



EXPERIMENTAL

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE ESCOPOLAMINA EN UNA TAREA DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS EN CAMPO ABIERTO

Camilo Becerra, Laura Castillo, Gloria Cruz*
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Resumen

La escopolamina es un fármaco antagonista colinérgico de los receptores muscarínicos M1, involucrados en la memoria episódica, el control del movimiento y las emociones. A su vez, el paradigma de reconocimiento de objetos expone que los roedores tienden a dedicar más tiempo de exploración a estímulos novedosos en su ambiente que a los familiares (Torres & cols, 2007). En este experimento se evaluó el efecto de la administración de escopolamina en el reconocimiento de un objeto familiar con una rata Wistar macho y su control (solución salina) en un campo abierto. Al término del experimento se compararon las frecuencias y los promedios de duración de interacción de los animales con los objetos; estas comparaciones no arrojaron diferencias notables en la exploración de uno u otro sujeto en ninguna de las dos sesiones llevadas a cabo. Sin embargo nuestros hallazgos mostraron un efecto notable del fármaco en la sobreactivación motora o hiperactividad de los animales y no sobre la memoria episódica.

Palabras clave: escopolamina, memoria episódica, reconocimiento de objetos, campo abierto.

La memoria episódica es una memoria autobiográfica porque le permite al individuo recobrar sucesos de su historia personal, social y familiar que funciona dentro de un marco temporo-espacial. Como parte de la memoria episódica se encuentran la memoria retrógrada, que almacena recuerdos de sucesos ocurridos en el pasado y la memoria anterógrada que da cuenta de acontecimientos nuevos o recientes (Vallejo, 2006). La amnesia anterógrada se define como la incapacidad de retener sucesos próximos que ocurren tras el acontecimiento causal de dicha amnesia (Vallejo, 2006). Este tipo de amnesia consiste en un déficit de la capacidad de hacer asociaciones de estímulos entre ellos, la relación entre un suceso, el tiempo y el lugar en el que ocurrió, y el orden de ocurrencia. En la amnesia anterógrada se ve afectada la memoria episódica, lo cual tiene efectos sobre los recuerdos de tipo biográficos del individuo.

Por su parte, la escopolamina es un fármaco antagonista colinérgico de los receptores muscarínicos M1 (se une a ellos y bloquea la acción de la acetilcolina), involucrados en los procesos de memoria, aprendizaje y control de conductas motoras y emocionales, localizados principalmente en el neocórtex e hipocampo, los cuales tienen un conocido efecto amnésico sobre la memoria episódica, dado que varios estudios han demostrado que las tareas que requieren memoria de trabajo más que memoria de referencia son más susceptibles a los efectos del bloqueo colinérgico a nivel central (Santi & Weise, 1995). La escopolamina es un alcaloide extraído de plantas de la familia de la solanácea como la *Datura Arborea*, la *Atropa mandragora* o *mandragora officinarum*, la *Hyoscyamus niger* (nombre común: beleño) y la *brugmansia*; por esta composición, es absorbida rápidamente en el tracto gastrointestinal, o en las

* Correspondencia: cabecerraj@unal.edu.co, lmcastillovi@unal.edu.co, gacruzro@unal.edu.co



vías respiratorias, por lo cual su administración puede darse por vía oral o dérmica (Acosta, Moreno, Uribe, Zamora; 2005) y al ingresar al organismo, ejerce su efecto sedante y amnésico en pocos minutos. La escopolamina es usada en pequeñas dosis para el tratamiento de trastornos en el sistema nervioso central (Bustamante, Morales; 2003) pero en dosis altas, produce pérdida del conocimiento y amnesia de tipo anterógrada en la cual a partir del momento del contacto con el fármaco, impide la consolidación de información así como el deterioro progresivo del estado de conciencia. (Delgado, Pardo, Roa, Uribe, 2006) Por otra parte, la escopolamina actúa como antagonista de las sustancias estimulantes del sistema nervioso parasimpático y altera el almacenamiento de la información en la memoria a corto plazo, con una preservación relativa de la recuperación de la memoria a largo plazo (Weiner, & Lipton., 2005). De este modo, las personas que han estado bajo los efectos de la escopolamina manifiestan conducta de sumisión y posteriormente una alteración de en la evocación de los recuerdos (Ardila-Ardila, Moreno, Ardila-Gómez, 2006)

