

## 5.3. RESULTADOS

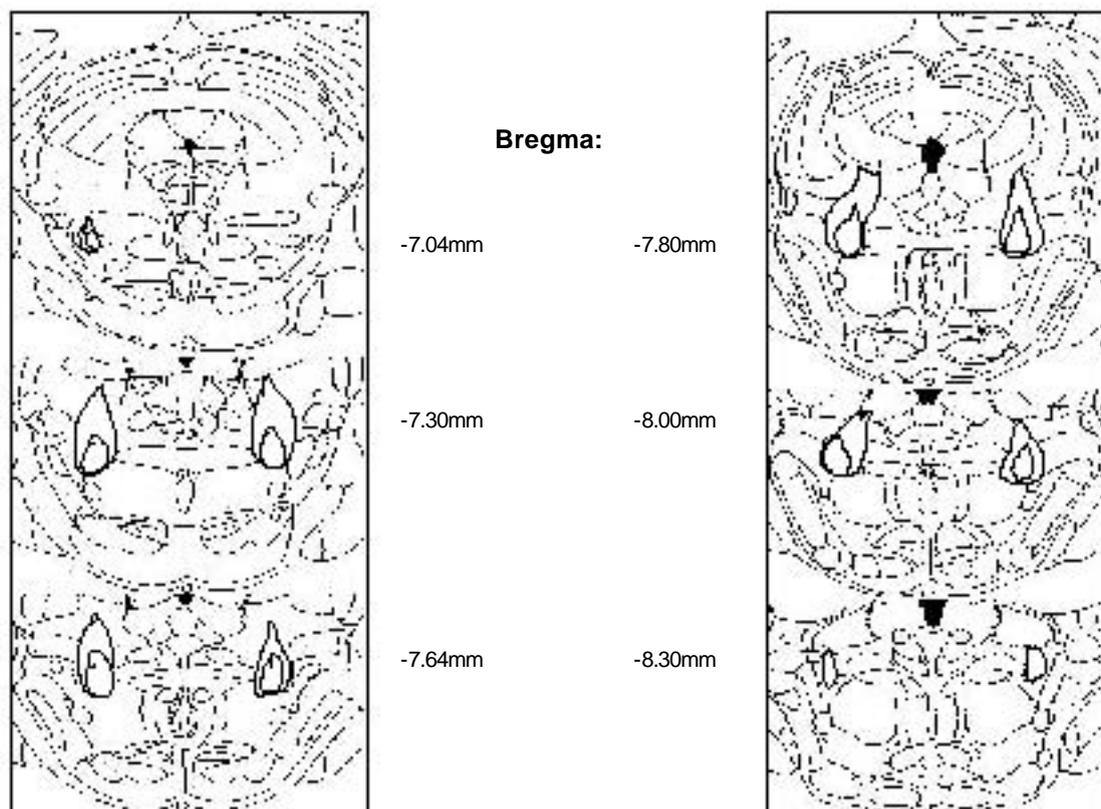
### 5.3.1. Análisis histológicos, observaciones generales y peso corporal

De la muestra inicial de 33 sujetos, un animal del grupo lesión murió durante el periodo postoperatorio, y 6 no consiguieron llegar al criterio de habituación al laberinto (4 del grupo lesión y 2 del grupo control), razón por la cual se desestimaron.

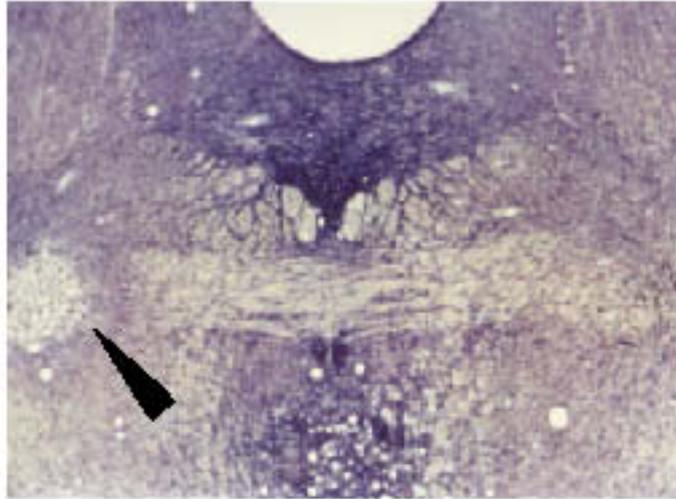
Por lo tanto, 26 animales pasaron por la fase de aprendizaje. De estos 26 sujetos, se eliminaron los datos de 4 más después de los análisis histológicos: uno de ellos por tener una lesión demasiado extensa, que afectaba al PPTg pero también a estructuras adyacentes; un segundo sujeto porque la lesión era excesivamente pequeña; un tercer animal no pudo ser incluido en los análisis estadísticos debido a que la tinción resultó defectuosa y no fue posible determinar la extensión de la lesión; y finalmente, también excluimos una rata del grupo control, ya que presentaba una gliosis excesivamente marcada alrededor de la trayectoria de una de las agujas de inyección. Finalmente, 4 animales válidos histológicamente (2 del grupo control y 2 del grupo lesión) presentaron problemas durante la realización de las pruebas de aprendizaje. En dos de estos 4 casos (2 sujetos del grupo control), sólo se incluyeron en los análisis estadísticos los datos referentes a la habituación al reforzador y al laberinto; en uno de los animales del grupo lesión se incluyeron también los datos de la primera prueba de aprendizaje (DMTP). Y los datos referentes al último de estos cuatro sujetos (del grupo lesión) no se incluyeron en ninguno de los análisis, sino que se eliminaron de la muestra debido a problemas acontecidos durante la realización tanto de la habituación al reforzador como del aprendizaje del DMTP. Por otra parte, tres sujetos (2 del grupo lesión y 1 control) tuvieron que ser eliminados de los análisis de habituación al reforzador porque dicha prueba no se pudo realizar con el rigor necesario, no obstante, los datos de estos animales para las otras pruebas fueron válidos. Por lo tanto; la muestra total que se sometió al análisis y explotación estadística fue de 21 sujetos (9 del grupo lesión y 12 del grupo control).

Las preparaciones histológicas fueron examinadas separadamente por tres personas que desconocían tanto el grupo como la ejecución de los animales. La figura 25 (pág. siguiente) ilustra la reconstrucción de la extensión de las lesiones válidas más grandes

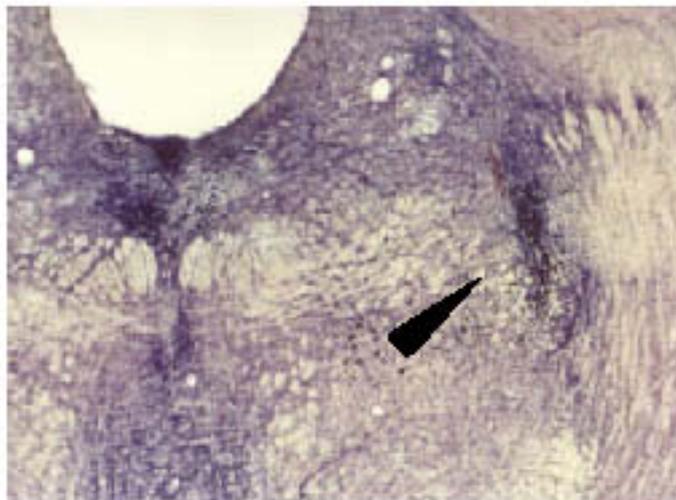
(áreas rayadas) y más pequeñas (áreas punteadas) en cada uno de los planos en los cuales detectamos gliosis, pérdida neuronal y reducción de la tinción por NADPH-diaforasa (Paxinos y Watson, 1986, 1997). En todos los casos la zona dañada se encontraba entre las coordenadas 7.04 y 8.30 posteriores a Bregma. Además del PPTg, estas lesiones también afectaron ligeramente a otras áreas cercanas a éste, como el campo retrorrubral y el núcleo retrorrubral, el núcleo mesencefálico profundo, el núcleo microcelular tegmental, el núcleo cuneiforme y la sustancia gris periacueductal. Las figuras 26 y 27 muestran microfotografías de secciones cerebrales teñidas mediante NADPH-d correspondiente a uno de los sujetos lesionados y a uno de los animales de control.



