a NSF o SNAPs (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

La acetilcolina liberada al espacio sináptico actúa sobre sus receptores o puede ser hidrolizada por acción de la acetilcolinesterasa. Lo anterior permite la inducción de cambios bioquímicos y eléctricos en la célula postsináptica, que depende del tipo de receptor y de la forma en que éste se encuentre sincronizado con los sistemas de transducción (Figura 5) (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

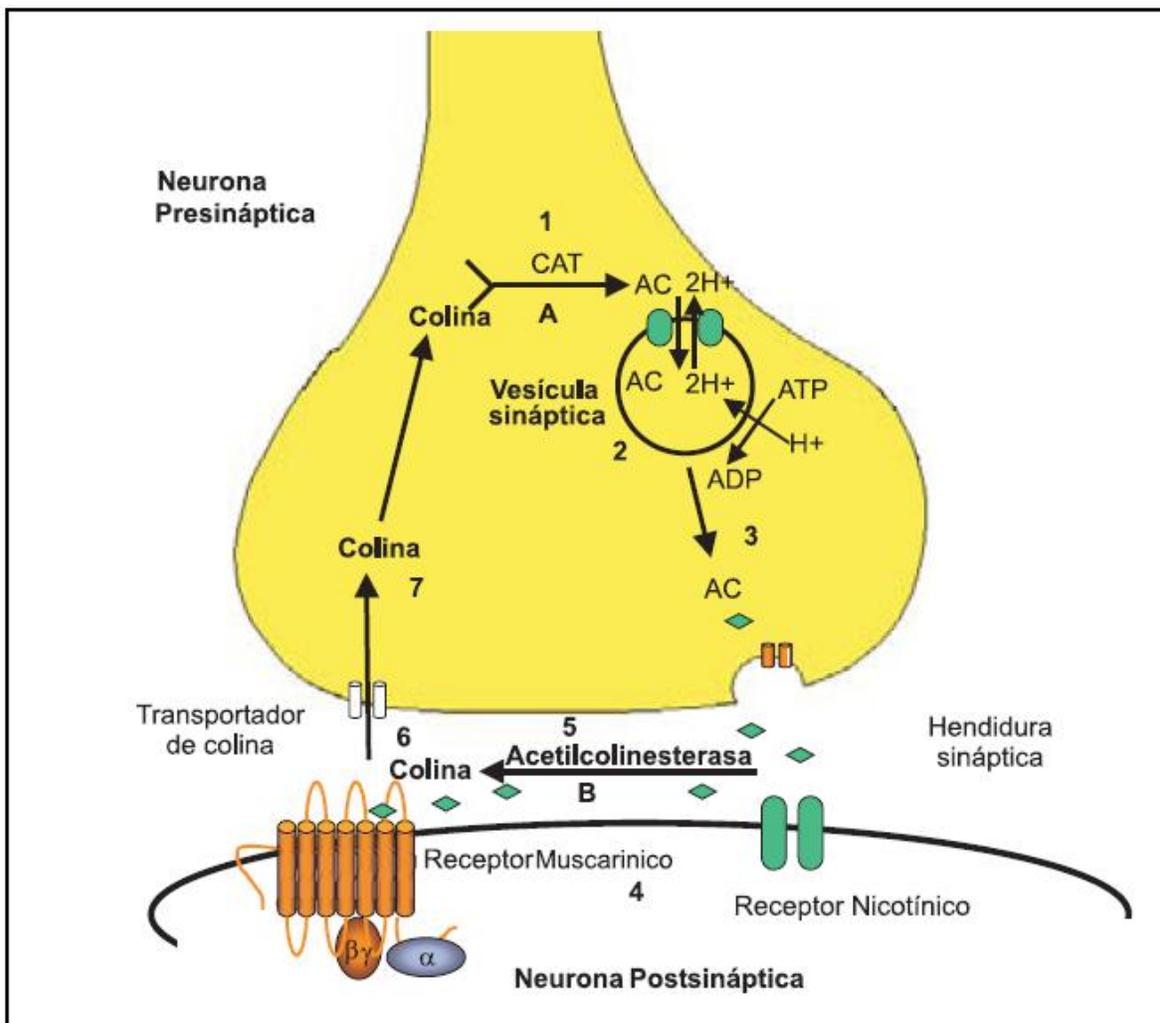


Figura 5. Sinapsis colinérgica (Modificado de Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

6.4 Receptores

Los receptores de membrana, cuya función principal es la transducción de señales, pueden dividirse en dos tipos:

1. Los receptores que permiten la apertura de canales iónicos, como los nicotínicos para ACh, GABA y los de glicina, que poseen un sitio de unión para el neurotransmisor y contiene el canal iónico responsable de transmitir la señal hacia el interior de la célula.

2. Un segundo tipo de receptor que interactúa con proteínas unidas a nucleótidos de guanina (proteína G), como los colinérgicos de tipo muscarínico.

Los receptores muscarínicos están presentes en diversos órganos y tejidos en la periferia (tejido cardíaco, músculo liso y glándulas exócrinas) y dentro del sistema nervioso central. En el cerebro, los receptores muscarínicos están presentes en terminales sinápticas, regulando la liberación de neurotransmisores autorreceptores y heterorreceptores. Poseen, asimismo, una localización somatodendrítica en diversos tipos de neuronas, tanto colinérgicas como de otros tipos (Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

Los receptores muscarínicos son una superfamilia de receptores acoplados a proteínas G, responsables de la mediación metabotrópica de los efectos del neurotransmisor acetilcolina.

En los seres humanos y otros mamíferos, los cinco subtipos de receptores han sido identificados, denominados M1 a M5, y estos han sido subdivididos en M1/M3/M5 y M2/M4 subgrupos basada en similitudes de secuencia o preferencias de transducción de señales de acoplamiento. Todos son receptores de membrana con una estructura común, con siete dominios transmembranales y los extremos, tanto amino como carboxilo terminal, dentro y fuera de la neurona, respectivamente (Thomas et al., 2008).

El tercer bucle intracelular es el más largo y constituye el nexo de unión con las proteínas G, cuyo acoplamiento es necesario para la activación de los mecanismos efectores. Así, los sistemas de receptores dependientes de proteínas G están formados por tres proteínas distintas: la proteína receptora o de reconocimiento, la proteína G y la proteína efectora (Figura 6) (Richmond y Jorgensen, 1999; Struckmann et al., 2003).

Los receptores acoplados con proteínas G, entre los que se encuentran los muscarínicos, pueden ejercer gran variedad de acciones intracelulares, según el tipo de proteína G a la que se encuentren acoplados, que incluyen respuestas rápidas o lentas, con activación/inhibición de diversas vías de mensajeros intracelulares o segundos mensajeros. Las cuatro vías principales están mediadas por AMP cíclico, GMP cíclico, iones Ca^{++} y por productos de la hidrólisis de fosfato de fosfatidilinositol (Thomas et al., 2008).

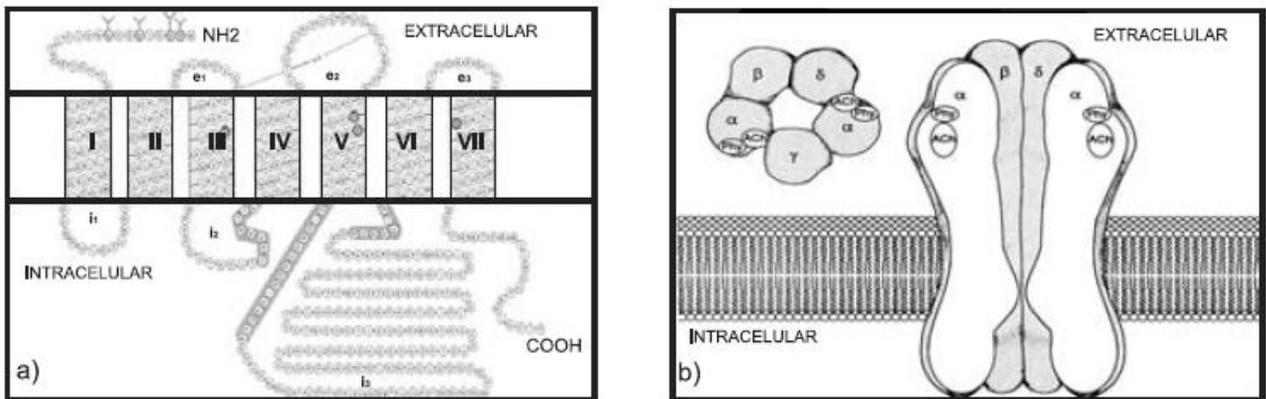


Figura 6. Estructura de los receptores de acetilcolina. a) Se esquematiza la estructura del receptor de tipo muscarínicos. I-VII, dominios transmembranales. i1, i2, i3; asas citoplasmáticas; e1, e2, e3; asas extracelulares. NH2, extremo amino terminal; COOH, extremo carboxilo terminal y nicotínico. b) Este tipo de receptores contienen dos subunidades del tipo a y el resto de los tipo b, d y g y varios sitios de unión a agonistas y antagonistas selectivos.

2.6.5 Agonistas y antagonistas del sistema colinérgico

Una clasificación de los agonistas colinérgicos es: 1) acetilcolina y diversos colinésteres sintéticos y 2) alcaloides colinomiméticos naturales (en particular pilocarpina, muscarina y arecolina) y sus congéneres sintéticos (Heller-Brown y Taylor, 1996). Diversos sistemas de neurotransmisión se estudiaron en relación con el aprendizaje y la memoria espacial, aunque una inspección detallada de los datos revela que la acetilcolina y el glutamato son los más investigados como agonistas (Myhrer, 2003).

Los antagonistas impiden los efectos de la ACh al bloquear su fijación a los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel de los sitios neuroefectores en el músculo liso, el músculo cardiaco y las células glandulares, lo mismo que en ganglios periféricos y sistema nervioso central (Bloom, 1996). En general, las manipulaciones farmacológicas que suprimen la actividad colinérgica (escopolamina, mecamilamina, atropina, benzotropina, bromuro de quinuclidio, pirenzepina y telencepina) producen deterioro en la ejecución del laberinto de agua. Sin embargo, los efectos de los agonistas colinérgicos como la nicotina dependen de distintos factores, como la especie, la dosis, la forma de administración y la duración del tratamiento (Vicens et al., 2003).

Uno de los principales anticolinérgicos utilizados es la escopolamina, esta droga es un alcaloide cuaternario que actúa como antagonista competitivo de la acetilcolina en los receptores muscarínicos y es soluble en agua (Salcedo y Martínez, 2001).

2.7 Vías cerebrales colinérgicas

Numerosas evidencias indican que la integridad funcional del sistema colinérgico central es necesaria para la consolidación de la memoria de tareas instrumentales (Malgor-Valsecia, 2000).

La distribución y morfología de las neuronas colinérgicas es muy variada. Las que tienen axones cortos se pueden considerar como interneuronas, son muy abundantes en el estriado, donde establecen una estrecha relación funcional con las neuronas dopaminérgicas, cuyas terminales son muy abundantes en esta zona. Los núcleos de los pares craneales tienen también abundantes interneuronas colinérgicas, lo mismo que toda la médula espinal. Otras interneuronas colinérgicas se encuentran en la corteza cerebral de los roedores, pero no tienen su equivalente en primates (Díaz-Hernández et al., 2000).

Las vías cerebrales colinérgicas con axones largos tienen una localización más difusa que las aminérgicas, y no siempre sus cuerpos celulares tienen correspondencia con núcleos definidos. La vía colinérgica que sale de la base del cerebro anterior, cuyos cuerpos celulares se encuentran en el septum, la banda diagonal de Broca, *pallidum* ventral y, sobre todo, el núcleo basal de Meynert, se extiende hasta el bulbo olfativo, corteza, amígdala y/o hipocampo, quedando toda la vía del sistema de recompensa cerebral bajo su influencia (Mesulam, 1995).

Una disminución de la funcionalidad de esta vía parece ser el origen de disfunciones cerebrales, como el Alzheimer, la demencia asociada con aparición de cuerpos de Lewy, incluso alguna variante de Parkinson. Una segunda vía colinérgica tiene sus cuerpos neuronales, localizados más caudalmente, en la zona del mesencéfalo y del núcleo tegmental lateral, en el piso del cuarto ventrículo. Los axones de este sistema inervan el tálamo, el hipotálamo, prácticamente todos los núcleos del cerebro medio, la habénula, etc. (Figura 7) (Perry et al., 1999). Su relevancia en enfermedades neurodegenerativas es todavía discutida.