A pesar de que los efectos de las drogas anticolinérgicas han sido estudiadas con varias especies (humanos, chimpancés, ratas, ratones, palomas) y en diferentes tareas como evitación pasiva/activa, alternación espontánea, laberinto radial, igualación a la muestra y tareas de discriminación, (Santi & cols, 1995) no se encontraron reportes experimentales en el que se observen los efectos de la escopolamina en el paradigma de reconocimiento de objetos y por ello resultó interesante plantear esta pregunta de investigación de esta manera. Paralelamente, el Paradigma de la Memoria de Reconocimiento de Objetos está basado en estudios de la preferencia que manifiestan los roedores por objetos novedosos (Torres & cols, 2007) y consiste en que la atención a estímulos novedosos es útil para responder efectivamente a los cambios del ambiente y produce un conflicto de tipo aproximación-evitación, relacionado con la supervivencia en situaciones potencialmente amenazantes (Powell, Geyer, Gallagher & Paulus, 2004). Este paradigma es un modelo que ha permitido evaluar el tipo de memoria definida como la capacidad para discriminar la familiaridad de las cosas previamente encontradas en el ambiente y que ha sido reconocida por algunos autores como un tipo de memoria episódica (Cassaday & Rawlins, 1997; Mumby, 2001); esto dado que los organismos son capaces de identificar relaciones estimulares, espaciales y temporales con los que pueden establecer un sistema integrado relacionado con un evento específico (Torres, Vargas, Múnera, Lamprea, 2007). A su vez, el campo abierto es un instrumento que ha sido utilizado por los investigadores en la evaluación de la memoria episódica y de trabajo no espacial en ratas, por medio de la tarea de reconocimiento de objetos (Lamprea, López, Mora, López, Múnera, Lamprea, 2005).

En este sentido, Powell & cols. (2004) apoyan la hipótesis de que la preferencia por la novedad es un fenómeno que implica una tendencia no aprendida de los animales a explorar objetos novedosos en comparación con los objetos familiares (García Becerra, 2009), al mostrar que los roedores tienden a aproximarse a estímulos con los que no han tenido contacto, ya sea por cierto grado de familiaridad con el objeto o con el experimentador, exponiendo a sujetos experimentales a una serie de tres ensayos en los cuales se reducía al máximo el contacto con personal distinto al experimentador e introduciendo un objeto novedoso en la última serie de ensayos. Con esto se concluyó que la novedad es probablemente la característica responsable por la preferencia observada en el paradigma de reconocimiento de objetos (Ennaceur, Michalikova, Bradford & Ahmed, 2005)

Adicionalmente, estudios previos con el paradigma de reconocimiento de objetos han mostrado que las ratas son capaces de distinguir de forma más eficiente las diferencias de textura a las de forma, aunque no muestran una preferencia intrínseca (Trujillo, 2006). Se sugiere con más precisión que los cambios mostrados en la segunda serie de presentación de objetos en el campo abierto se deben a la capacidad de los animales para diferenciar objetos previamente conocidos de objetos novedosos, y no a las características intrínsecas de cada uno. (Torres & cols., 2009).

En un estudio sobre la interacción entre escopolamina y el extracto de *Hygrophila tyttha* - que actúa a nivel del SNC como ansiolítico, antidepresivo, anticonvulsivante e hipnótico (Lamprea & cols., 2009) en una prueba de memoria episódica en ratas wistar, Lamprea & cols. (2009) encontraron que en la segunda sesión de exploración, los animales inyectados con escopolamina antes de la primera sesión mostraron niveles de exploración significativamente mayores que los de los grupos que no recibieron este fármaco, sugiriendo una incapacidad para discriminar que el campo abierto ya había sido explorado una hora antes. A estos resultados, le agregaron que el antagonista colinérgico muscarínico escopolamina produjo un déficit en la habituación de los animales al campo abierto (Lamprea N., López J., Mora L., López C., Múnera A., Lamprea M., 2005).