**Fig. 25.** Reconstrucción de las extensiones más pequeñas (áreas rayadas) y más grandes (áreas punteadas) de las lesiones con ácido iboténico. Secciones tomadas del atlas de Paxinos y Watson (Paxinos y Watson, 1997).



**Fig. 26.** Tinción histoquímica para NADPH-diaforasa de un sujeto del grupo de lesión excitotóxica (con ácido iboténico) bilateral del PPTg. Puede observarse la práctica ausencia de tinción para la NADPH-diaforasa, lo que indica la práctica desaparición de neuronas colinérgicas correspondientes al PPTg en los sujetos con la lesión (flecha negra).



**Fig. 27.** Tinción histoquímica para NADPH-diaforasa de un sujeto del grupo de control, al que se le infundió vehículo (PBS) bilateralmente en la región del PPTg. Puede observarse la intensa tinción de las neuronas colinérgicas del PPTg, lo que indica que estas neuronas no están dañadas en los sujetos de control (flecha negra).

Como se ha explicado en el apartado de materiales y método, una vez los sujetos habían pasado por el laberinto elevado en cruz, se les sometió a restricción de comida y fueron mantenidos alrededor del 85% de su peso “ad libitum” a lo largo de todo el experimento. El peso se controlaba diariamente para ajustar la ración de comida, y a su vez, servía para valorar cambios en el estado del sujeto que pudieran afectar a su bienestar o a los resultados experimentales.

Tal como puede observarse en la tabla 14 y la figura 28, el peso sufrió una ligera disminución en ambos grupos de sujetos (lesión y control) tras las intervenciones, pero después se recuperó, para reducirse de nuevo cuando empezó la restricción de comida, previamente a la habituación al reforzador, y fue menguando progresivamente hasta estabilizarse antes de la primera sesión de aprendizaje para mantenerse así hasta el final del experimento.

### EVOLUCIÓN DEL PESO A LO LARGO DEL EXPERIMENTO 3

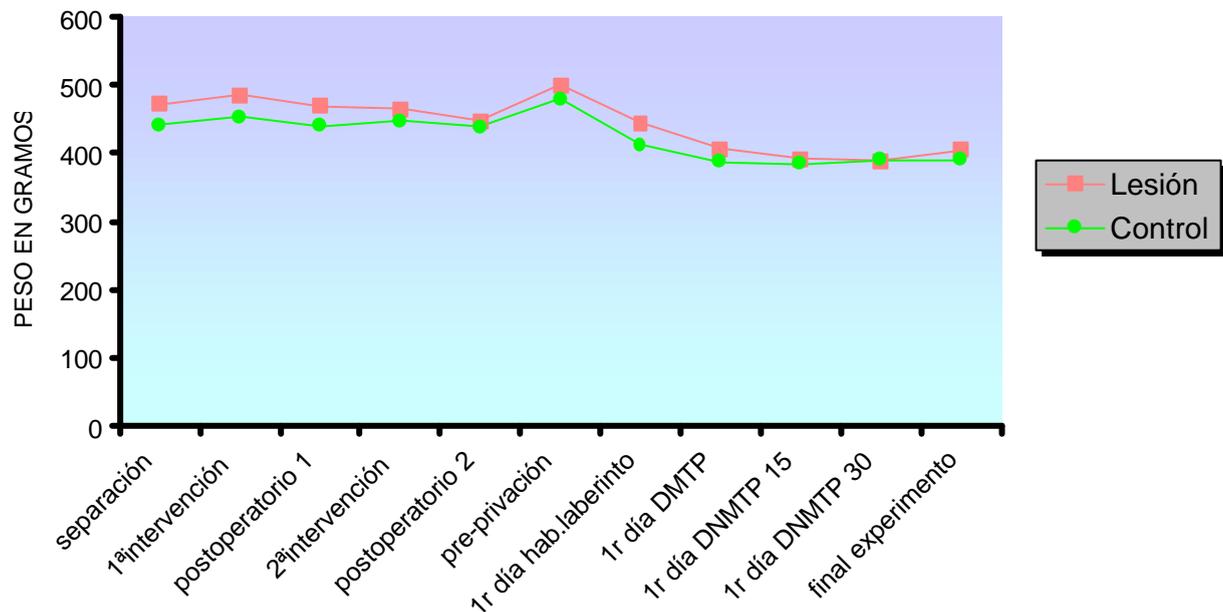


Fig. 28. Evolución del peso de los diferentes grupos a lo largo del procedimiento experimental.

**PESO DE LOS ANIMALES EN DIFERENTES FASES DEL EXPERIMENTO**

FASE EXPERIMENTAL	GRUPO LESIÓN		GRUPO CONTROL		TOTAL	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
SEPARACIÓN	473.44	31.43	442.50	33.88	455.76	35.67
INTERVENCIÓN 1	485.88	36.72	453.41	38.50	467.33	40.32
PRIMER POSTOPERATORIO DÍA	469.55	43.55	440.5	32.02	452.95	39.24
INTERVENCIÓN 2	466.33	54.82	447.66	32.04	455.66	43.08
PRIMER POSTOPERATORIO DÍA	447	58.13	439.66	30.57	442.8	43.35
PRE-HABITUACIÓN AL REFORZADOR	499.88	48.51	480	29.59	488.52	39.05
PRIMER HABITUACIÓN AL LABERINTO DÍA AL	445.55	38.73	412.33	30.52	426.57	37.36
PRIMER DÍA DMTP	406.33	37.64	387.75	25.27	395.71	31.73
PRIMER DÍA DNMTP 15	391.87	26.86	384.55	22.05	388	23.94
PRIMER DÍA DNMTP 30	389.5	20.5	389.6	24.58	389.57	21.74
FINAL EXPERIMENTO	405.55	37.01	390.083	23.73	396.71	30.32

**Tabla 14.** Medias y desviaciones estándar del peso corporal de las ratas en diferentes momentos del experimento.

Como el número de sujetos por grupo no era el mismo en las tres pruebas de aprendizaje, y como el peso de los animales no varió demasiado durante las mismas, ya que se mantenía alrededor del 85% del peso "ad libitum", en los análisis estadísticos no se incluyeron los datos referentes al peso del primer día del DNMTP con la demora de 15 segundos ni del DNMTP demorado 30 segundos.

Un análisis mixto de la variancia (MANOVA) puso de manifiesto que no hubo diferencias significativas entre el peso de los dos grupos a lo largo de las diferentes fases experimentales. El factor fase experimental, en cambio, sí fue significativo [Fase experimental:  $F(8,152) = 96.5$ ;  $p < 0.001$ ], reflejando especialmente la disminución del peso en respuesta, principalmente, a la restricción de comida.

Por otro lado, en algunas ratas se detectaron algunas anomalías motoras tras las lesiones con ácido iboténico, una vez el animal se recuperaba de la anestesia. Estas anomalías consistían en una reducción de la actividad general, problemas para movilizar algunas extremidades y rotación contralateral a la lesión, y se manifestaban sólo entre las 12 y las 18 horas posteriores a la intervención, desapareciendo luego. También encontramos que algunos sujetos consumían cantidades de agua inferiores a las normales los días posteriores a la lesión, e incluso uno de los animales no bebió agua durante un día; no obstante, al igual que los problemas motores, este efecto se normalizó al cabo de unos días de postoperatorio.