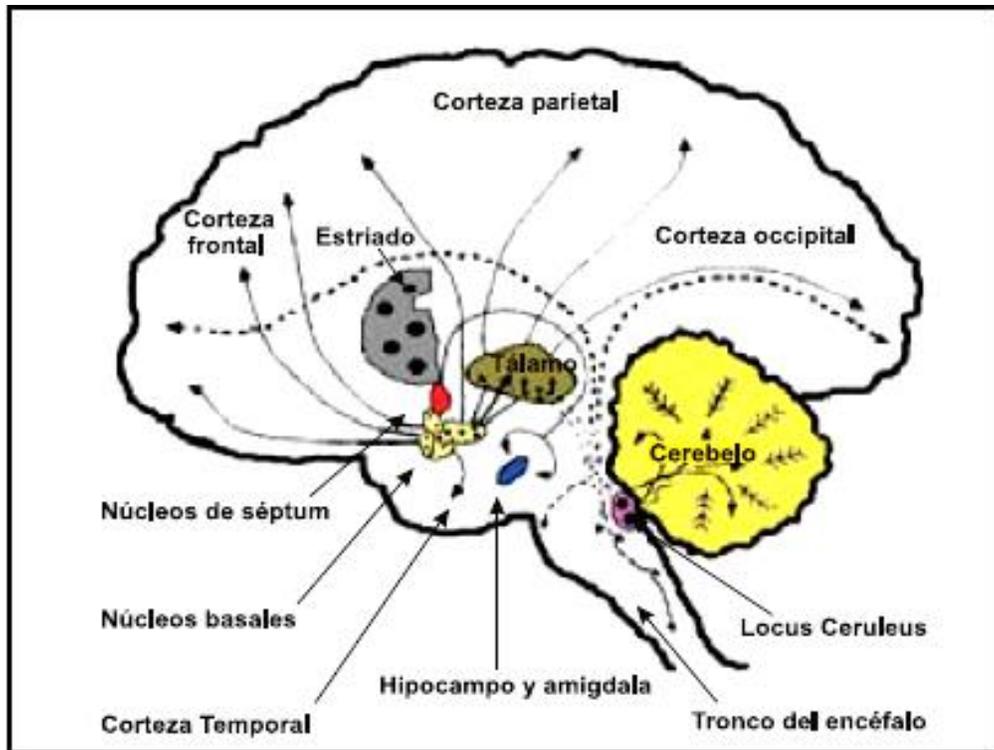


Figura 7. Distribución de las vías colinérgicas en cerebro (Modificado de Flores-Soto y Segura-Torres, 2005).

2.8 Los laberintos como una herramienta para el estudio de la neurobiología del aprendizaje y la memoria

Para el estudio del aprendizaje y la memoria se han desarrollado diversos procedimientos conductuales, entre los cuales han tomado gran importancia el uso de laberintos, tales como el laberinto radial, el laberinto en T, el laberinto acuático de Morris, etc. Con ayuda de estos procedimientos y otras manipulaciones experimentales, así como evidencia clínica en pacientes con diversa patologías de la memoria se ha logrado clasificar la memoria en función del tipo de información que se almacena. Los entrenamientos en los diferentes tipos de laberintos, permiten señalar más concretamente resultados en estrategias de búsqueda, navegación espacial, conducta espacial, entre otros. Los estudios en laberintos resultan muy útiles para investigar los mecanismos neurobiológicos involucrados en el aprendizaje y la memoria espacial. Además, resulta más fácil detectar y

cuantificar las diferentes estrategias de búsqueda, así como su mayor sensibilidad a los cambios que en estas estrategias producen las lesiones cerebrales o la administración de fármacos (Vicens et al., 2003).

En suma, a pesar de su relativa simplicidad, los laberintos constituyen un paradigma sensible a numerosos factores conductuales, farmacológicos e incluso sociales. El hecho de que se puedan realizar distintos procedimientos experimentales que permiten diferenciar entre los aspectos espaciales y no espaciales de la tarea, así como la posibilidad que brinda de obtener un exhaustivo repertorio conductual, hacen que estos modelos sean uno de los más aplicados en el estudio del aprendizaje. Además, la utilización virtual del laberinto acuático en la experimentación con humanos confirma en gran medida lo hallado con roedores y demuestra que este paradigma es un instrumento crítico para el estudio del aprendizaje y la memoria espacial (Vicens et al., 2003).

2.8.1 Laberinto Acuático de Morris

El modelo del laberinto de agua refleja la complejidad de la navegación espacial, mostrando cómo los animales se orientan eficientemente en el espacio mediante su capacidad de establecer y retener asociaciones entre estímulos ambientales. A pesar de tratarse de una tarea aversivamente motivada que causa cierto grado de estrés, lo que podría estar influyendo en su ejecución, este paradigma resulta muy útil para investigar los mecanismos neurobiológicos involucrados en el aprendizaje y la memoria espacial. Un aspecto metodológico importante es que permite una evaluación exhaustiva de la capacidad espacial de los animales, tanto en los ensayos de entrenamiento como en la prueba final, pudiéndose obtener diferentes medidas de la conducta espacial. Además, en comparación con el laberinto radial, el laberinto acuático posee ciertas ventajas como es el que resulte más fácil detectar y cuantificar las diferentes estrategias de búsqueda, así como la mayor sensibilidad a los cambios que en estas estrategias producen las lesiones cerebrales o la administración de fármacos y el hecho de

que no requiera de privación de agua o comida para su buena ejecución (Hodges, 1996).

En suma, a pesar de su relativa simplicidad, el LAM constituye un paradigma sensible a numerosos factores conductuales, farmacológicos e incluso sociales. A demás de utilización virtual en la experimentación con humanos confirma en gran medida lo hallado con roedores y demuestra que este paradigma es un instrumento útil para el estudio del aprendizaje y la memoria espacial.

2.8.2 Estudios en el laberinto acuático de Morris

Desde el diseño del LAM en 1981 por Richard G. Morris, hasta la actualidad, los investigadores han utilizado este modelo para evaluar el aprendizaje y la memoria espacial en ratas de laboratorio y, desde entonces, se ha convertido en uno de los instrumentos de uso más frecuente en la Neurobiología. Por lo que es de esperar encontrar numerosos experimentos de toda índole, entre los que se encuentran: experimentos relacionados con diferencias en sexo, edad, dietas, especies, cepas, fármacos y lesiones cerebrales entre, otros. Algunos estudios en los que se realizaron manipulaciones del sistema colinérgico son los siguientes:

Lamberty y Gower (1991) demostraron los efectos de manipulaciones del sistema colinérgico sobre la adquisición y retención de tareas entrenadas en laberintos convencionales, en el laberinto radial y en el LAM. Los anticolinérgicos produjeron una interferencia importante con estos procesos mnémicos, aunque también se han encontrado excepciones (Hagan et al., 1986).

Existe abundante literatura, en la que se muestra que al bloquear farmacológicamente los receptores colinérgicos muscarínicos (vía intraperitoneal) con atropina o escopolamina y al bloquear los receptores nicotínicos intraestriatalmente con metoctramina, al igual que en otras tareas, se induce un

deterioro en el desempeño del LAM (Whishaw y Petrie, 1988; Prado-Alcalá et al., 1993; Kikusui et al., 1999; Steckler y Holsboer, 2001; Nieto-Escámez et al., 2002; Lazaris et al., 2003).

Riekkinen y Riekkinen (1997) reportaron que la escopolamina solo deteriora la sesión de adquisición en la tarea de laberinto acuático, pero no tuvo efecto sobre la consolidación y evocación, lo que sugiere que la activación de los receptores muscarínicos en el hipocampo sólo se necesita durante la etapa de adquisición. Kim y Ryu (2008), reportaron de igual forma que, la administración de escopolamina inmediatamente después de la sesión de adquisición o 30 minutos antes de la sesión de evocación no tiene efecto en el rendimiento del LAM. Estos resultados indican que la neurotransmisión colinérgica juega un papel importante en la fase de adquisición, pero no en la consolidación o en la fase de evocación de la memoria de trabajo espacial en el LAM.

La secuencia de los mecanismos moleculares que fundamentan la potenciación a largo plazo (LTP) ha sido propuesta como la base de la consolidación de la memoria (Malenka, 2003). Se cree que el LTP es un tipo de plasticidad sináptica que subyace en el aprendizaje y la memoria. El bloqueo muscarínico o la lesión de las neuronas colinérgicas no afecta la LTP del hipocampo (Jouveneau et al., 1996). Estos mecanismos podrían explicar por qué la escopolamina no tiene ningún efecto sobre la consolidación de la memoria en el hipocampo dependiente de la memoria de trabajo espacial.

Robinson et al. (2004) utilizó la prueba de agudeza visual en el LAM con ratas y ratones para revelar la sensibilidad del sistema visual por el bloqueo de receptores muscarínicos. Inyectaron intraperitonealmente 0.2 mg/kg de escopolamina, teniendo como resultado que no se afecta la agudeza visual, pero 2 mg/kg comprometen severamente la agudeza visual, encontrando así mismo que no se afecta la estrategia de nado para resolver la prueba.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen estudios que demuestran la participación del sistema colinérgico central en los procesos de aprendizaje y memoria (Whishaw y Petrie, 1988; Lamberty y Gower, 1991; Quirarte et al., 1994; Steckler y Holsboer, 2001; Quirarte y Prado-Alcalá, 2004). Por ejemplo, al administrar antagonistas colinérgicos de manera sistémica o intracerebral a ratas entrenadas bajo niveles moderados de entrenamiento o intensidades moderadas de choque eléctrico se bloquea el proceso de consolidación de la memoria y como consecuencia se produce amnesia (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiaín, 1977; Quirarte et al., 1994). Dichos estudios han demostrado que el sistema colinérgico es indispensable para la consolidación de la memoria. Sin embargo, cuando los sujetos experimentales son expuestos a situaciones de aprendizaje incrementado, esos tratamientos amnésicos dejan de ser efectivos, es decir, la consolidación de la memoria se realiza adecuadamente (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiaín, 1977; Prado-Alcalá et al., 1978; Duran-Arevalo et al., 1990; Quirarte et al., 1993; Prado-Alcalá et al., 2006). La falta del estado amnésico ha sido observada en tareas reforzadas positivamente como el apretón de palanca y la alternancia espacial (Prado-Alcalá y Cobos-Zapiaín, 1977; Prado-Alcalá et al., 1978) así como en tareas motivadas por eventos aversivos como la evitación inhibitoria y la evitación activa (Prado-Alcalá et al., 1980; Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Duran-Arevalo et al., 1990; Quirarte et al., 1993). Sin embargo, no existe información acerca de si el sistema colinérgico central participa en la tarea de LAM con plataforma oculta utilizando niveles moderados de entrenamiento y si cuando se incrementan los niveles de entrenamiento este sistema neuroquímico ya no se requiere. Con la finalidad de conocer si al interferir con el sistema colinérgico de animales entrenados en la tarea de LAM existe al igual que en otras tareas el efecto protector contra la amnesia, se realizó un estudio en donde se administraron i.p. a grupos independientes de ratas, diferentes dosis de escopolamina (0.4 y 0.8 mg/kg) después del entrenamiento moderado y en dos versiones diferentes del entrenamiento incrementado (masivo y espaciado).

IV. HIPÓTESIS

1. La administración intraperitoneal de escopolamina, producirá deterioro en la memoria generada por un aprendizaje espacial con niveles moderados de entrenamiento.
2. La administración intraperitoneal de escopolamina, no producirá deterioro en la memoria generada por un aprendizaje con niveles altos de entrenamiento (espaciado y masivo).

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto que tiene el bloqueo del sistema colinérgico central en la retención de la memoria de una tarea de laberinto acuático de Morris (LAM) con plataforma oculta (memoria espacial) en condiciones de entrenamiento moderado y de entrenamiento incrementado (masivo y espaciado).

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto producido por diferentes dosis de escopolamina 0.4 y 0.8 mg/kg y 0.8 mg/kg de metilescopolamina administradas intraperitonealmente para el entrenamiento moderado.
2. Determinar el efecto producido por diferentes dosis de escopolamina (0.4 y 0.8 mg/kg), para el entrenamiento masivo y espaciado.

VI. METODOLOGÍA

El experimento se realizó en las instalaciones del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado en el Campus Juriquilla, Querétaro, Qro., en el Laboratorio de Aprendizaje y Memoria. El protocolo experimental de la presente tesis fue aprobado por el comité de bioética del INB-UNAM para el uso de animales experimentales y acorde a las normas estipuladas en “Guide for care and Use of Laboratory” del NIH (ILAR, 1996).

6.1 Sujetos

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de un peso aproximado de 250 g, al momento de la sesión de adquisición. Éstas ingresaron al Bioterio del Laboratorio de Aprendizaje y Memoria del INB, por lo menos una semana antes de ser sometidas a manipulación, donde se mantuvieron con una temperatura controlada y un ciclo de luz oscuridad de 12:12 hrs., iniciando el periodo de luz a las 7:00 am. Todas las ratas se colocaron en cajas habitación de acrílico individuales con acceso libre a agua y alimento.

6.2 Manipulación

Las ratas fueron manipuladas en dos sesiones, antes de iniciar el experimento, en cada una de estas sesiones se ambientaron cerca del lugar de trabajo por una hora, antes y después de la manipulación (éstas se hicieron en un mismo horario y cuidando de tener las mismas condiciones). La manipulación tuvo una duración de tres a cinco minutos y consistió en tomar a la rata gentilmente, acariciarla (pasar la palma de la mano del experimentador sobre el cuerpo de la rata) y colocarla con las patas traseras en la mesa simulando la inyección presionando la piel del área ventral, de tres a cinco minutos, la finalidad fue

acostumbrar a las ratas a la mano del experimentador así como disminuir el estrés. Al final de la manipulación se tomo el peso de cada rata.