Otra observación cuidadosa del comportamiento de 16 ratas tipo wistar durante la exploración en campo abierto realizada por Lamprea & cols (2009), mostró que los animales dedicaron un porcentaje relativamente bajo del tiempo de las sesiones a la exploración de los objetos (inferior al 20% en ambas sesiones) debido a la falta de una sesión de habituación al instrumento previa a la sesión de exploración. De esto explicaron que la situación podría deberse al gran tamaño del campo abierto y a la ausencia de una sesión de habituación previa a la primera sesión de exploración. Del mismo modo, diferentes autores han mostrado que la introducción de una sesión de habituación aumenta la probabilidad de exploración de los objetos (Ennaceur



& cols., 2005). Esto puede deberse a que el animal ya estaba familiarizado con el instrumento por el principio de habituación, con el cual la disminución en la tendencia a responder de cierta manera, o en este caso explorar el instrumento, se produce por una o varias exposiciones del sujeto al instrumento (Domjan, 2007) y por lo tanto el animal ya no tiende a explorar éste sino los objetos que se encuentran en él. Además, el uso de la sesión de habituación, la cual se realiza para determinar la esquina preferida del animal por medio de observación y tiempo de permanencia, determina la ubicación de los objetos, siendo localizados en las esquinas adyacentes a la esquina que previamente se determinó como preferida por el animal. Esta ubicación de los objetos contribuye a determinar y atribuir la exploración del objeto al objeto en sí y no a la ubicación del mismo

Objetos como pirámides, cubos o esferas son utilizados como estímulos en la Tarea de Reconocimiento de Objetos (Kornum, Thygesen, Nielsen, Knudsen, & Marie Lind, 2007) siendo la forma del objeto es la particularidad que varía entre los estímulos de una sesión a la otra. Sin embargo, es ya sabido que la forma de exploración de los roedores hacia su ambiente cercano consiste en el movimiento rítmico de sus barbas faciales, y que esta exploración les permite recolectar información de forma, tamaño, localización textura del objeto (Carvell & Simons, 1990-1995; Harvey, Bermejo, & Zeigler, 2001; Sachdev, Sellien, & Ebner, 2001).

En este estudio se pretendía observar los efectos diferenciales de la inyección de escopolamina sobre la memoria episódica en el desempeño en una tarea de reconocimiento de objetos, por lo cual se evaluó la exposición a la tarea (sesión 1) de interacción con un objeto bajo los efectos de la escopolamina, se comparó con un control que ha sido inyectado con solución salina, y posteriormente la interacción con el objeto anteriormente presentado o familiar y además con un objeto nuevo, sin la previa administración de un fármaco (sesión 2). Con ello se esperaba que la interacción del sujeto experimental con el objeto familiar fuera mayor que la interacción del control con el mismo objeto, ya que como lo muestran Lamprea, & cols. (2009), los animales tendrían que ser incapaces de discriminar que el objeto 1 ya había sido explorado una hora antes. A su vez, esperábamos encontrar que los animales no reconocieran los objetos con los que había tenido interacción previa debido al efecto de la administración de escopolamina.

Método

Sujetos

Dos ratas wistar macho con pesos de 352-355 gramos provenientes del Bioterio Central de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, con edad de 10 semanas, alojadas juntas en cajas de acrílico, con acceso a agua y alimento ad libitum durante todo el experimento.

Instrumentos

Se utilizó un campo abierto de acrílico negro compuesto por una plataforma cuadrada de 60cm de lado rodeada por paredes de 60cm de alto; tres objetos; dos pirámides y un prisma (objeto novedoso), todos de acrílico negro y textura lisa, las pirámides con base cuadrada de 16.5 cm cada lado, 16 cm de arista y 13 cm de altura, con textura lisa y el prisma con una base

rectangular de 13.6 cm x 6 cm. Los objetos se colocaron a una distancia de 5 cm del vértice en dos esquinas del campo. Una videocámara colocada encima del campo abierto y acoplada a un monitor de televisión permitió la grabación en video del comportamiento que fue posteriormente registrado con por medio del software XPlor-Rat 3.3.

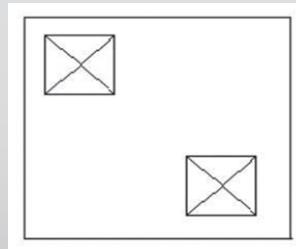


Figura 1. Ubicación de los objetos en la sesión 1.