### **5.3.2. Habitación al reforzador**

La habituación al reforzador, tal y como se ha comentado en el apartado de materiales y método, se valoró a partir del *tiempo que tardaban los animales en consumir la primera bolita de comida, el tiempo que tardaban en comer el total de reforzadores, el número de defecaciones y la presencia o ausencia de micción.*

De los 18 sujetos válidos para esta prueba, 3 (1 del grupo lesión y 2 del grupo control) no consumieron ninguno de los reforzadores en la primera sesión. Por tanto, en los análisis multivariantes de la varianza se incluyeron las 6 ratas del grupo lesión y las 9 del grupo control que sí consumieron reforzadores en esta primera sesión. Por otra parte, solamente tuvimos en cuenta las dos primeras sesiones del test, que se realizaron una cada día aproximadamente a la misma hora, la primera con las luces de la habitación apagadas y la segunda encendidas, ya que todos los animales seleccionados se habituaron durante éstas.

En la tabla 15 se indican las medias y las desviaciones estándar para cada grupo de sujetos, del tiempo en segundos hasta consumir el primer reforzador y el total de reforzadores, así como del número de defecaciones del primer día y del segundo día de habituación incluyendo en este caso a los animales que no comieron reforzadores en la primera fase de la prueba.

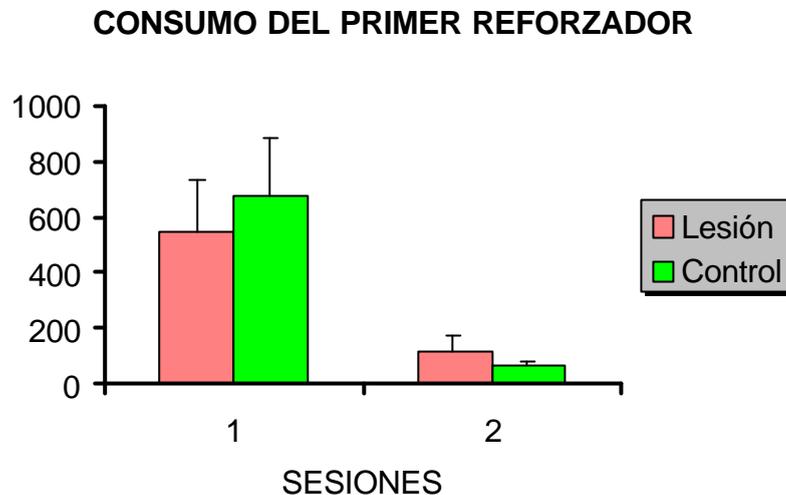
**HABITUACIÓN AL REFORZADOR**

VARIABLES	GRUPO LESIÓN		GRUPO CONTROL		TOTAL	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
TIEMPO EN CONSUMIR EL 1 <sup>ER</sup> REFORZADOR EN LA PRIMERA SESIÓN	553.83	440.37	675.77	624.51	627	544.01
TIEMPO EN CONSUMIR EL TOTAL DE REFORZADORES EN LA PRIMERA SESIÓN	1280	890.61	1471.22	998.38	1394.73	928.58
NÚMERO DE DEFECACIONES EN LA PRIMERA SESIÓN	0.86	2.27	1.55	2.46	1.28	2.35
TIEMPO EN CONSUMIR EL 1 <sup>ER</sup> REFORZADOR EN LA SEGUNDA SESIÓN	106	117.37	131.73	153.24	121.72	137.26
TIEMPO EN CONSUMIR EL TOTAL DE REFORZADORES EN LA SEGUNDA SESIÓN	354.71	469.15	300.55	213.32	321.61	324.33
NÚMERO DE DEFECACIONES EN LA SEGUNDA SESIÓN	0.29	0.76	1.45	2.16	1	1.81

**Tabla 15.** Medias y desviaciones estándar para cada grupo del tiempo tardado en consumir el primer reforzador y el total de reforzadores, así como del número de defecaciones.

Los análisis estadísticos (MANOVA) revelaron que los sujetos de lesión y control no se diferenciaron en el tiempo que tardaron en consumir el primer reforzador en las dos sesiones de habituación [Grupo:  $F(1,13) = 0.05$ ;  $p = 0.827$ ], no siendo significativa tampoco la interacción entre grupo y sesión [Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,13) = 0.37$ ;  $p = 0.553$ ]; pero sí se hallaron diferencias significativas, como era de esperar, entre las dos sesiones de esta prueba [Sesión:  $F(1,13) = 13.23$ ;  $p = 0.003$ ]. El análisis de la variancia de un factor (ANOVA) para esta variable en la segunda sesión de la tarea, incluyendo a las ratas que no

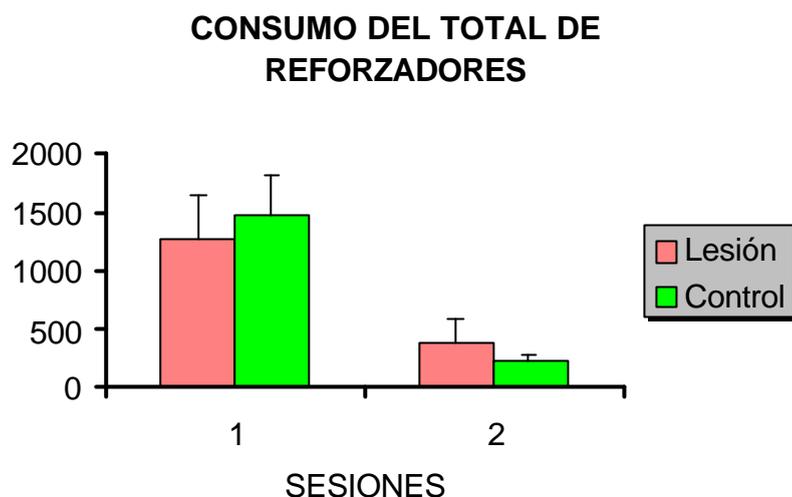
se habituaron en la primera sesión de habituación al reforzador, confirmó que los dos grupos no eran significativamente distintos [ $F(1,17) = 0.14$ ;  $p = 0.711$ ].



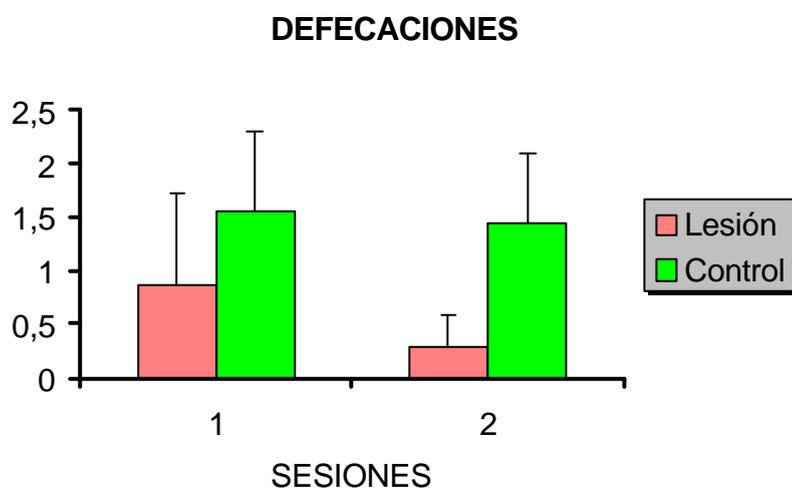
**Fig. 29.** Medias (+SEM) del tiempo que tardaron los dos grupos de sujetos (sin los animales que no se habituaron en la primera sesión) en comer el primer reforzador. No se encontraron diferencias significativas en esta variable entre los animales lesionados y sus controles, únicamente se halló que en ambos grupos había una disminución significativa en la segunda sesión respecto a la primera.