6.3 Aparatos

Para la tarea del LAM, se utilizó un tanque circular negro de plástico con diámetro de 154 cm. con una altura de 60 cm y una base de metal que lo sostiene de una altura de 58 cm. Se llenó con agua hasta una profundidad de 21 cm, con una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Las cuatro posiciones de inicio están marcadas en la cara externa del tanque con norte, sur, este y oeste, dividiendo en cuatro cuadrantes el tanque. Se utilizó una plataforma cuadrada de acrílico negra (11.7 X 11.7), que se colocó dentro de uno de los cuadrantes del laberinto y quedó sumergida a 1 cm de profundidad bajo el nivel del agua (Figura 8). El cuarto en el que se encuentra el laberinto acuático tiene una dimensión de 236 cm x 225 cm x 242 cm, es sonoamortiguado y está pintado de blanco. En tres de sus paredes se colocaron carteles como señales. El tanque y las señales fueron iluminadas por tres lámparas que son equidistantes. Todos los experimentos fueron registrados con el sistema computacional SMART (SMART, San Diego Instruments).

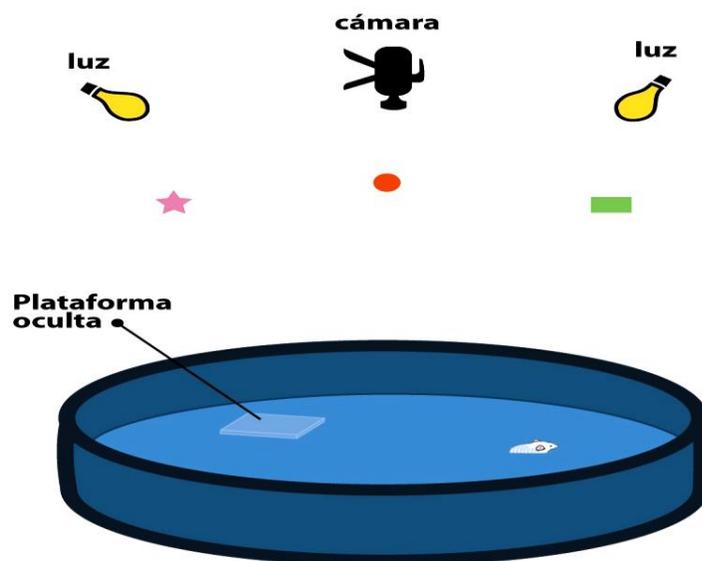


Figura 8. Laberinto acuático de Morris. Representación del tanque circular, la plataforma oculta, las claves visuales y parte del sistema de video (SMART, San Diego Instruments).

6.4 Grupos

6.4.1 Experimento I. Entrenamiento Moderado

Las ratas se entrenaron bajo el protocolo de entrenamiento moderado. Se formaron cuatro grupos de 10 animales cada uno, tres experimentales y uno control. Al primer grupo se le administró escopolamina 0.4 mg/kg, al segundo escopolamina 0.8 mg/kg, al tercero metilescopolamina 0.8 mg/kg (substancia que no cruza la barrera hematoencefalica) con el objetivo de mostrar que el efecto amnésico inducido por la escopolamina se debe a la interferencia con mecanismos de la acetilcolina central involucrados en la consolidación de la memoria y no al bloqueo de receptores colinérgicos periféricos, que pudieran estar evitando el aprendizaje de las ratas. El cuarto grupo recibió vehículo (solución salina).

El entrenamiento consistió en una sesión de 10 ensayos, cuyos puntos de inicio fueron designados aleatoriamente (N, S, E, O). La administración de los fármacos se realizó al final de la sesión.

6.4.2 Experimento II. Entrenamiento incrementado masivo

Las ratas se entrenaron bajo el protocolo de entrenamiento incrementado masivo. Se dividieron en tres grupos de 10 animales cada uno, dos experimentales y uno control. A los cuales se les administró 0.4 y 0.8 mg/kg de solución de escopolamina respectivamente. El grupo control recibió vehículo (solución salina).

La sesión de entrenamiento consistió en una sesión de 20 ensayos, designados aleatoriamente (N, S, E, O). Al final de los cuales se administró el tratamiento.

6.4.3 Experimento III. Entrenamiento incrementado espaciado

Las ratas se entrenaron bajo el protocolo de entrenamiento incrementado espaciado. Se dividieron en tres grupos de 10 animales cada uno, dos experimentales y uno control. A los cuales se les administró 0.4 y 0.8 mg/kg de solución de escopolamina respectivamente. El grupo control recibió vehículo (solución salina).

La sesión de entrenamiento consistió en cuatro sesiones de 5 ensayos designados aleatoriamente (N, S, E, O). Estos fueron llevados a cabo con un día de descanso entre cada sesión. Al final de cada una de las cuatro sesiones se administró el tratamiento.

6.4.4 Experimento IV. Entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples

Las ratas se entrenaron bajo el protocolo de entrenamiento incrementado masivo. Se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno. Al primero se le administró 0.8 mg/kg de solución de escopolamina y al segundo se le administró vehículo como grupo control, alternando los días de administración, iniciando la primera inyección 5 días antes del entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples, así como la misma dosis inmediatamente después de finalizar la sesión de entrenamiento, recibiendo un total de cuatro inyecciones. Con el objetivo de conocer si la administración de escopolamina que no produjo efectos amnésicos en el entrenamiento incrementado espaciado pudiera deberse a la administración repetida de la droga o a las múltiples sesiones de entrenamiento. El entrenamiento consistió en una sesión de 20 ensayos designados aleatoriamente (N, S, E, O).

6.5 Fármacos

Los fármacos fueron preparados el mismo día de la administración, para que se tuviera un efecto óptimo.

Se utilizaron las dosis de 0.4, 0.8 mg/kg de escopolamina y 0.8 mg/kg de metilescopolamina, debido a que reportes previos mostraron la acción de estas dosis (Duran-Arevalo et al., 1990; Cruz-Morales et al., 1992; Quirarte et al., 1994; Packard, 1998).

6.5.1 Preparación del fármaco

La escopolamina y la metilescopolamina se pesaron en condiciones de mínima luz (debido a que son fotosensibles), para disolver las drogas se agregó solución salina con la ayuda de pipetas de tal forma que se inyectó 1ml/kg. Se cubrió el frasco que contenía la droga con papel estaño. Se utilizó el vortex para homogenizar la solución, al finalizar esto se equilibró el pH a 7.

6.5.2 Preparación del vehículo

Se utilizó solución salina 0.9% como vehículo con pH 7 para el grupo control.

6.6 Inyección

Para estudiar el proceso de consolidación, las inyecciones fueron administradas inmediatamente al finalizar la sesión o sesiones (según sea el caso) de la tarea por vía intraperitoneal; inyectando un volumen de 1ml/kg de la dosis correspondiente, con la ayuda de jeringas de insulina de 100 unidades (para el caso del entrenamiento moderado y el entrenamiento incrementado espaciado y masivo). De esta manera, cualquier efecto sobre la memoria puede adjudicarse al

efecto del tratamiento y no a defectos potenciales en los sistemas aferentes o eferentes, es decir a deficiencias en la percepción del contexto o a deficiencias en la actividad motora necesaria para ejecutar la respuesta condicionada. En el caso del entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples, tres inyecciones fueron dadas antes del entrenamiento y una última al finalizar la sesión.

6.7 Pruebas conductuales

6.7.1 Sesión de adquisición

A las ratas se les dio una sesión de entrenamiento que consiste en un número determinado de ensayos. En cada ensayo la rata fue colocada dentro del tanque. Se introdujo con el hocico apuntando hacia la pared en uno de los 4 puntos designados para el inicio (Norte, Sur, Este y Oeste), la rata puede escapar mediante una plataforma oculta, colocándose encima de ella para poder huir del agua. Se utilizó un mismo lugar para la plataforma (cuadrante superior derecho) durante los ensayos y diferentes puntos de inicio en cada ensayo (Figura 9).

Si la rata no escapaba dentro de un tiempo de 60 segundos, se guiaba manualmente hacia la plataforma de escape. Una vez en la plataforma se le permitía permanecer allí durante 20 segundos, después de los cuales era retirada del laberinto, secada y colocada en una caja, en donde se les dejaba descansar brevemente por un intervalo de 30 segundos antes de iniciar el siguiente ensayo. La latencia de llegada a la plataforma de escape fue registrada y usada como una medida para la adquisición, que fue dada por el análisis del programa computacional SMART (San Diego Instruments).

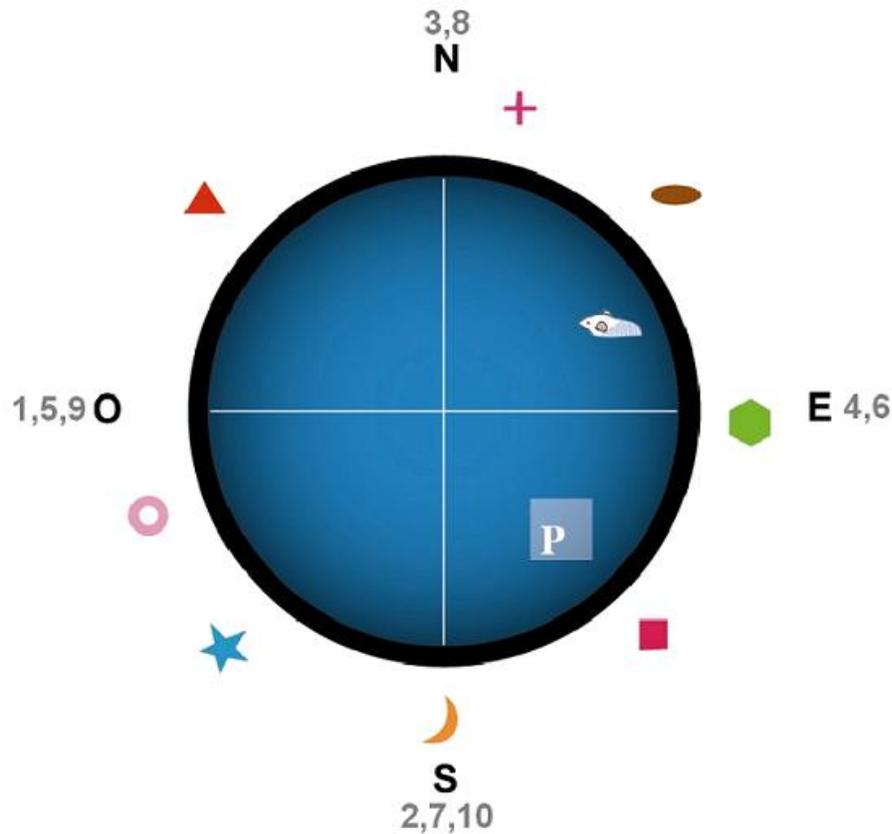


Figura 9. Esquema en el que se muestra la localización de los puntos de inicio del día de entrenamiento en la plataforma oculta. Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O); los números indican el orden de los ensayos.

6.7.2 Prueba de transferencia a las 24 horas y a los 7 días

Esta se hizo 24 horas y 7 días después del entrenamiento. Para llevar a cabo esta prueba se retiró la plataforma y se hizo un solo ensayo de 120 segundos (se introdujo a la rata desde el punto de inicio con el hocico apuntando hacia la pared y se le dejó nadar libremente) (Figura 10). Esta prueba consistió en medir el tiempo que tardó en llegar la rata al lugar en donde se encontraba la plataforma, la finalidad fue medir la memoria de la tarea. Esta forma de medir la memoria se ha reportado en muchos experimentos (Morris, 1981; Lamberty y

Gower, 1991; Riekkinen y Riekkinen, 1997; Ramírez-Amaya et al., 2001; Vicens et al., 2003; Kim y Ryu, 2008).

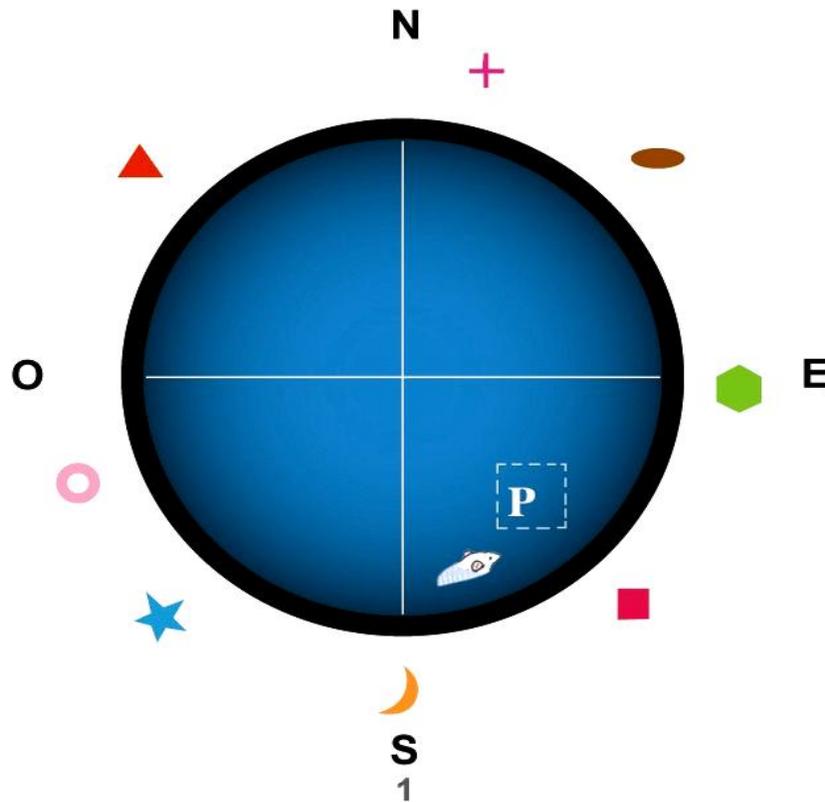


Figura 10. Esquema en el que se muestra la localización del punto de inicio para la prueba de transferencia y se indica la plataforma de escape virtual. Los puntos cardinales están abreviados con letras, Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O).