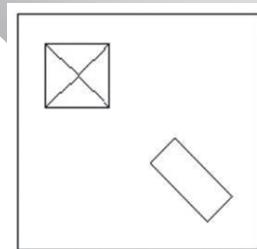


Figura 2. Ubicación de los objetos en la sesión 2.

Procedimiento

Diseño experimental

Tabla 1. Diseño experimental para los ensayos de la tarea de reconocimiento de objetos.

	Sesión 1		Sesión 2
	Interacción con 2 objetos iguales	Interacción con 2 objetos: novedoso y familiar	
Sujeto 1	Habituación	Solución salina (0.9% NaCl, i.p.)	Sin fármaco
Control			
Sujeto 2	Habituación	0.3 mg/kg Escopolamina, i.p.	Sin fármaco

Las sesiones se llevaron a cabo en un periodo de dos días. La prueba estaba dividida en una sesión de habituación al campo abierto (Ennaceur y cols, 2005), otra de interacción con los objetos en el campo abierto pero previamente expuestos a la sustancia (sesión 1) y otra sesión de interacción con los objetos en campo abierto (sesión 2). En la sesión de habituación, los animales permanecieron en el campo abierto por 10 minutos (sin los objetos) y luego fueron llevados a su caja hogar. Luego de un intervalo de 24 horas (Lamprea & cols, 2009), se le aplicó al animal el fármaco o la solución salina (para el sujeto control) y después de 30 minutos se introdujo al campo abierto y se observó la interacción con las dos pirámides (sesión 1). Posterior a una hora (Lamprea & cols, 2009) cada animal fue expuesto simultáneamente a dos objetos (sesión 2), la pirámide que tenía en la sesión 1 y un objeto novedoso (prisma), para comparar la exploración de los dos y así determinar si realmente hubo un reconocimiento del objeto que se presentó en la sesión 1. Estos fueron ubicados en las esquinas del campo abierto de acuerdo



con la observación realizada en la sesión de habituación sobre su preferencia de modo tal que la esquina preferida fue donde no se ubicó ninguno de los objetos para evitar que el animal sesgara su exploración a dicha esquina. La exposición en esta sesión fue por 10 minutos. El campo abierto y los objetos eran limpiados después de cada ensayo con una solución de alcohol-agua destilada en una concentración de 10% para eliminar rastros olfativos. Se evaluó la frecuencia y el tiempo dedicado por los animales a la interacción con cada uno de los objetos.

La interacción con los objetos se define como el toque que el animal hace con las vibras sobre los mismos; con ello se hizo un registro de frecuencias. Además, se registró el tiempo neto que gastaba el animal en cada exploración de cada objeto en diferentes momentos.

Resultados

Para el análisis de resultados se presentaron las frecuencias con las cuales los animales se aproximaron a cada objeto y el promedio de la duración de cada aproximación de los animales con cada uno de los objetos en diferentes momentos, ya que la preferencia por uno u otro objeto estuvo determinada por el tiempo dedicado a cada objeto (duración) y la frecuencia de interacción nos arrojaba un dato que es más preciso respecto a dicha preferencia.

En términos generales el sujeto al cual se le había aplicado escopolamina antes de la sesión 1 dedicó mayor tiempo a la exploración del objeto 1 en la sesión 1 que su control, así como lo hizo con mayor frecuencia, lo que sugiere que se encontraba muy inquieto durante la sesión experimental. Por otra parte, el tiempo dedicado a la exploración de los objetos por parte del sujeto 2 fue menor a su control, pero el número de interacciones con los dos objetos fue mayor.

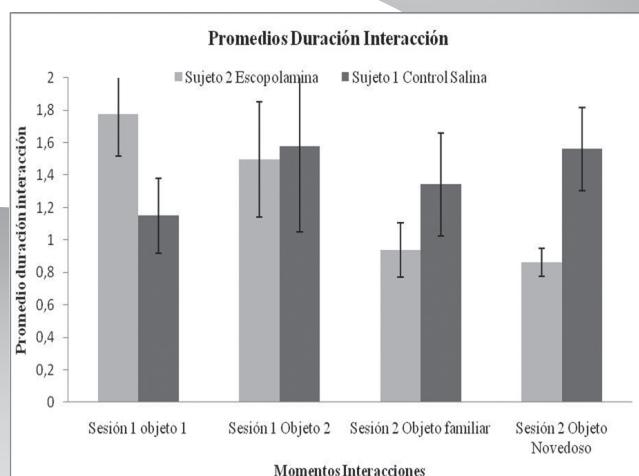


Figura 3. Promedio de la duración de las interacciones con cada objeto en las dos sesiones.