En relación al tiempo total que invirtieron los animales en consumir todas las bolitas de comida, no se encontraron diferencias en el MANOVA entre los dos grupos en ninguna de las dos sesiones de habituación [Grupo:  $F(1,13) = 0.00$ ;  $p = 0.968$ ], ni en la interacción entre grupo y sesión [Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,13) = 0.80$ ;  $p = 0.388$ ]. Sí se hallaron, nuevamente, diferencias entre sesiones [Sesión:  $F(1,13) = 28.67$ ;  $p < 0.001$ ].

En cuanto al número de defecaciones, en los resultados de los análisis estadísticos (MANOVA) tampoco se observó que la lesión produjera ningún cambio en esta variable en ninguna de las dos sesiones [Grupo:  $F(1,16) = 0.97$ ;  $p = 0.339$ ; Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,16) = 0.39$ ;  $p = 0.542$ ]. En este caso no hallamos diferencias entre la primera y la segunda sesión de habituación al reforzador [Sesión:  $F(1,16) = 0.74$ ;  $p = 0.403$ ].



**Fig. 30.** Medias (+SEM) del tiempo que tardaron los dos grupos de sujetos en comer todos los reforzadores, sin tener en cuenta los datos de los animales que no se habituaron en la primera sesión. No hubo diferencias significativas entre los sujetos lesionados y los controles, y se observaron diferencias entre sesiones tanto en un grupo como en el otro y en el mismo sentido.



**Fig. 31.** Medias (+SEM) del número de defecaciones que presentaron los grupos experimentales, incluyendo los datos referentes a los sujetos que no se habituaron el primer día de habituación. No se encontraron diferencias significativas en esta variable entre los animales lesionados y sus controles, y tampoco se hallaron diferencias entre las dos sesiones en ninguno de los dos grupos.

Por lo que se refiere a la aparición o no de micción, cabe decir que durante la realización de la prueba únicamente miccionaron tres animales control, uno en la primera sesión (el 9% del total de ratas controles incluyendo los animales que no se habituaron en la primera sesión, y el 11% de los controles que se habituaron en las dos sesiones) y otros dos lo hicieron en la segunda sesión (el 18% del total de ratas controles que pasaron por la segunda sesión, y el 22.22% de los sujetos de control que se habituaron en las dos fases), y en cambio los sujetos lesionados no presentaron este tipo de conducta.

En resumen, la lesión del PPTg no causó alteraciones en la habituación al reforzador, lo que sugiere que no afecta a los índices de ansiedad o de preferencia por la novedad en este tipo de prueba.

### **5.3.3. Habituación al laberinto**

La habituación al laberinto se evaluó mediante el *número de ensayos y de sesiones que necesitaron los animales para llegar al criterio establecido de habituación*, que consistía en completar cada uno de los ensayos de una sesión diaria en menos de diez segundos durante dos días consecutivos.

Como ya se ha expuesto en el punto 5.3.1., 6 ratas no alcanzaron el criterio de habituación en las veinte sesiones que tenían como máximo para conseguirlo (4 del grupo lesión y 2 del grupo control), y a consecuencia de ello se eliminaron del experimento y no fueron analizados. La muestra analizada, pues, estuvo formada por 9 sujetos lesionados y 12 animales control. Estas dos variables que hemos mencionado fueron estudiadas con análisis de la variancia de un factor (ANOVA) y con análisis de la supervivencia según el método de Kaplan-Meier.

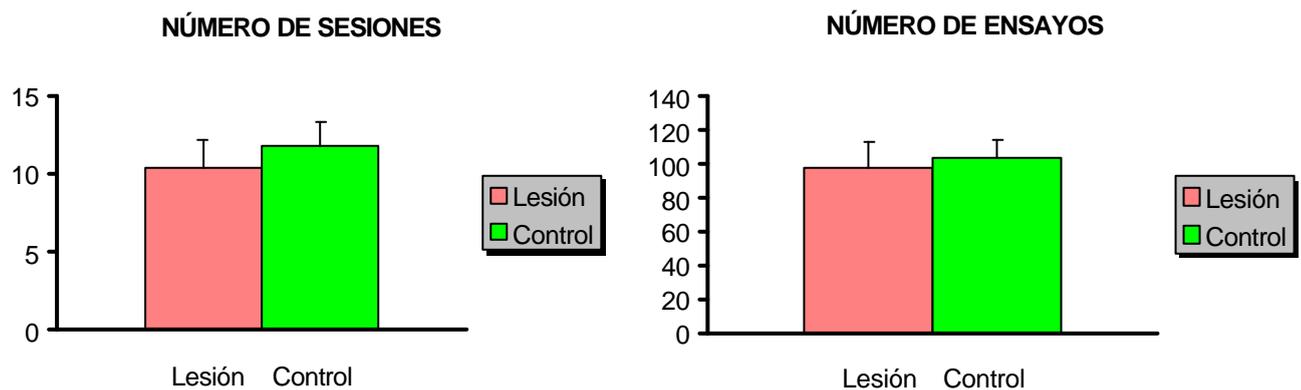
En la tabla 16 se presentan las medias y las desviaciones estándar de las dos variables estudiadas para cada uno de los grupos.

**HABITUACIÓN AL LABERINTO**

GRUPO EXPERIMENTAL	SESIONES		ENSAYOS	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	10.33	5.61	97.78	47.82
Control	11.83	5.18	104.25	36.11
TOTAL	11.19	5.29	101.48	40.53

**Tabla 16.** Medias y desviaciones estándar del número de sesiones y ensayos requeridos por los dos grupos de animales hasta habituarse al laberinto.

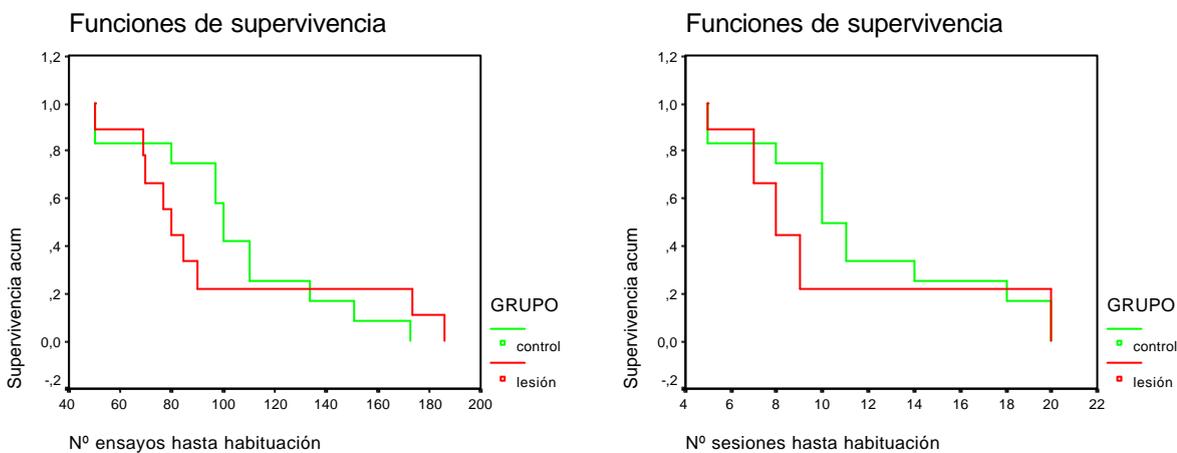
Los análisis de la variancia pusieron de manifiesto que los grupos lesión y control no difirieron en cuanto al número medio de sesiones requeridos para alcanzar el criterio de habituación [ $F(1,20) = 0.40$ ;  $p = 0.534$ ], y tampoco se encontraron diferencias significativas entre grupos en referencia al número medio de ensayos necesitados para habituarse al laberinto [ $F(1,20) = 0.12$ ;  $p = 0.727$ ].