6.8 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con estadística paramétrica. El análisis utilizado en la sesión de adquisición fue un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías de medidas repetidas, en todos los entrenamientos. Los resultados del día de la prueba se analizaron con ANOVA de un vía. Cuando existieron diferencias significativas se utilizó la prueba post hoc de Tukey. El valor de significancia utilizado fue de $p \leq 0.05$.

VII. RESULTADOS

7.1 Experimento I. Entrenamiento Moderado

a) Sesión de adquisición

Las latencias de escape (tiempo de llegada a la plataforma en segundos) durante los 10 ensayos en la sesión de entrenamiento de los diferentes grupos (vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 y metilescopolamina 0.8 mg/kg), se analizaron utilizando la prueba de ANOVA de dos vías de medidas repetidas. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, como era de esperarse ya que los tratamientos fueron administrados después del entrenamiento. El análisis de la respuesta a lo largo de los ensayos mostró diferencias estadísticamente significativas ($F [37.07]$, g.l.= 9, $p= 0.001$), indicando que los sujetos disminuyeron la latencia de llegada a la plataforma.

Si consideramos al aprendizaje como el proceso por medio del cual hay un cambio en la conducta, podemos comprobar que hubo aprendizaje comparando el primer ensayo contra el último para cada grupo. Utilizando la prueba post hoc de Tukey se encontraron diferencias significativas $p < 0.05$, indicando que los animales aprendieron la tarea.

Por otra parte, el análisis de varianza de una vía para las latencias de escape del ensayo 10, mostro que no hubo diferencias significativas entre los grupos, esto mostró que los grupos estudiados tuvieron el mismo nivel final de aprendizaje. En la Figura 11 se observa la latencia de escape a la plataforma de los diferentes grupos para el entrenamiento moderado en el LAM con plataforma oculta.

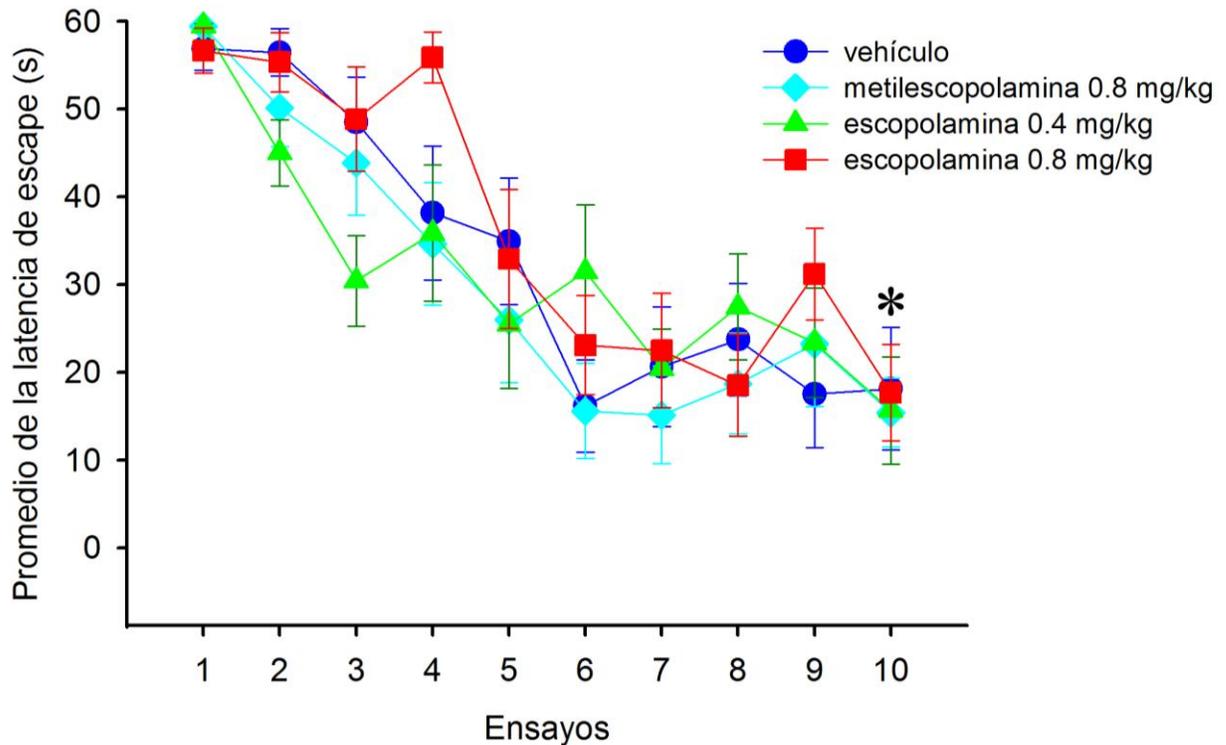


Figura 11. Promedio de las latencias de escape con error estándar durante la sesión de entrenamiento moderado con 10 ensayos de los grupos tratados con vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 o metilescopolamina 0.8 mg/kg. El asterisco indica diferencias significativas $p < 0.05$ entre el ensayo 1 y el ensayo 10, indicando que los animales aprendieron la tarea.

b) Prueba de transferencia a las 24 hrs

Se realizó el análisis de las latencias de escape a la plataforma virtual (tiempo de llegada al lugar donde se encontraba la plataforma) durante el ensayo del día de la prueba, utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba mostraron que hubo diferencias significativas entre los grupos vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 y metilescopolamina 0.8 mg/kg ($F [4.09]$, g.l.= 3, $p = 0.0134$). La prueba post hoc de Tukey mostró que el grupo de escopolamina 0.8 mg/kg difirió significativamente del grupo control ($p < 0.05$). Lo que indica que el grupo al que se le administró escopolamina 0.8 mg/kg presentó amnesia. En la Figura 12A se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos que recibieron entrenamiento moderado en el LAM.

c) Prueba de transferencia a los 7 días

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de la prueba, utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba mostraron que hubo diferencias significativas entre los grupos vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 y metilescopolamina 0.8 mg/kg ($F [6.51]$, g.l.= 3, $p= 0.0.0012$). La prueba post hoc de Tukey mostró que el grupo de metilescopolamina 0.8 mg/kg difirió significativamente del grupo escopolamina 0.4 y 0.8 mg/kg ($p < 0.05$), lo que indica que el grupo escopolamina 0.8 mg/kg mantiene la amnesia encontrada a las 24 hrs, el grupo 0.4 mg/kg disminuyó la respuesta aprendida y el vehículo se comporta de igual forma que el grupo de metilescopolamina (es decir no presentaron amnesia).

En la Figura 12B se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos para el entrenamiento moderado en el LAM.

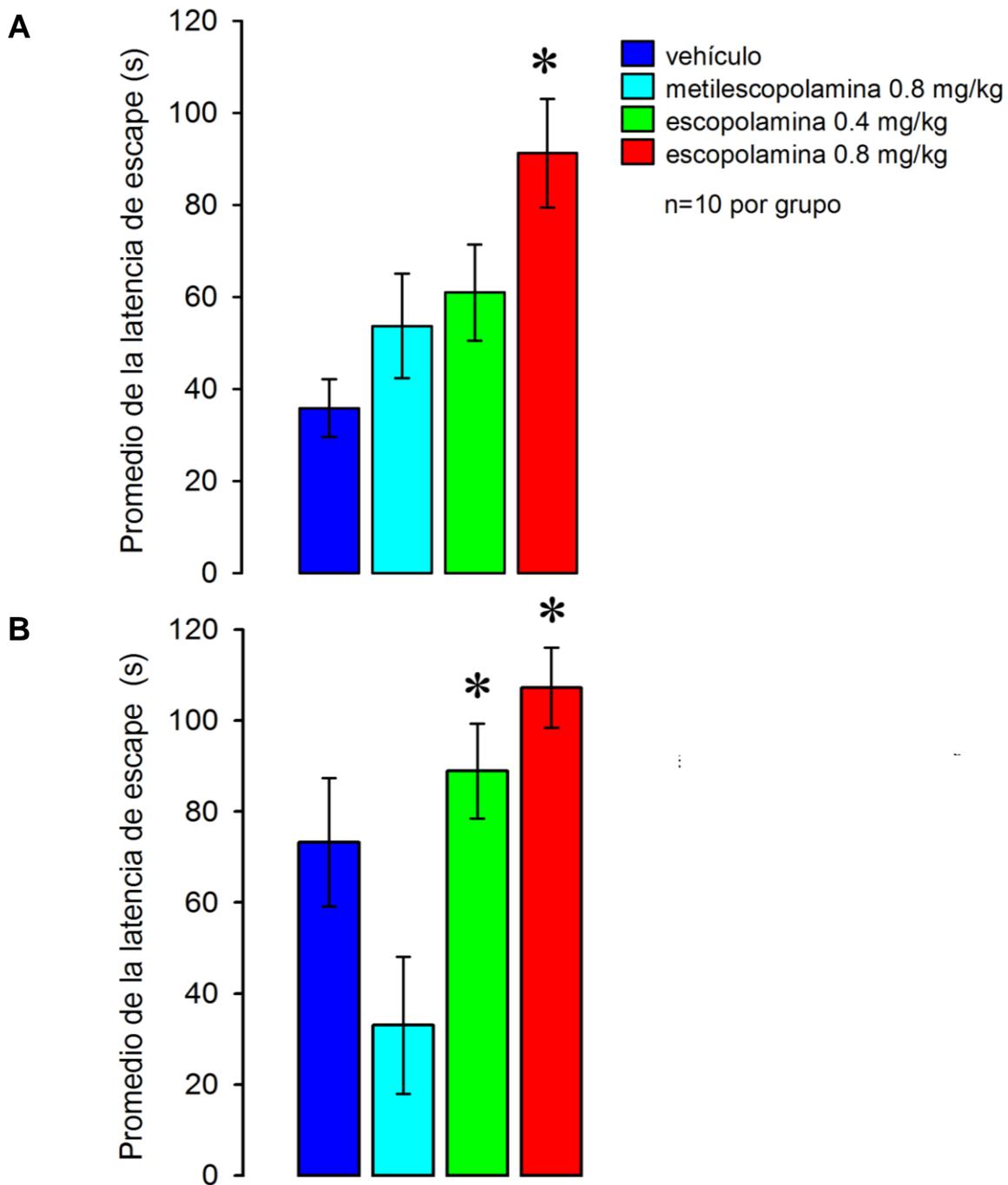


Figura 12. Promedio de las latencias de escape con error estándar de los grupos (vehículo, metilescopolamina 0.8, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) para el entrenamiento moderado. En A la prueba realizada a las 24 hrs, el asterisco indica $P < 0.05$ al comparar el grupo control con el grupo escopolamina 0.8 mg/kg y en B la prueba a los 7 días, los asteriscos indican $P < 0.05$ al comparar los grupos escopolamina 0.4 y 0.8 mg/kg con el grupo metilescopolamina 0.8 mg/kg.

7.2 Experimento II. Entrenamiento incrementado masivo

a) Sesión de adquisición

Se realizó el análisis de las latencias de escape de los 20 ensayos de la sesión de entrenamiento de los diferentes grupos (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) utilizando la prueba de ANOVA de dos vías de medidas repetidas. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos, como era de esperarse debido a que el tratamiento fue administrado después del entrenamiento. La respuesta de los sujetos de los grupos estudiados fue la misma. Cuando se analizaron las latencias de escape a lo largo de los ensayos se encontraron diferencias estadísticamente significativas; ($F [12.19]$, g.l.= 19, $p= 0.001$) indicando que los sujetos disminuyeron la latencia de escape de llegada a la plataforma a lo largo de los ensayos, lo que indica el aprendizaje de la tarea.

Si consideramos al aprendizaje como el proceso por medio del cual hay un cambio en la conducta, podemos comprobar que hubo aprendizaje comparando el primer ensayo contra el último para ello utilizamos la prueba post hoc de Tukey. Al realizar el análisis, obtuvimos diferencias significativas $P < 0.05$, indicando que los animales aprendieron la tarea.

Por otra parte, al realizar el análisis de varianza de una vía para las latencias de escape del ensayo 20, se encontró que no hubo diferencias significativas entre los grupos (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg), esto mostró que los grupos estudiados tuvieron el mismo nivel final de aprendizaje.

En la Figura 13 se observa la latencia de llegada a la plataforma de los diferentes grupos que se sometieron al entrenamiento masivo en el LAM con plataforma oculta.