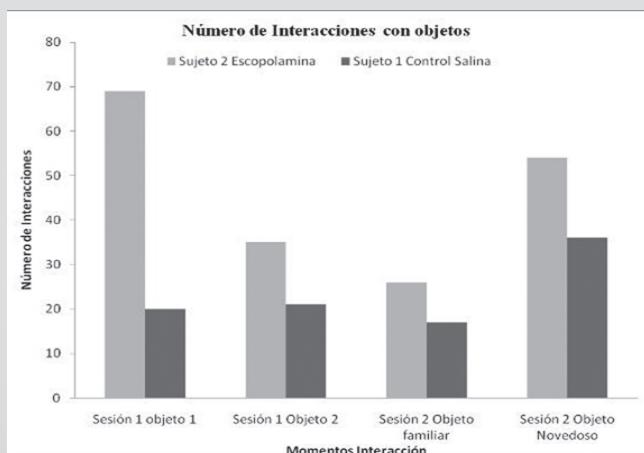


Figura 4. Número de interacciones de cada sujeto con objetos familiar y novedosos en cada sesión

Discusión

Inicialmente el objetivo de este estudio apuntaba a observar si la administración del fármaco escopolamina tenía efectos sobre el reconocimiento de un objeto familiar, es decir, sobre la memoria episódica de tipo anterógrada. Para ello, comparamos los efectos de la administración de escopolamina en una rata con un sujeto control, dado que si este no estaba bajo los efectos del fármaco reconocería la inclusión de un objeto novedoso en la segunda sesión teniendo un desempeño óptimo en la tarea. (Cassaday & Rawlins, 1997; Mumby, 2001).

No obstante, en divergencia con los resultados de la prueba de memoria episódica en ratas Wistar, hecha por Lamprea & cols. (2009) donde encontraron que en la segunda sesión de exploración los animales inyectados con escopolamina antes de la primera sesión mostraron niveles de exploración significativamente mayores que los de los grupos que no recibieron este fármaco, en este experimento el animal inyectado con escopolamina sí registró niveles mayores de exploración que su control pero el contraste no fue un buen indicador de gran diferencia.

Así mismo, la sobreactivación del sujeto 2 en la primera sesión se explica por un grado de evitación del objeto 2. Esto es considerado como una variable no tenida en cuenta en el experimento que pudo afectar la preferencia por el objeto 1.

Es importante precisar que al momento de discriminar entre los objetos familiares de la sesión 1 y el novedoso de la sesión 2, no se utilizó criterio alguno para la eliminación de uno de los dos objetos familiares, es decir, al momento del cambio de uno de los objetos iguales, antes de iniciar la sesión 2 se eligió uno de los objetos de forma aleatoria sin tener en cuenta la frecuencia de interacción de los sujetos durante la primera sesión y la relación de familiaridad posiblemente establecida con alguno de ellos.

Resulta interesante el hecho de que el sujeto 2 haya dedicado menor tiempo de exploración al objeto novedoso pero que haya interactuado con él varias veces, ya que sugiere que durante la sesión tenía un alto nivel de activación motora, provocada posiblemente por la aplicación de escopolamina que ocasiona



el bloqueo de los receptores antagonistas muscarínicos de acetilcolina, que permite su permanencia en espacio sináptico (Santi & Weise, 1995). Por lo tanto, los resultados sugieren que la escopolamina no tuvo un efecto evidente en la primera sesión, lo que indica que no hubo una influencia directa sobre la memoria episódica, el reconocimiento del objeto familiar o la adquisición de la información, sino un efecto en la activación motora del animal.