**Fig. 32 y 33.** Medias (+SEM) del número de sesiones y de ensayos que precisaron los dos grupos de sujetos hasta alcanzar la habituación al laberinto. No se encontraron diferencias significativas en estas variables entre grupos.

Los análisis de la supervivencia mostraron que los dos grupos de sujetos llegaron al criterio de habituación en un número similar de ensayos y sesiones, ya que el contraste "log-rank" no detectó diferencias significativas entre las curvas de los dos grupos ni con respecto al número de ensayos [Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 0.03$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.873$ ], ni con respecto al número de sesiones requeridas para alcanzar el criterio [Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 0.52$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.469$ ]. En las figuras 34 y 35 aparecen las curvas de supervivencia de cada grupo para las dos variables analizadas.

Por lo tanto, la destrucción del PPTg no alteró la habituación al laberinto.



**Fig. 34 y 35.** Curvas de supervivencia del número de ensayos y de sesiones de ambos grupos para conseguir la habituación al laberinto. No hubo diferencias significativas entre las curvas de los dos conjuntos de sujetos.

### 5.3.4. Aprendizaje de las tareas apetitivas en el laberinto en T

La adquisición de las tres pruebas de aprendizaje fue evaluada mediante las siguientes variables dependientes:

- *Número de respuestas correctas por sesión*: la suma de aciertos que hacía el animal en cada una de las sesiones para cada prueba.
- *Media de respuestas correctas por sesión en cada una de las fases de aprendizaje*. Debido a que el número de sesiones no era el mismo para todos los sujetos, esta variable se calculó dividiendo el total de aciertos de la prueba entre el número de sesiones que necesitó el sujeto para llegar al criterio de aprendizaje.

- *Porcentaje de respuestas correctas*: tanto por ciento de aciertos sobre el total de ensayos para cada uno de los tests.
- *Número de ensayos hasta criterio*: ensayos que necesitó la rata para alcanzar el criterio requerido de aprendizaje en cada una de las pruebas. Este criterio consistía en responder correctamente, como mínimo, en 5 de los 6 ensayos que formaban una sesión, durante dos sesiones consecutivas.
- *Número de sesiones hasta criterio*: sesiones que precisó el sujeto para llegar al criterio de aprendizaje para cada tarea.

Además, se utilizó un índice derivado de la denominada teoría de detección de señales (Hugh y cols., 1993). Los índices basados en esta teoría resultan de gran utilidad para diferenciar entre aquellas respuestas supuestamente correctas que en realidad no son atribuibles al aprendizaje y sí, en cambio, a variables como perseverancia, lateralidad, etc. (“falsos positivos”), de aquellas otras que sí reflejan el proceso de aprendizaje (“hits”, respuestas identificadas correctamente como aprendizaje). Concretamente, utilizamos el denominado *índice A'*, en valores absolutos, que se calcula mediante la fórmula que se indica a continuación.

$$A' = 0.5 + \frac{(H-F)(1+H-F)}{4H(1-F)}$$

Donde “H” (“hits”) se calcula dividiendo el número de respuestas correctas al brazo izquierdo por el número de respuestas correctas a la izquierda más el número de respuestas incorrectas a la derecha. Y “F” (“falsos positivos”) se calcula dividiendo el número de respuestas incorrectas a la izquierda por el número total de respuestas incorrectas a la izquierda más las correctas a la derecha.

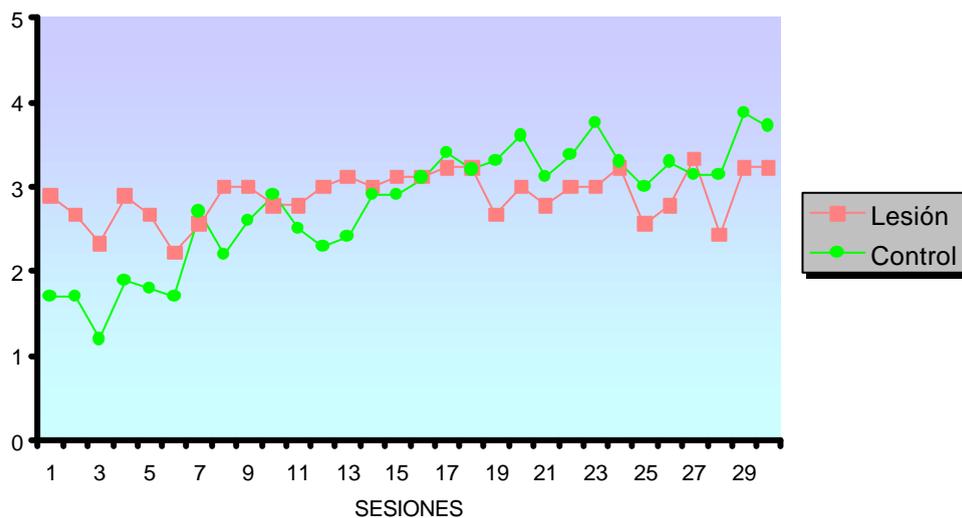
Las variables que hemos mencionado fueron estudiadas con análisis de la variancia de un factor (ANOVA) o multivariante (MANOVA), según el caso; no obstante, el número de ensayos y sesiones hasta criterio se analizaron mediante análisis de la supervivencia según el método de Kaplan-Meier. Para estudiar los efectos de la lesión en el DNMTTP con la demora de 30 segundos se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

### 5.3.4.1. Adquisición de la tarea de DMTP (no-alternancia demorada)

De los 21 animales que pasaron a la primera fase de aprendizaje, 2 del grupo control hubieron de desestimarse por presentar problemas durante la realización de esta primera prueba de no-alternancia; por lo tanto, la muestra que se incluyó en los análisis estadísticos fue de 9 ratas lesionadas y 10 controles.

**Número de respuestas correctas por sesión:** a continuación se presenta un gráfico (fig. 36) de las medias por grupo del número de respuestas correctas por sesión, en donde se muestra la evolución tanto del grupo lesión como control a lo largo de la prueba. Cabe decir pero, que a partir de la sesión 21 el número de sujetos del grupo control fue disminuyendo a medida que algunos animales llegaban al criterio de aprendizaje, y por lo tanto la media de aciertos de las 10 últimas sesiones para ese grupo se ha calculado con los datos de los sujetos que todavía no habían adquirido la tarea; 9 sujetos en la sesión 21, 8 en las 22-23, 7 de la 24 a la 30. Aún así, se puede observar que el grupo lesión no parece mejorar su ejecución a lo largo de las sesiones, y sí lo hace en cambio el grupo control, a pesar de que parte de un número inferior de aciertos en las primeras sesiones.

**MEDIAS DE ACIERTOS EN CADA UNA DE LAS SESIONES DE APRENDIZAJE DEL DMTP**



**Fig. 36.** Gráfico de las medias de aciertos del grupo lesión y control en cada sesión del DMTP. Puede observarse como la ejecución del grupo control mejora y la del grupo lesión no lo hace.