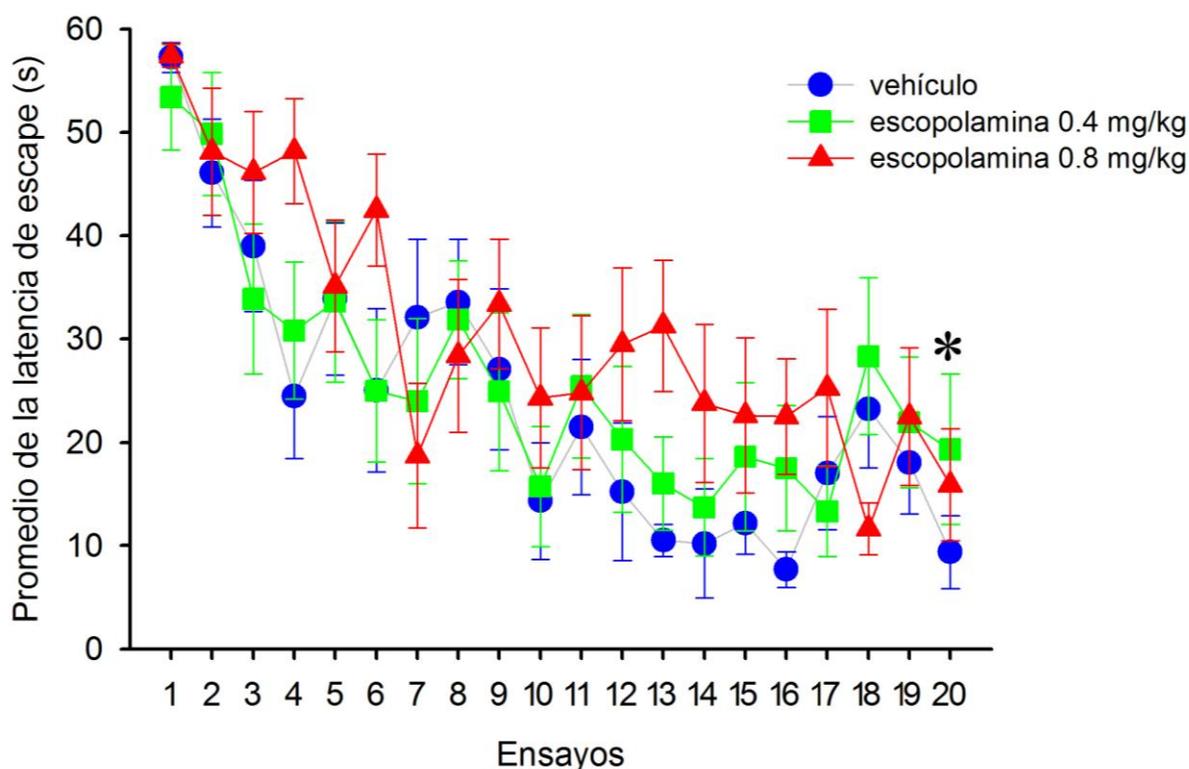


Figura 13. Promedio de las latencias de escape con error estándar durante la sesión de entrenamiento incrementado masivo con 20 ensayos de los diferentes grupos tratados con vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 mg/kg. El asterisco indica diferencias significativas entre el ensayo 1 y el ensayo 20, indicando que los animales aprendieron la tarea.

b) Prueba de transferencia a las 24 hrs

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de prueba utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados mostraron que no existen diferencias estadísticamente significativas en el factor tratamiento (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar al lugar donde se encontraba la plataforma. En la Figura 14A se observan las latencias de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos para el entrenamiento masivo en el LAM.

c) Prueba de transferencia a los 7 días

El análisis de las latencias de escape (tiempo de llegada a la plataforma virtual) durante el ensayo del día de prueba se realizó utilizando el análisis de varianza de una vía, mostró que no existen efectos significativos en el factor tratamiento (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar a al lugar donde se encontraba la plataforma.

En la Figura 14B se observan las latencias de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos para el entrenamiento masivo en el LAM.

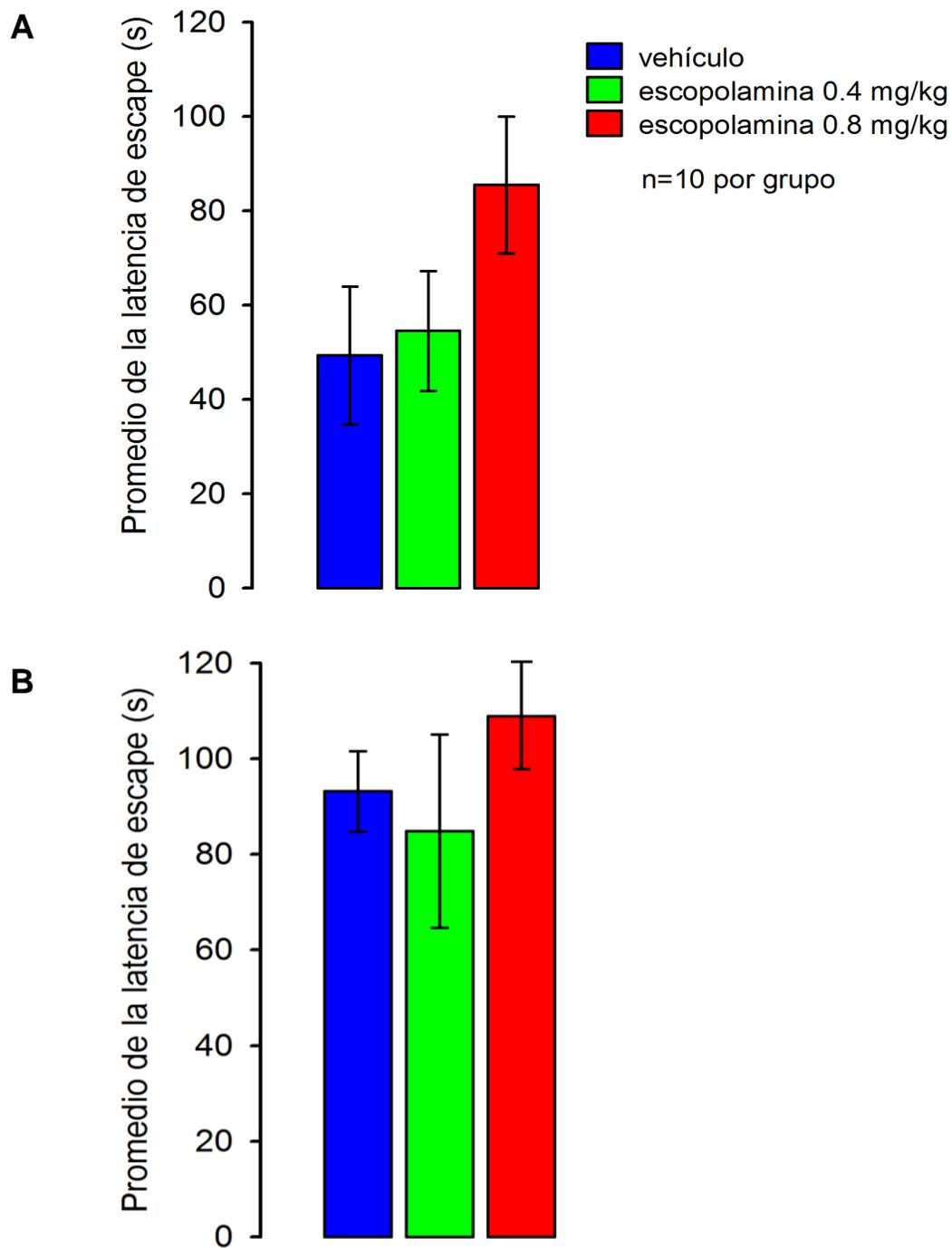


Figura 14. Promedio de las latencias de escape con error estándar de los grupos vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) para el entrenamiento incrementado masivo. En A los promedios de la prueba realizada a las 24 horas y en B los promedios de la prueba realizada a los 7 días.

7.3 Experimento III. Entrenamiento incrementado espaciado

a) Sesión de adquisición

El análisis de las latencias de escape obtenidas durante el entrenamiento, se realizó utilizando ANOVA de dos vías de medidas repetidas para los grupos vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 ($F [1.84]$, g.l.= 19, $p= 0.001$), Los resultados de la prueba post hoc de Tukey ($p < 0.05$) en donde se analiza el primer ensayo contra el último para cada una de las cuatro sesiones del entrenamiento se observan en la Tabla 1. Estos resultados sugieren que los fármacos administrados no ocasionaron el efecto amnésico esperado. También se sugiere que las latencias de escape de los diferentes grupos obtenidas para la última sesión, no difieren entre sí y se mantienen constantes, por lo que se podría decir que ha llegado a una asíntota.

Drogas	Ensayos			
	1 vs 5	6 vs 10	11 vs 15	16 vs 20
Vehículo	Significativo	Significativo	Significativo	No significativo
Escopolamina 0.4 mg/kg	Significativo	Significativo	No significativo	Significativo
Escopolamina 0.8 mg/kg	Significativo	Significativo	Significativo	No significativo

Tabla 1. Prueba post hoc de Tukey. Análisis del primer ensayo contra el último para cada una de las cuatro sesiones del entrenamiento incrementado masivo espaciado.

También se analizaron las latencias de escape del último ensayo contra el primero de la siguiente sesión para cada tratamiento utilizando $P < 0.05$. Los resultados arrojados por la prueba post hoc de Tukey no mostraron diferencias significativas, indicando que el tratamiento no produjo amnesia.

En la Figura 15 se observa la latencia de escape a la plataforma de los diferentes grupos para el entrenamiento incrementado espaciado en el LAM con plataforma oculta.

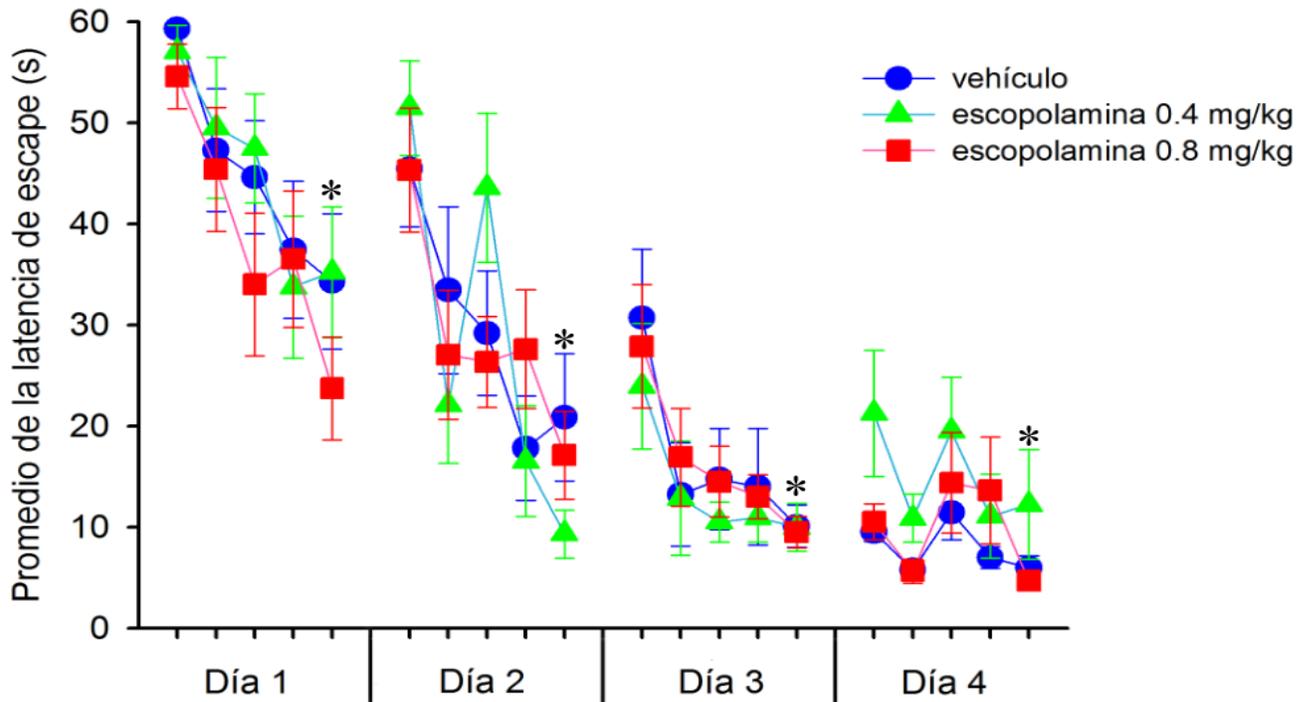


Figura 15. Promedios de las latencias de escape con error estándar para el entrenamiento incrementado espaciado durante las 4 sesiones de entrenamiento con 5 ensayos por día de los grupos tratados con vehículo, escopolamina 0.4, escopolamina 0.8 mg/kg. Los asteriscos indican diferencias significativas entre el primer ensayo y el último para cada día (ver Tabla 1), indicando que los animales aprendieron la tarea

b) Prueba de transferencia a las 24 hrs

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de prueba de los diferentes grupos utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba mostraron que no existen efectos significativos en el factor tratamiento (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar al lugar donde se colocó la plataforma. Se puede observar que las latencias alcanzadas por los grupos son mucho menores que las presentadas por los grupos de entrenamiento moderado,

incrementado masivo e incrementado masivo con inyecciones múltiples (Figura 47, 51 y 59). En la Figura 16A se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos para el entrenamiento espaciado en el LAM.

c) Prueba de transferencia a los 7 días

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de prueba de los diferentes grupos utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba mostraron que no existen efectos significativos en el factor tratamiento (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar al lugar donde se colocó la plataforma. Se puede observar que las latencias se mantienen aun bajas en la prueba a los 7 días, lo que podría indicar un proceso de conversión de la memoria de corto a la de largo plazo, posiblemente debido a la frecuencia de las sesiones de entrenamiento y la droga administrada.

En la Figura 16B se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos para el entrenamiento espaciado en el LAM.