Referencias

- Acosta P., Moreno, C., Uribe & M., Zamora A.** (2005) Perfil epidemiológico de la intoxicación con burundanga en la clínica Uribe Cualla S.A. de Bogotá, D.C. Acta neurológica colombiana. Vol 21, Nº 3. pp 197-201
- Ardila-Ardila, A., Moreno, C., Ardila-Gómez, S.** (2006) Intoxicación por escopolamina ('burundanga'): pérdida de la capacidad de tomar decisiones. Miami Florida Rev. Neurol.; 42(2).
- Bustamante S., Morales M.** (2003) Farmacología de los anatgonistas muscarinicos. Biblioteca Virtual Universal. Tomado el 3 de Mayo de 2010 desde: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/8868.pdf>
- Carvell, G. & Simons, D. (1990)**. Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. Journal of Neuroscience, 10, 2638-2648.
- Carvell, G. & Simons, D. (1995)**. Task and subject related differences in sensorimotor behavior during active touch. Somatosensory Motor Research, 1-19.
- Cassaday, H. & Rawlins, J.** (1997). The hippocampus, objects, and their contexts. Behavioural Neuroscience, 111, 1228- 1244.
- Delgado O., Pardo J. & Roa J., Uribe C.** (2006) Intoxicaciones comunes no medicamentosas Proyecto ISS ASCOFAME. Guías de Práctica Clínica Basada en la Evidencia. Bogotá.
- Domjan, M.** (2007) Principios de aprendizaje y conducta. (6^a Ed.). Madrid: Thomson Learning Ibero.
- García Becerra, A.M.** (2009). Efectos de la Inyección Intrahipocampal de Escopolamina sobre el Comportamiento en el Laberinto en Cruz Elevado. Suma Psicológica, 16 (1).
- Ennaceur A, Michalikova S, Bradford A, Ahmed S.** (2005) Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks. Behav Brain Res., 159(2), 247-266.
- Harvey, M., Bermejo, R. & Zeigler H.** (2001). Discriminative whisking in the head-fixed rat: Optoelectronic monitoring during tactile detection and discrimination tasks. Somatosensory Motor Research, 18, 211-222.
- Kornum, B., Thygesen, K., Nielsen, T., Knudsen, M., & Marie Lind, N.** (2007). The effect of the inter phase delay interval in the spontaneous object recognition test for pigs. Behavioural Brain Research, 181 (2), 210-217.
- Mumby, D.** (2001). Perspectives on object-recognition memory following hippocampal damage: Lessons from studies in rats. Behavioural Brain Research, 127, 159-181.
- Lamprea N., López J., Mora L., López C., Múnera A., Lamprea M.** (2005) Efectos de la administración sistémica de escopolamina en una tarea de reconocimiento de objetos. Revista Médica Universidad de Antioquia Iatreia, 8, (4-S)
- Lamprea, N., Guerrero, M., Múnera, A Lamprea, M.** (2009). Integración Entre El Extracto De Hygrophila Tyttha y La Escopolamina En Una Prueba De Memoria Episódica En Ratas. Acta Biológica Colombiana, 14 (2), 41-48.
- Powell, S., Geyer, M., Gallagher, D., & Paulus, M.** (2004). The balance between approach and avoidance behaviors in a novel object exploration paradigm in mice. Behavioural Brain Research, 152, 341-349.
- Sachdev, R., Sellien, H., & Ebner, F.** (2001). Temporal organization of multi- whisker contact in rats. Somatosensory Motor Research, 18, 91-100.
- Santi, A. & Weise, L.** (1995). The effects of scopolamine on memory for time in rats and pigeons. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 51(2/3), pp. 271-277.
- Torres, A., Vargas, V., Múnera, A., Lamprea, M.** (2007). Evaluación de preferencia por la forma o la textura de dos tipos de objetos en ratas Wistar. Revista Colombiana de Psicología, (16), pp. 49-56.
- Trujillo, D.** (2006). Efectos de la aplicación de dos períodos de estrés agudo por restricción sobre la adquisición de una tarea de memoria de reconocimiento de objetos en ratas. Trabajo de grado. Departamento de Psicología, Facultad de Ciencias Humanas. Universidad Nacional de Colombia.
- Vallejo, J.** (2006) Introducción a la psicopatología y la psiquiatría. Ed. Masson S.A.
- Weiner, M., Lipton A.** (2005) Demencias: investigación, diagnóstico y tratamiento . Masson S.A. Barcelona.