Dado que el número de sujetos por sesión no era siempre el mismo a lo largo de las diferentes sesiones por la razón expuesta anteriormente, se realizaron varios MANOVAs separados para cada 5 sesiones. Dichos análisis revelaron que el número de aciertos sólo mostraba diferencias entre los dos grupos de la primera a la quinta sesión, en el sentido que el grupo lesión realizaba más respuestas correctas que el grupo control [Grupo:  $F(1,17) = 8.65$ ;  $p = 0.009$ ]. Por otro lado, se hallaron diferencias, para ambos grupos en el mismo sentido, entre la sexta y la décima sesión [Sesión:  $F(4,68) = 3.06$ ;  $p = 0.022$ ] y entre las cinco últimas sesiones [Sesión:  $F(4,56) = 2.61$ ;  $p = 0.045$ ].

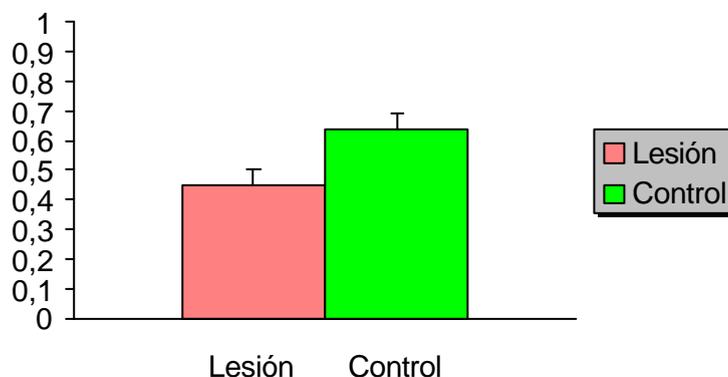
**Índice A'**: por otra parte, el análisis (ANOVA) del índice de aprendizaje A', que, como hemos indicado antes está basado en la teoría de detección de señales y mide precisión de las respuestas, no mostró diferencias entre los dos grupos ni en el valor de dicho índice para el global de la tarea [ $F(1,16) = 1.77$ ;  $p = 0.27$ ], ni en los valores de éste para cada bloque de cinco sesiones.

#### ÍNDICE A' DE APRENDIZAJE

GRUPO EXPERIMENTAL	ÍNDICE A'	
	Media	D.E.
Lesión	0.45	0.18
Control	0.64	0.39
TOTAL	0.55	0.31

**Tabla 17.** Medias y desviaciones estándar del índice A' de cada grupo en el DMTP.

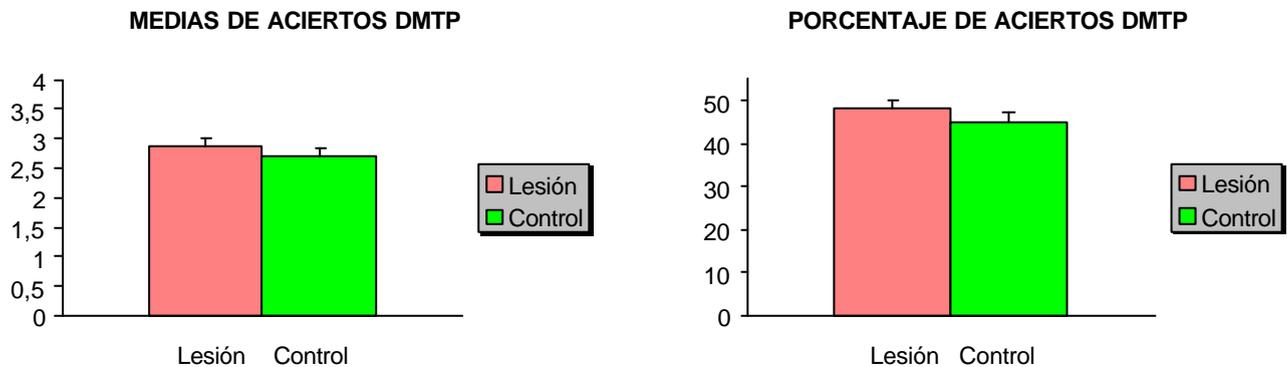
#### ÍNDICE A' DEL DMTP



**Fig. 37.** Medias (+SEM) por grupo del índice A' del DMTP. Los grupos no se diferenciaron.

Como algunos de los resultados presentados están sesgados por el hecho de que las últimas sesiones no incluye a aquellos sujetos que ya habían llegado al criterio de aprendizaje, se analizaron también las variables media de respuestas correctas por sesión y porcentaje de respuestas correctas, que no presentan este problema; asimismo, se realizaron análisis de la supervivencia del número de ensayos y sesiones que necesitaron los sujetos para alcanzar el criterio de aprendizaje (un mínimo de 5 respuestas correctas en dos sesiones consecutivas).

**Media de respuestas correctas por sesión y porcentaje de respuestas correctas:** el análisis de la variancia de un factor (ANOVA) para cada una de estas variables no halló diferencias significativas entre los dos grupos de animales [Media de respuestas correctas por sesión:  $F(1,18) = 1.05$ ;  $p = 0.318$ ] [Porcentaje de respuestas correctas:  $F(1,18) = 1.04$ ;  $p = 0.321$ ].



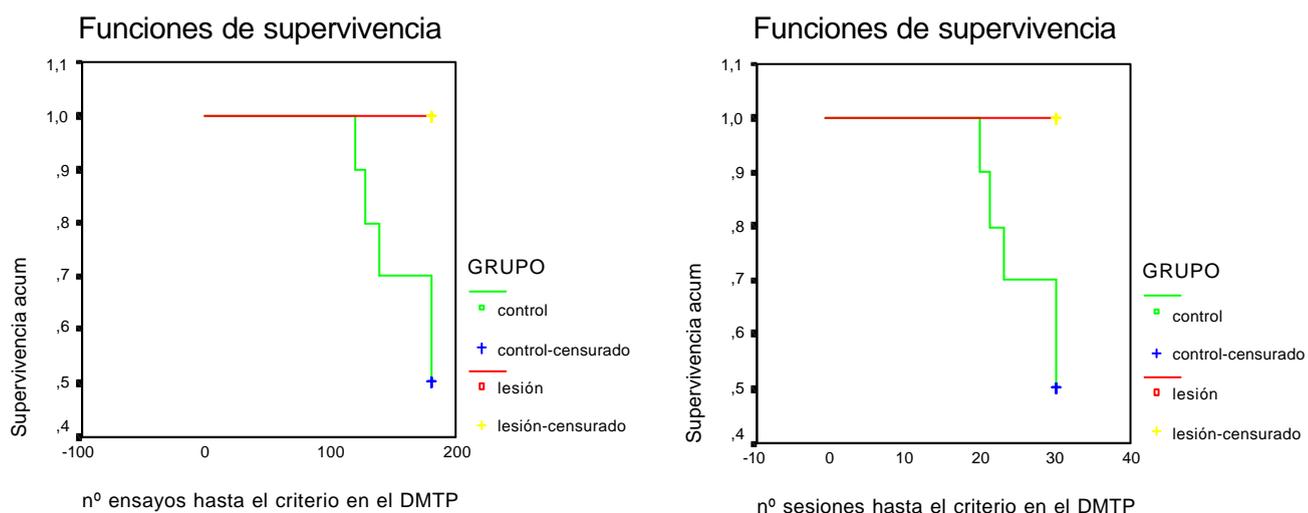
**Fig. 38 y 39.** Medias (+SEM) por grupo de las variables media de respuestas correctas por sesión y porcentaje de respuestas correctas del DMTP. Los dos grupos no se diferenciaron en ninguna de estas variables.