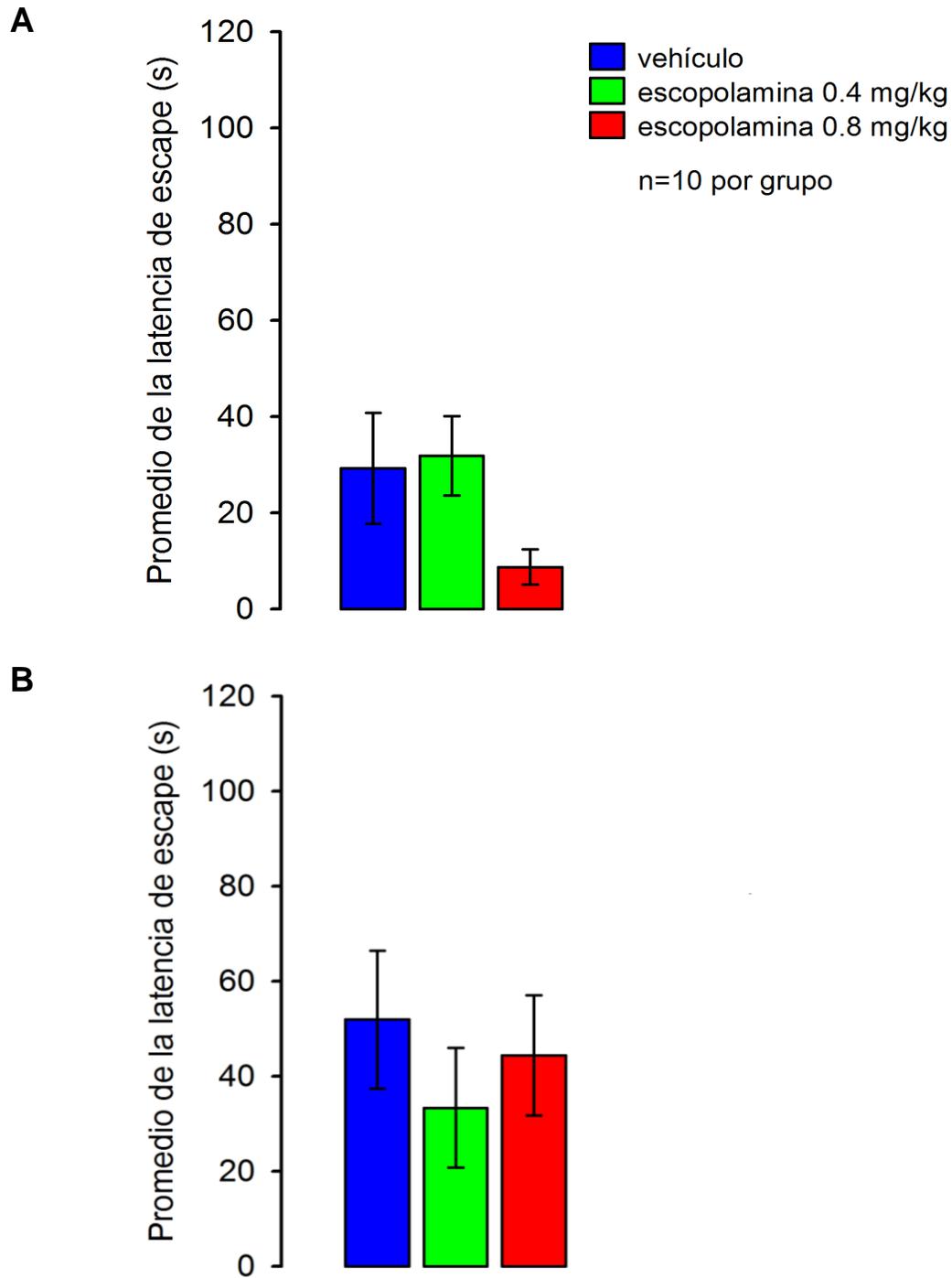


Figura 16. Promedio de las latencias de escape con error estándar de los grupos (vehículo, escopolamina 0.4 y escopolamina 0.8 mg/kg) para el entrenamiento incrementado espaciado. En A la prueba realizada a las 24 horas y en B la prueba realizada a los 7 días.

7.4 Experimento IV. Entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples

a) Sesión de adquisición

Las latencias de escape (tiempo de llegada a la plataforma en segundos) durante los 20 ensayos en la sesión de entrenamiento cada uno de los grupos (vehículo y escopolamina 0.8 mg/kg), se analizaron utilizando la prueba de ANOVA de dos vías de medidas repetidas. Los resultados de esta prueba mostraron que no existen efectos significativos en el factor tratamiento, mientras que si los hubo al analizar el desarrollo de la respuesta a lo largo de los ensayos; (F [8.79], g.l.= 19, $p= 0.001$) lo que indica que los sujetos disminuyeron la latencia de escape de llegada a la plataforma.

Si consideramos al aprendizaje como el proceso por medio del cual hay un cambio en la conducta, podemos comprobar que hubo aprendizaje comparando el primer ensayo contra el último. Al realizar el análisis t pareada, de cada grupo consigo mismo obtuvimos diferencias significativas. $p < 0.05$, indicando que los animales aprendieron bien la tarea a pesar de que el factor tratamiento fue administrado pre-entrenamiento.

Por otra parte, el análisis de varianza de una vía para las latencias de escape del ensayo 20, mostro que no hubo diferencias significativas entre los grupos (vehículo y escopolamina 0.8 mg/kg). Indicando que ambos grupos tienen el mismo nivel de aprendizaje en el último ensayo.

En la Figura 17 se observa la latencia de escape a la plataforma de los diferentes grupos para el entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples en el LAM con plataforma oculta.

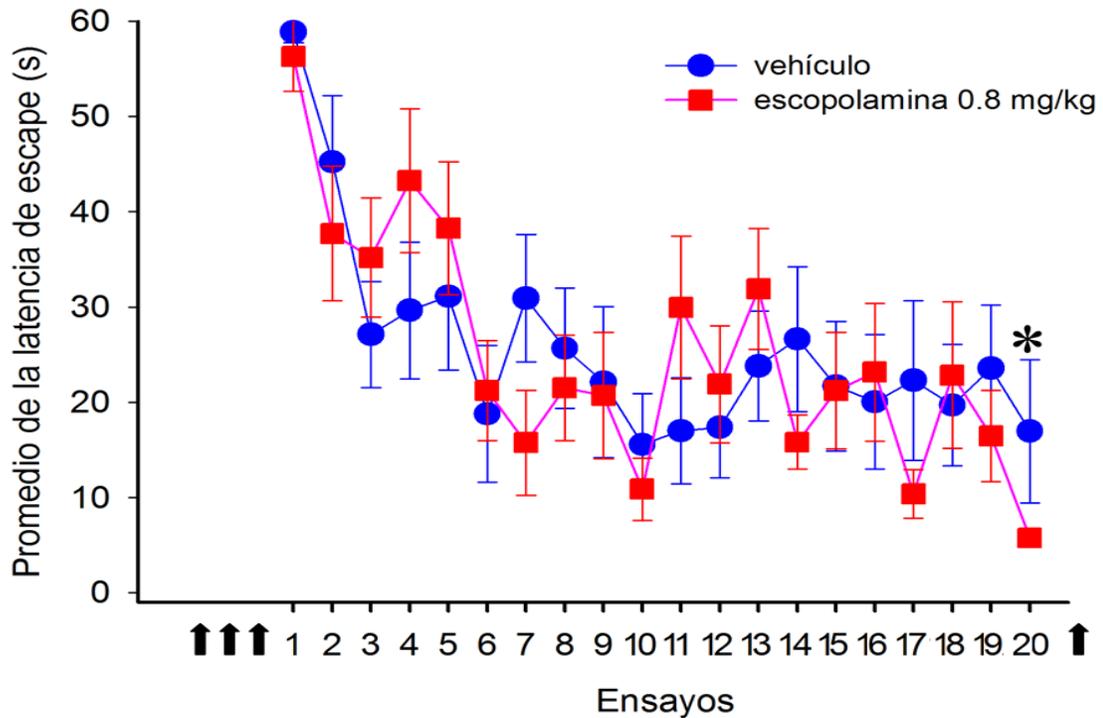


Figura 17. Promedios de las latencias de escape con error estándar durante la sesión de entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples con 20 ensayos de los grupos tratados con vehículo y escopolamina 0.8 mg/kg. El asterisco indica diferencias significativas entre el ensayo 1 y el ensayo 10, indicando que los animales aprendieron la tarea y las flechas el momento en el que fue administrado el tratamiento.

b) Prueba de transferencia a las 24 hrs

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de prueba de los diferentes grupos utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba de t mostraron que no existen efectos significativos en el factor tratamiento cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar al lugar donde se colocó la plataforma $p > 0.05$. En la Figura 18A se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los diferentes grupos que recibieron entrenamiento espaciado masivo en el LAM.

c) Prueba de transferencia a los 7 días

Se realizó el análisis de las latencias de escape durante el ensayo del día de prueba, utilizando el análisis de varianza de una vía. Los resultados de esta prueba mostraron que no existen efectos significativos en el factor tratamiento cuando se analizó el tiempo que la rata tardó en llegar al lugar donde se colocó la plataforma $p < 0.05$. En la Figura 18B se observa la latencia de escape a la plataforma virtual de los grupos que recibieron entrenamiento espaciado masivo en el LAM.

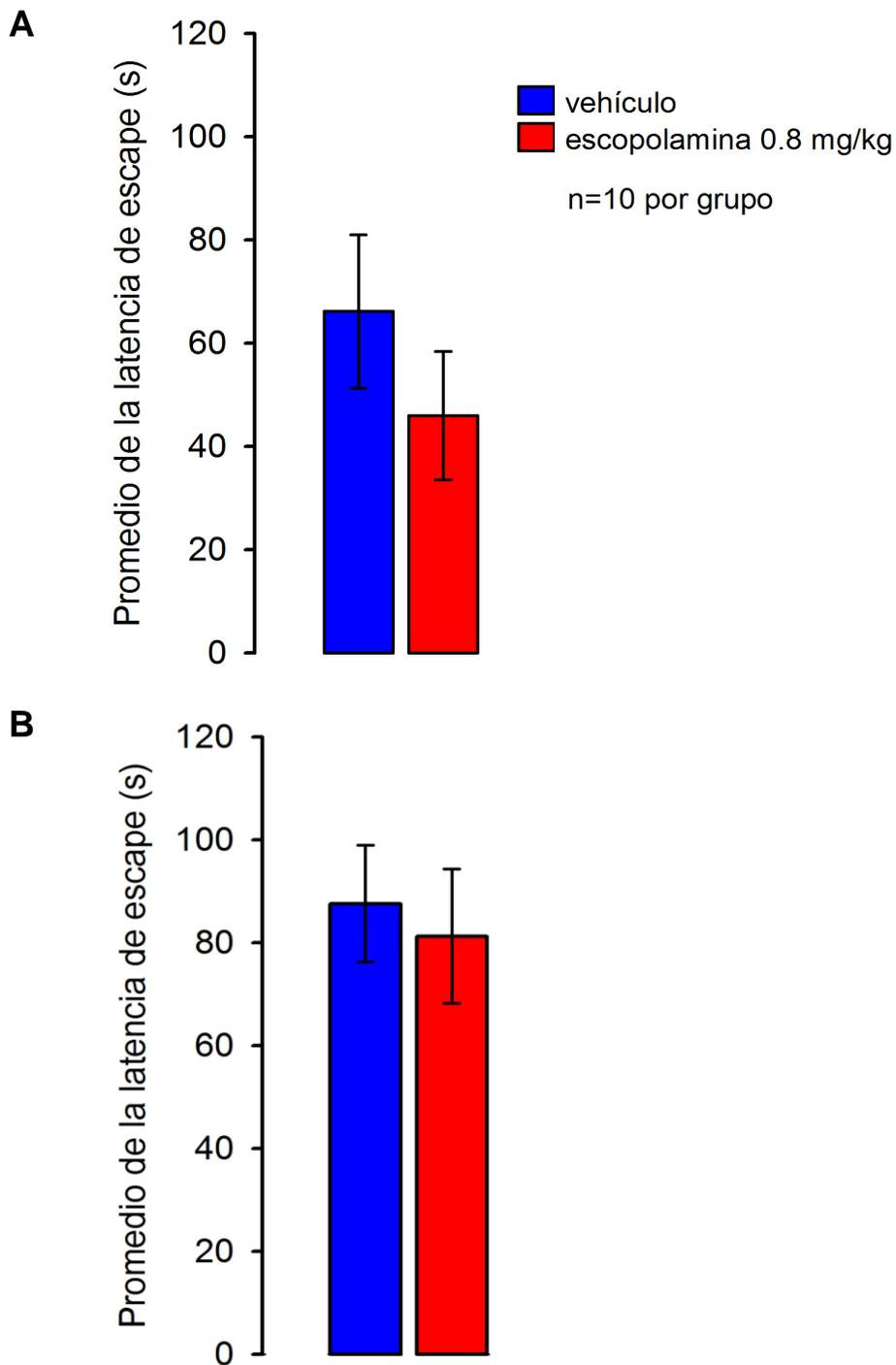


Figura 18. Promedio de las latencias de escape con error estándar de los grupos (vehículo y escopolamina 0.8) para el entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples. En A la prueba realizada a las 24 hrs. y en B la prueba realizada los 7 días.

VIII. DISCUSIÓN

Los experimentos realizados en la presente tesis demuestran que la administración sistémica de un antagonista colinérgico, la escopolamina, produjo deterioro en la memoria generada por un aprendizaje espacial con niveles moderados de entrenamiento en la tarea de laberinto acuático con plataforma oculta. Estos resultados ya habían sido descritos para otro tipo de tareas como la tarea de evitación inhibitoria, con el uso de una intensidad moderada de choque eléctrico (nivel intermedio de aprendizaje, es decir cuando la magnitud del reforzador no es muy grande ni muy pequeña) (Duran-Arevalo et al., 1990; Quirarte et al., 1994). El mismo efecto se encontró para la tarea de laberinto acuático y laberinto radial administrando bloqueadores colinérgicos (Whishaw y Petrie, 1988; Lamberty y Gower, 1991; Steckler y Holsboer, 2001). Con los resultados mostrados en esta investigación, se confirman reportes anteriores y se comprueba nuevamente la hipótesis de que la acetilcolina está críticamente involucrada en la consolidación de la memoria.

En otras palabras la administración i.p. de escopolamina 0.8 mg/kg produjo amnesia para el grupo entrenado con un número de ensayos moderados. El hecho de que la metilescopolamina, substancia que no cruza la barrera hematoencefálica, no produjera amnesia, demuestra que el efecto amnésico inducido por la escopolamina se debe a la interferencia con mecanismos de la acetilcolina centrales involucrados en la consolidación de la memoria y no al bloqueo de receptores colinérgicos periféricos. Por otra parte, dado que la administración se realizó después del entrenamiento, el efecto encontrado no puede atribuirse a problemas de tipo motor, perceptual o al estrés derivado del manejo de los sujetos experimentales, ya que durante el entrenamiento y las pruebas los sujetos estuvieron en un estado sin droga (Cruz-Morales y Prado-Alcalá, 1992; Robinson et al., 2004).

Se sabe que los efectos amnésicos que se producen cuando se administran antagonistas colinérgicos dependen de la magnitud del estímulo aversivo con que se entrenen a los sujetos. Por ejemplo, la administración de escopolamina produjo amnesia en ratas entrenadas en la tarea de evitación inhibitoria (aprendizaje mediado por aversión) bajo niveles moderados de entrenamiento, sin embargo, este efecto inducido por la administración de escopolamina no se observó cuando se incrementó el nivel de entrenamiento (Duran-Arevalo et al., 1990).

La falta de efectos amnésicos, también se ha reportado cuando se entrena de manera incrementada en una tarea instrumental reforzada positivamente (presionar una palanca para recibir leche) utilizando gatos como sujetos experimentales (Prado-Alcalá et al., 1977). Posteriormente el mismo grupo de trabajo, Prado-Alcalá et al. (1978) nuevamente no encontró efectos amnésicos al inyectar un antagonista colinérgico en el estriado de ratas que fueron sometidas a un aprendizaje de alternancia espacial (reforzado positivamente) con niveles de entrenamiento incrementado.

De la misma forma se han estudiado regiones cerebrales involucradas en el aprendizaje de tipo aversivo como la amígdala (Salado-Castillo et al., 1995), el hipocampo (Quiroz et al., 2003), el estriado (Giordano y Prado-Alcalá, 1986; Díaz del Guante et al., 1990) y la substantia nigra (Prado-Alcalá, 1995; Cobos-Zapíaín et al., 1996). Una prueba importante para determinar el grado de generalización del efecto de protección de la memoria producido por aprendizajes incrementados fueron las realizadas por Parent et al. (1995), Salado-Castillo et al. (1995) y Quiroz et al. (2003). En las cuales demostraron que las lesiones permanentes o la inactivación reversible de la amígdala de ratas entrenadas con esquemas de múltiples ensayos o intensidades relativamente altas de choques eléctricos, no produjeron la amnesia que típicamente se encuentra en ratas que aprendieron con bajos niveles de entrenamiento.

También es importante hacer notar que el alto nivel de entrenamiento protege a la memoria en contra de los efectos de un buen número de agentes amnésicos, tales como las lesiones permanentes, la inactivación reversible producida por la lidocaína, la tetrodoxina y el KCL, bloqueadores de receptores a neurotransmisores como la atropina, la escopolamina, la bicuculina y la picrotoxina, así como agentes que depletan la serotonina cerebral (Prado-Alcalá et al., 2006).

Diversos estudios mostraron de igual forma que, la administración de drogas que antagonizan la acetilcolina (ACh), el ácido gamma aminobutírico (GABA) y la serotonina (5HT) producen un grave estado amnésico, pero que estas drogas se tornan inocuas cuando se incrementa la experiencia del aprendizaje, dando lugar a una reformulación acerca de la manera en que diversos sistemas neuroquímicos intervienen en la formación de la memoria (Quirarte et al., 1994; Prado-Alcalá y Quirarte, 1998). Prado-Alcalá y Quirarte (1998) mencionan que dichos sistemas pueden participar en el proceso de consolidación, pero ninguno de ellos es necesario para dicha función.

La hipótesis de que el aprendizaje incrementado protege a la memoria en contra de tratamientos amnésicos clásicos como los agentes anticolinérgicos propuesta por Prado-Alcalá et al. (2006), se puso a prueba en el presente estudio con dos diferentes versiones para el LAM, la primera es llamada entrenamiento incrementado masivo y la segunda entrenamiento incrementado espaciado.

El análisis estadístico de nuestros experimentos comprobaron que el entrenamiento incrementado (masivo y espaciado) mejoró significativamente la memoria, ya que no se presentó en las ratas el efecto amnésico esperado por la administración del anticolinérgico, por lo que se piensa que el aprendizaje incrementado protege a la memoria en contra de tratamientos amnésicos de agentes anticolinérgicos. La hipótesis de que la administración intraperitoneal de escopolamina, no producirá deterioro en la memoria de un aprendizaje con niveles altos de entrenamiento, se acepta.

En este trabajo se analizó si la administración de escopolamina que no produjo efectos amnésicos en el entrenamiento incrementado masivo con inyecciones múltiples pudiera deberse a la administración repetida de la droga o a las múltiples sesiones de entrenamiento. Los resultados de esta prueba indicaron que la falta de amnesia en los animales está dada tanto por las diferentes administraciones de escopolamina y como por el entrenamiento incrementado. Pensamos que al entrenar de manera incrementada se alcanza un umbral a partir del cual la actividad colinérgica del SNC no es necesaria para el proceso de consolidación de la memoria (Cruz-Morales et al., 1992).

Cuando en condiciones de aprendizaje incrementado se interfiere con la actividad normal de cualquiera de los sistemas neuroquímicos como el colinérgico, el GABAérgico y el serotoninérgico, los sistemas que mantienen la actividad normal en el cerebro son suficientes para que se establezca la memoria de largo plazo (Prado-Alcalá y Quirarte, 1998; Solana-Figueroa et al., 2002). Es decir, cuando el aprendizaje es incrementado se activan simultáneamente diversas estructuras cerebrales y múltiples sistemas neuroquímicos, de tal manera que aunque el sistema colinérgico sigue participando en los procesos de consolidación, este ya no es indispensable para que se almacene la memoria, mientras que los restantes se hacen cargo de esta función (Prado-Alcalá y Quirarte, 1998). También es posible que este efecto sea la consecuencia de la participación de otros sistemas neuroquímicos aun no descritos.

Una explicación alternativa es que el aprendizaje incrementado acelera el proceso de consolidación, que podría tener lugar antes de la inyección de escopolamina (Quirarte et al., 1994).

Hasta aquí, en condiciones de entrenamiento incrementado el sistema colinérgico central, el sistema serotoninérgico y el sistema GABAérgico no son necesarios para la consolidación de la memoria. Cuando el bloqueo se realiza en una estructura en particular, como el hipocampo, la amígdala, el estriado y la

substancia nigra, estas estructuras cerebrales tampoco son necesarias para la consolidación.

Por otra parte, se sabe que la consolidación de la memoria es mediada por la síntesis de proteínas, pero si se administran inhibidores de la síntesis de proteínas, estos interfieren con la consolidación produciendo amnesia, pero su efecto desaparece cuando los animales son sometidos a una experiencia de aprendizaje incrementado, poniendo en cuestión la idea de que la síntesis de proteínas es necesaria para la consolidación de la memoria (Díaz-Trujillo et al., 2009).

Todo esto nos hace llegar a pensar que el proceso de consolidación de la memoria, es un proceso muy dinámico, que se apoya en una interacción compleja de mecanismos cerebrales, que depende de las características cualitativas de la experiencia de aprendizaje y que diferentes estructuras cerebrales son esenciales para llevar a cabo la consolidación, pero dejan de serlo cuando el aprendizaje se incrementa (Quirarte y Prado-Alcalá, 2004).

IX. CONCLUSIONES

Los resultados encontrados confirman la proposición de que el sistema colinérgico es indispensable para que se lleve a cabo el proceso de la consolidación de la memoria durante el entrenamiento moderado. Así mismo podemos afirmar que los diferentes grados de amnesia encontrados se debieron al bloqueo de la actividad colinérgica.

En condiciones de un aprendizaje incrementado, el sistema colinérgico no es indispensable para la consolidación de la memoria. Es decir, el entrenamiento incrementado en el LAM con plataforma oculta impide que se produzcan estados amnésicos, que típicamente se observan como consecuencia de la aplicación sistémica de drogas anticolinérgicas.

Sin embargo los experimentos descritos no permiten saber en cuales zonas cerebrales se está llevando a cabo los efectos de los tratamientos aplicados. Para saberlo queda por realizarse un estudio en donde se diseñen experimentos en los que se administren fármacos en regiones discretas del cerebro, por ejemplo la corteza, ya que no se ha explorado su participación en la memoria para la tarea de LAM con entrenamiento incrementado.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altman, H. J., and H. J. Normile. 1986. Enhancement of the memory of a previously learned aversive habit following pre-test administration of a variety of serotonergic antagonists in mice. *Psychopharmacology* 90: 24-27.
- Barros, D. M., L. A. Izquierdo, J. H. Medina, and I. Izquierdo. 2003. Pharmacological findings contribute to the understanding of the main physiological mechanisms of memory retrieval. *Curr. Drug Target* 2: 81-94.
- Bermúdez-Rattoni, F., and R. A. Prado-Alcalá. 2001. Memoria ¿En dónde está y cómo se forma? Trillas, México, D.F.
- Biedenkapp, J. C., and J. W. Rudy. 2004. Context memories and reactivation: Constrains on the reconsolidation hypothesis. *Behav. Neurosci.* 118: 956-964.
- Bloom, F. E. 1996. Neurotransmission and the central nervous systems. In: L. S. Goodman, L. E. Limbird, P. B. Milinoff, R. W. Ruddon and A. Goodman Gilman (eds.) *Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics.* p 267-294. McGraw-Hill, New York.
- Buckner, R. L., and M. E. Wheeler. 2001. The cognitive neuroscience of remembering. *Nat. Rev. Neurosci.* 2: 624-634.
- Cammarota, M., L. R. M. Bevilaqua, J. H. Medina, and I. Izquierdo. 2004. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn. Mem.* 11: 572-578.
- Cobos-Zapiain, G. G. et al. 1996. High level of footshock during inhibitory avoidance training prevents amnesia induced by intranigral injection of GABA antagonists. *Neurobiol. Learn. Mem.* 65: 202-206.
- Cohen, N. J., and L. R. Squire. 1980. Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: Dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210: 207-210.
- Cruz-Morales, S. E. 2006. Sobre el estudio de la memoria. *Rev. Mex. Anal. Cond.* 32: 199-201.
- Cruz-Morales, S. E., M. Duran-Arevalo, M. A. Díaz del Guante, G. Quirarte, and R. A. Prado-Alcalá. 1992. A threshold for the protective effect of over-reinforced passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Behav. Neural Biol.* 57: 256-259.
- Cruz-Morales, S. E., and R. A. Prado-Alcalá. 1992. Interacción entre el GABA y la acetilcolina en la modulación de la memoria. In: Congreso iberoamericano de psicología, Madrid, España
- D'Hooge, R., and P. P. de Deyn. 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 36: 60-90.
- Díaz-Hernández, M. et al. 2000. Receptores nicotínicos neurales: interacción con receptores purinérgicos. *Anal. Real Acad. Farm.* 66: 1-21.
- Díaz-Trujillo, A. et al. 2009. Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the long-term memory-impairing effects of cycloheximide, a protein synthesis inhibitor. *Neurobiol. Learn. Mem.* 91: 310-314.