**Número de ensayos y sesiones hasta criterio:** los análisis de supervivencia para el número de ensayos y sesiones que necesitaron los sujetos lesionados y controles para llegar al criterio de aprendizaje (véanse las figuras 40 y 41), indicaron que los dos grupos presentaban curvas significativamente distintas [Ensayos: Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 5.72$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.016$ ] [Sesiones: Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 5.72$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.016$ ]. En conjunto, los animales del grupo control necesitaron menos ensayos y sesiones para llegar al criterio establecido de aprendizaje que los que tenían la lesión en el PPTg. De hecho, ninguno de los animales lesionados alcanzó el criterio de aprendizaje, no alcanzándolo tampoco el 50% (5 sujetos) de los animales del grupo control.

### ENSAYOS Y SESIONES HASTA CRITERIO

GRUPO	ENSAYOS		SESIONES	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	180	0	30	0
Control	164.40	25.49	27.4	4.24
TOTAL	171.79	19.72	28.63	3.28

**Tabla 18.** Medias y desviaciones estándar del número de ensayos y sesiones realizados por los grupos experimentales hasta llegar al criterio de aprendizaje del DMTP.



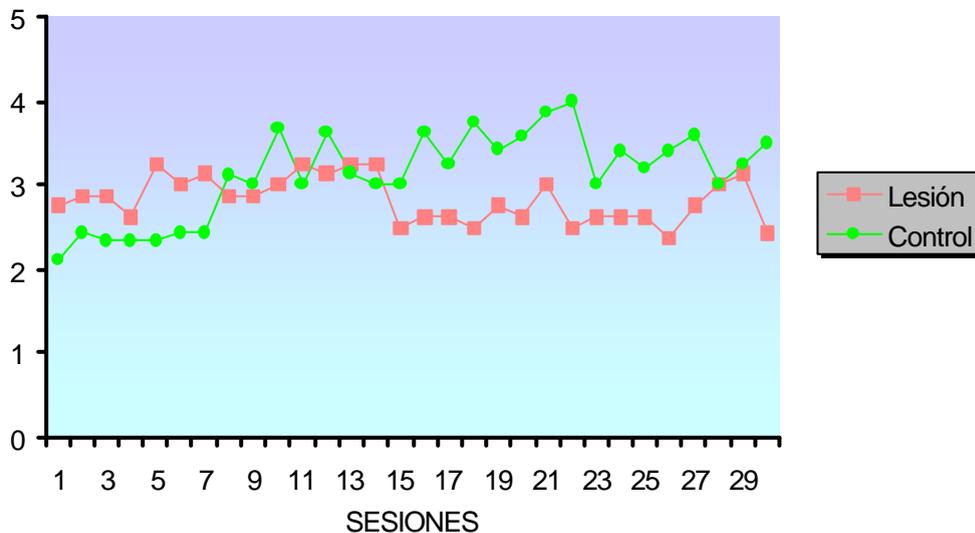
**Fig. 40 y 41.** Curvas de supervivencia del número de ensayos y de sesiones de ambos grupos para el aprendizaje del DMTP. Los sujetos lesionados no llegaron a aprender la tarea y la mitad de los controles sí lo hicieron.

### 5.3.4.2. Adquisición de la tarea de DNMTp (alternancia demorada) con la demora de 15 seg.

En este caso, los sujetos que se sometieron a explotación estadística fueron 8 animales del grupo lesión y 9 del grupo control, ya que los datos de dos sujetos (1 lesionado y 1 control) fueron invalidados por problemas acontecidos mientras se pasaba la tarea.

**Número de respuestas correctas por sesión:** en la figura 42 aparece la evolución de los dos grupos en la tarea de DNMTp con la demora de 15 segundos, en la que se muestra otra vez como los sujetos controles parten de un menor número de aciertos en las primeras sesiones que los lesionados, pero incrementan las respuestas correctas con la práctica, sin embargo, los animales con la lesión en el PPTg no parecen mejorar su rendimiento con las sesiones.

**MEDIAS DE ACIERTOS EN CADA UNA DE LAS SESIONES DE APRENDIZAJE DEL DNMTp DEMORADO 15 SEG.**



**Fig. 42.** Gráfico de las medias de aciertos para cada grupo en cada sesión del DNMTp con 15 seg. de demora. Puede observarse como la ejecución del grupo control mejora y la del grupo lesión no lo hace.

No obstante, al igual que en el DMTP, una vez los animales habían llegado al criterio ya no se les pasaban más sesiones de DNMTp con la demora de 15 segundos, y en consecuencia las medias se calculaban con los datos de aquellos sujetos que no habían alcanzado el aprendizaje de la tarea. En concreto, la media de aciertos de la última sesión

del grupo lesión se realizó con 7 animales en lugar de 8; las medias del grupo control de las sesiones 11-18 se hicieron con 8 sujetos en lugar de 9, las de las sesiones 19-22 con 7, las de las sesiones 23-27 con 5 y las de las 4 últimas sesiones con 4 ratas.

Los análisis para cada 5 sesiones (MANOVAs) demostraron que de la sexta a la décima sesión hubo interacción entre el grupo y la sesión [Grupo  $\times$  Sesión:  $F(4,60) = 2.84$ ;  $p = 0.032$ ]. Para explorar con mayor profundidad el significado de esta interacción se realizó un análisis del efecto de la lesión sobre cada una de estas sesiones (MANOVA; efectos simples); dicho análisis indicó que los dos grupos se diferenciaron en la séptima sesión [Grupo:  $F(1,15) = 5.77$ ;  $p = 0.03$ ], siendo el número de aciertos menor en los animales controles que en los lesionados.

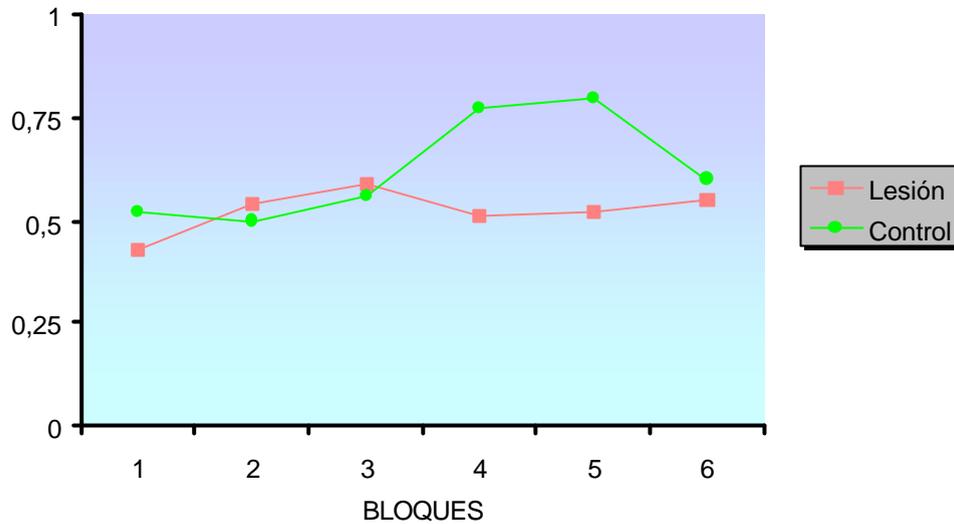
**Índice A'**: el análisis (ANOVA) del índice de aprendizaje A' para esta prueba no encontró diferencias entre grupos en el valor de dicho índice para el global de las sesiones [ $F(1,15) = 0.07$ ;  $p = 0.78$ ]. Sin embargo, los análisis de los valores de cada bloque de cinco sesiones (ANOVAs) hallaron que este índice era significativamente inferior en los animales lesionados que en los controles en los bloques cuarto [ $F(1,12) = 11.70$ ;  $p = 0.005$ ] y quinto [ $F(1,13) = 4.58$ ;  $p = 0.052$ ].