- Díaz del Guante, M. A., S. Rivas-Arancibia, G. Quirarte, and R. A. Prado-Alcalá. 1990. Over-reinforcement protects against memory deficits induced by muscarinic blockade of the striatum. *Bol. Estud. Med Biol.* 38: 49-53.
- Duran-Arevalo, M., S. E. Cruz-Morales, and R. A. Prado-Alcalá. 1990. Is acetylcholine involved in memory consolidation of over-reinforced learning? *Brain Res. Bull.* 24: 725-727.
- Flores-Soto, M. E., and J. E. Segura-Torres. 2005. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev. Mex. Neuroci.* 6: 315-326.
- Fortin, N. J., S. P. Wright, and H. Eichenbaum. 2004. Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature* 431: 188-191.
- Galindo, L. E. et al. 2008. Acquisition and retention of enhanced active avoidance are unaffected by interference with serotonergic activity. *Behav. Brain Res.* 195: 153-158.
- Gallagher, M., J. L. Bizon, E. C. Hoyt, K. A. Helm, and P. K. Lund. 2003. Effects of aging on the hippocampal formation in a naturally occurring animal model of mild cognitive impairment. *Exp. Gerontol.* 38: 71-77.
- Giordano, M., and R. A. Prado-Alcalá. 1986. Retrograde amnesia induced by post-trial injection of atropine into the caudate-putamen Protective effect of the negative reinforcer. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 24: 905-909.
- Hagan, J. J., F. Tweedie, and R. G. Morris. 1986. Lack of task specificity and absence of posttraining effects of atropine on learning. *Behav. Neurosci.* 100: 483-493.
- Hebb, D. O. 1949. *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory.* John Wiley & Sons Inc, New York.
- Heller-Brown, J., and P. Taylor. 1996. Muscarinic receptor agonists and antagonists. In: J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. B. Molinoff, R. W. Ruddon and A. Goodman Gilman (eds.) *Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics.* p 141-160. McGraw-Hill, New York.
- Hodges, H. 1996. Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Brain Res. Cogn. Brain. Res.* 3: 167-181.
- ILAR. 1996. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* National Academy Press, Washington, DC.
- Jouveneau, A., J. M. Billard, Y. Lamour, and P. Dutar. 1996. Persistence of CA1 hippocampal LTP after selective cholinergic denervation. *Neuroreport* 7: 948-952.
- Kahn, I., L. Davachi, and A. D. Wagner. 2004. Functional-neuroanatomic correlates of recollection: implications for models of recognition memory. *J. Neurosci.* 24: 4172-4180.
- Kalat, J. W. 1995. The biology of learning and memory. In: P. Gadban and R. Flyer (eds.) *Biol. Psychol.* p 448-482. Brooks/Cole, California, USA.
- Kandel, E. R., J. H. Schwartz, and T. M. Jessell. 2000. *Principles of Neural Science.* 4th ed. McGraw Hill, New York.
- Kandel, E. R., and L. R. Squire. 2000. Neuroscience: Breaking down scientific barriers to the study of brain and mind. *Science* 290: 1113-1120.

- Kikusui, T., T. Tonohiro, and T. Kaneko. 1999. Simultaneous evaluation of spatial working memory and motivation by the allocentric place discrimination task in the water maze in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 61: 673-681.
- Kim, D. H., and J. H. Ryu. 2008. Differential Effects of Scopolamine on Memory Processes in the Object Recognition Test and the Morris Water Maze Test in Mice. *Biomol Ther* 16: 173-178.
- Lamberty, Y., and A. J. Gower. 1991. Cholinergic modulation of spatial learning in mice in a Morris-type water maze. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 309: 5-19.
- Lattal, K. M., S. Honarvar, and T. Abel. 2004. Effects of post-session injections of anisomycin on the extinction of a spatial preference and on the acquisition of a spatial reversal preference. *Behav. Brain Res.* 153: 327-339.
- Lazaris, A., S. Cassel, J. Stemmelin, J. C. Cassel, and C. Kelche. 2003. Intrastratial infusions of methoctramine improve memory in cognitively impaired aged rats. *Neurobiol. Aging* 24: 379-383.
- Lee, J. L. C., B. J. Everitt, and K. L. Thomas. 2004. Independent Cellular Processes for Hippocampal Memory Consolidation and Reconsolidation. *Science*.
- Lewis, D. J., and N. J. Bregman. 1972. The cholinergic system, amnesia and memory. *Physiol. Behav.* 8: 511-514.
- Malenka, R. C. 2003. The long-term potential of LTP. *Nat. Rev. Neurosci.* 4: 923-926.
- Malgor-Valsecia, L. 2000. Transmisión neuroefectora en el sistema parasimpático. Ubicación de los receptores muscarínicos y nicotínicos y respuesta de los órganos efectores a su estimulación. *Receptores muscarínicos selectivos Farmacología del Sistema Nervioso Autónomo.* p 57-75.
- Martínez, I., G. L. Quirarte, S. Díaz-Cintra, C. Quiroz, and R. A. Prado-Alcalá. 2002. Effects of lesions of hippocampal fields CA1 and CA3 on acquisition of inhibitory avoidance. *Neuropsychobiology* 46: 97-103.
- McGaugh, J. L. 1966. Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153: 1351-1358.
- McGaugh, J. L. 2000. Memory-a century of consolidation. *Science* 287: 248-251.
- Mesulam, M. M. 1995. Cholinergic pathways and the ascending reticular activating system of the human brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 757: 169-179.
- Milner, B., L. R. Squire, and E. R. Kandel. 1998. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20: 445-468.
- Morgado, I. 2005. Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Rev. Neurol.* 40: 289-297.
- Morris, R. G. M. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn. Motiv.* 12: 239-260.
- Müller, G. E., and A. Pilzecker. 1900. Experimentelle beiträge zur lehre vom gedächtnis. *Zeitschr. Psychol.* 1: 1-288.
- Myhrer, T. 2003. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: A meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain. Res. Rev.* 41: 268-287.
- Nakazawa, K. et al. 2002. Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science* 297: 211-218.

- Nieto-Escámez, F. A., F. Sanchez-Santed, and J. P. de Bruin. 2002. Cholinergic receptor blockade in prefrontal cortex and lesions of the nucleus basalis: Implications for allocentric and egocentric spatial memory in rats. *Behav. Brain Res.* 134: 93-112.
- Packard, M. G. 1998. Posttraining estrogen and memory modulation. *Horm. Behav.* 34: 126-139.
- Parent, M. B., G. L. Quirarte, L. Cahill, and J. L. McGaugh. 1995. Spared retention of inhibitory avoidance learning after posttraining amygdala lesions. *Behav. Neurosci.* 109: 803-807.
- Perry, E., M. Walker, J. Grace, and R. Perry. 1999. Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends Neurosci.* 22: 273-280.
- Prado-Alcalá, R. A. 1991. Fisiología del aprendizaje y la memoria. In: G. Ninomiya (ed.) *Fisiología Humana. I. Neurofisiología.* p 492-508. Manual Moderno, México.
- Prado-Alcalá, R. A. 1995. Serial and parallel processing during memory consolidation. In: J. L. McGaugh, F. Bermúdez-Rattoni and R. A. Prado-Alcalá (eds.) *Plasticity in the central nervous system: learning and memory.* p 57-65. Erlbaum, New Jersey.
- Prado-Alcalá, R. A., F. Bermúdez-Rattoni, D. N. Velázquez-Martinez, and G. Bacha. 1978. Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: Overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci.* 23: 889-896.
- Prado-Alcalá, R. A., and G. C. Cobos-Zapíaín. 1977. Learning deficits induced by cholinergic blockade of the caudate nucleus as a function of experience. *Brain Res.* 138: 190-196.
- Prado-Alcalá, R. A., S. E. Cruz-Morales, and F. A. Lopez-Miro. 1980. Differential effects of cholinergic blockade of anterior and posterior caudate nucleus on avoidance behaviors. *Neurosci. Lett.* 18: 339-345.
- Prado-Alcalá, R. A. et al. 2006. El aprendizaje incrementado protege a la memoria contra tratamientos amnésicos. *Rev. Mex. Anal. Cond.* 32: 203-218.
- Prado-Alcalá, R. A., J. Fernández-Ruíz, and G. Quirarte. 1993. Cholinergic neurons and memory. In: T. W. Stone (ed.) *Aspects of Synaptic Transmission 2: Acetylcholine, Sigma Receptors, CCK and Eicosanoids, Neurotoxins.* p 59-71. Taylor and Francis, London.
- Prado-Alcalá, R. A., and G. L. Quirarte. 1993. La conducta y la mente. *Información Científica y Tecnológica:* 21-25.
- Prado-Alcalá, R. A., and G. L. Quirarte. 1998. Estudios farmacológicos acerca de la amnesia experimental. In: M. Gomez and J. Velázquez Moctezuma (eds.) *Bases Neurobiológicas y Ecológicas de la Conducta.* p 425-436. Universidad Autónoma de Tlaxcala, Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Veracruzana, Universidad Autónoma de México, México.
- Prado-Alcalá, R. A. et al. 2004. Memoria: Consolidación y experiencia. In: J. Velázquez-Moctezuma (ed.) *Temas selectos de neurociencias III.* p 121-138. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Quirarte, G. L. et al. 1994. Effects of central muscarinic blockade on passive avoidance: Anterograde amnesia, state dependency, or both? *Behav. Neural Biol.* 62: 15-20.

- Quirarte, G. L., S. E. Cruz-Morales, M. A. Díaz del Guante, M. García, and R. A. Prado-Alcalá. 1993. Protective effect of under-reinforcement of passive avoidance against scopolamine-induced amnesia. *Brain Res. Bull.* 32: 521-524.
- Quirarte, G. L., and R. A. Prado-Alcalá. 2004. Efecto terapéutico de la experiencia incrementada: protección contra la amnesia experimental. *Int. J. Clin. Health Psychol.* 4: 161-172
- Quiroz, C. et al. 2003. Enhanced inhibitory avoidance learning prevents the memory-impairing effects of post-training hippocampal inactivation. *Exp. Brain Res.* 153: 400-402.
- Ramírez-Amaya, V., I. Balderas, J. Sandoval, M. L. Escobar, and F. Bermúdez-Rattoni. 2001. Spatial long-term memory is related to mossy fiber synaptogenesis. *J. Neurosci.* 21: 7340-7348.
- Richmond, J. E., and E. M. Jorgensen. 1999. One GABA and two acetylcholine receptors function at the *C. elegans* neuromuscular junction. *Nat. Neurosci.* 2: 791-797.
- Riekkinen, M., and P. Riekkinen, Jr. 1997. Dorsal hippocampal muscarinic acetylcholine and NMDA receptors disrupt water maze navigation. *Neuroreport* 8: 645-648.
- Robinson, L., D. Harbaran, and G. Riedel. 2004. Visual acuity in the water maze: sensitivity to muscarinic receptor blockade in rats and mice. *Behav. Brain Res.* 151: 277-286.
- Rosenzweig, M. R., and A. I. Leiman. 1998. *Psicología fisiológica*. McGraw-Hill, Madrid, España.
- Salado-Castillo, R., M. Sánchez-Alavez, G. L. Quirarte, and R. A. Prado-Alcalá. 1995. Reversible lesions of striatum, amygdala, and substantia nigra after inhibitory avoidance: Differential effects of high and low footshock intensity. In: 25th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, San Diego
- Salado-Castillo, R., M. A. Díaz del Guante, R. Alvarado, G. L. Quirarte, and R. A. Prado-Alcalá. 1996. Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiol. Learn. Mem.* 66: 102-108.
- Salcedo, J., and I. Martínez. 2001. Intoxicación por escopolamina, Bogotá.
- Santin, L. J., S. Rubio, A. Begega, R. Miranda, and J. L. Arias. 2000. Aprendizaje espacial e hipocampo. *Rev. Neurol.* 31: 455-462.
- Shimamura, A. P. 1986. Priming effects of amnesia: Evidence for a dissociable memory function. *Q J Exp Psychol A* 38: 619-644.
- Solana-Figueroa, R., R. Salado-Castillo, G. L. Quirarte, L. E. Galindo, and R. A. Prado-Alcalá. 2002. Enhanced inhibitory avoidance training protects against the amnesic effect of p-chloroamphetamine. *Life Sci.* 71: 391-399.
- Squire, L. R., and E. R. Kandel. 1999a. Brain systems for declarative memory *Memory From Mind to Molecules*. p 83-108. Scientific American Library, New York.
- Squire, L. R., and E. R. Kandel. 1999b. Declarative memory *Memory From Mind to Molecules*. p 69-82. Scientific American Library, New York.
- Squire, L. R., and R. D. McKee. 1993. Declarative and nondeclarative memory in opposition: When prior events influence amnesic patients more than normal subjects. *Mem. Cognit.* 21: 424-430.

- Steckler, T., and F. Holsboer. 2001. Interaction between the cholinergic system and CRH in the modulation of spatial discrimination learning in mice. *Brain Res.* 906: 46-59.
- Struckmann, N. et al. 2003. Role of muscarinic receptor subtypes in the constriction of peripheral airways: studies on receptor-deficient mice. *Mol. Pharmacol.* 64: 1444-1451.
- Suzuki, A. et al. 2004. Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J. Neurosci.* 24: 4787-4795.
- Thomas, R. L., R. Mistry, C. J. Langmead, M. D. Wood, and R. A. Challiss. 2008. G protein coupling and signaling pathway activation by m1 muscarinic acetylcholine receptor orthosteric and allosteric agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 327: 365-374.
- Thompson, R. F. 1974. *Fundamentos de Psicología Fisiológica*. Trillas, México, D.F.
- Thompson, R. F., and J. J. Kim. 1996. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93: 13438-13444.
- Vicens, P., M. C. Carrasco, and R. Redolat. 2003. Effects of early training and nicotine treatment on the performance of male NMRI mice in the water maze. *Neural Plast.* 10: 303-317.
- Wang, R., and E. Spelke. 2002. Human spatial representation: insights from animals. *Trends Cogn. Sci.* 6: 376.
- Whishaw, I. Q., and B. F. Petrie. 1988. Cholinergic blockade in the rat impairs strategy selection but not learning and retention of nonspatial visual discrimination problems in a swimming pool. *Behav. Neurosci.* 102: 662-677.