#### ÍNDICE A' DE APRENDIZAJE

GRUPO EXPERIMENTAL	ÍNDICE A'	
	Media	D.E.
Lesión	0.55	0.14
Control	0.53	0.20
TOTAL	0.54	0.17

**Tabla 19.** Medias y desviaciones estándar del índice A' de los animales de cada grupo en el DNMTTP demorado 15 segundos, para el total de las sesiones.

**ÍNDICE A' POR BLOQUES DE CINCO SESIONES DEL DNMT  
DEMORADO 15 SEG.**

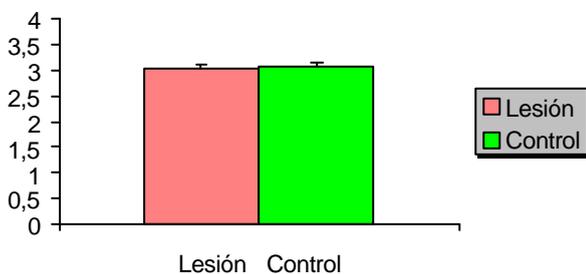


**Fig. 43.** Medias (+SEM) para cada grupo del índice A' de cada bloque de cinco sesiones del DNMT demorado 15 segundo. Dicho índice fue significativamente inferior en el grupo lesión respecto al control en el cuarto y quinto bloque.

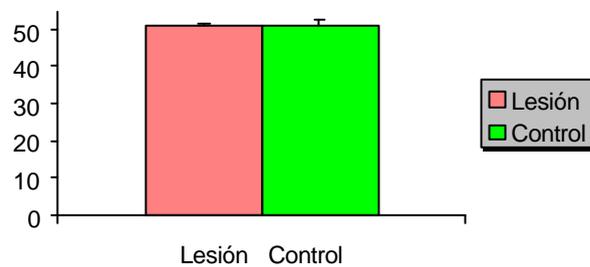
**Media de respuestas correctas por sesión y porcentaje de respuestas correctas:**

el análisis de la variancia de un factor (ANOVA) de la media de respuestas correctas por sesión no mostró diferencias significativas entre el grupo lesión y el grupo control en este segundo tipo de tarea [ $F(1,16) = 0.54$ ;  $p = 0.819$ ]; como tampoco lo hizo el análisis (ANOVA) del porcentaje de respuestas correctas [ $F(1,16) = 0.05$ ;  $p = 0.824$ ].

**MEDIAS DE ACIERTOS DNMT CON 15  
SEG. DE DEMORA**



**PORCENTAJE DE ACIERTOS DNMT  
CON 15 SEG. DE DEMORA**



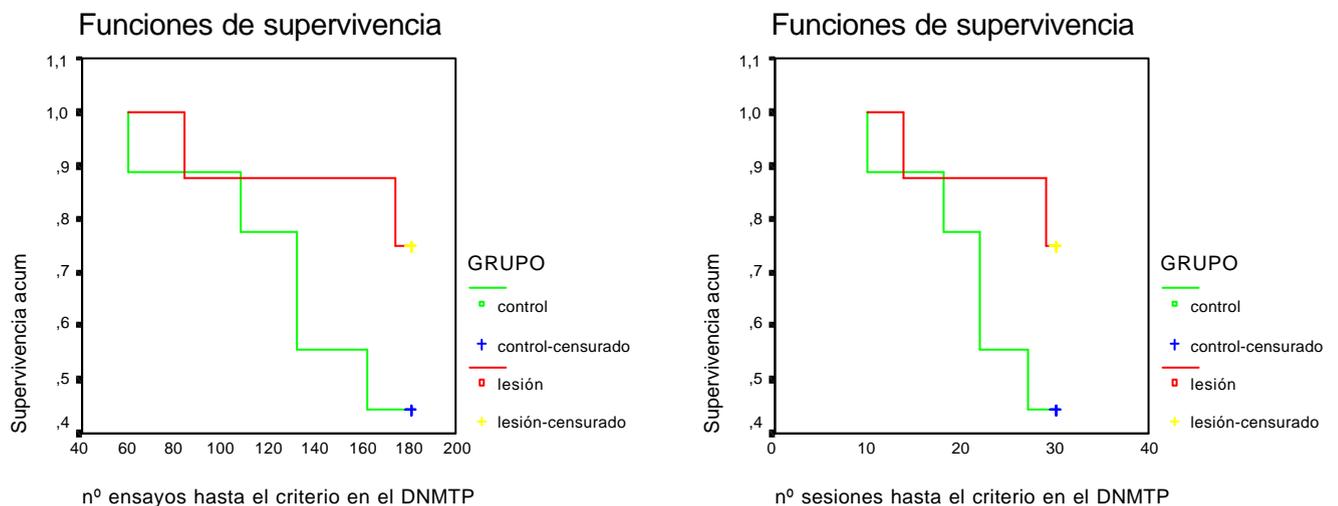
**Fig. 44 y 45.** Medias (+SEM) por grupo de la media de respuestas correctas por sesión y del porcentaje de respuestas correctas del DNMT con la demora de 15 segundos. Los grupos no se diferenciaron en estas variables.

**Número de ensayos y sesiones hasta criterio:** el análisis de la supervivencia (figuras 46 y 47) no reveló diferencias significativas entre las curvas del número de ensayos y de sesiones de los grupos lesión y control [Ensayos: Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 1.63$ , gl = 1, p = 0.201] [Sesiones: Contraste "log-rank":  $\chi^2 = 1.63$ , gl = 1, p = 0.201]; así, a pesar de que las ratas controles necesitaron menos ensayos y sesiones para llegar al criterio establecido de adquisición del DNMTp la diferencia respecto a las que tenían la lesión no fue significativa. Seis sujetos lesionados (75%) y 4 controles (44.44%) fueron incapaces de alcanzar el criterio de aprendizaje en esta tarea.

#### ENSAYOS Y SESIONES HASTA CRITERIO

GRUPO EXPERIMENTAL	ENSAYOS		SESIONES	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	167.25	33.7	27.87	5.61
Control	146	42	24.33	7
TOTAL	156	38.71	26	6.45

**Tabla 20.** Medias y desviaciones estándar del número de ensayos y sesiones efectuados por los animales lesionados y controles hasta aprender el DNMTp demorado 15 seg.



**Fig. 46 y 47.** Curvas de supervivencia del número de sesiones y de ensayos para los dos grupos en el aprendizaje del DNMTp demorado 15 seg. Los sujetos lesionados no se diferenciaron de sus respectivos controles.

Por lo tanto, la lesión del PPTg induce un efecto deteriorante moderado sobre la tarea de DNMTp, como lo indica el hecho de que haya diferencias significativas entre los dos

grupos en el índice A' en algunos de los bloques de sesiones de aprendizaje, pero no en las otras variables relacionadas con el aprendizaje.

**Interferencia entre la tarea de DMTP y la de DNMTP con la demora de 15 seg.**

Finalmente, para investigar la posible interferencia entre la tarea de DMTP y la de DNMTP demorado 15 seg., se estudió la correlación entre la variable media de aciertos en las 5 últimas sesiones hasta el criterio del DMTP y la variable media de aciertos en las 5 primeras sesiones del DNMTP. En dicho análisis no se halló ninguna correlación significativa entre las dos medias ni en el grupo lesión [ $r = 0.251, p = 0.549$ ], ni en el grupo control [ $r = -0.583, p = 0.99$ ].

**INTERFERENCIA ENTRE EL DMTP Y EL DNMTP 15 SEG.**

GRUPO EXPERIMENTAL	DMTP		DNMTP 15 SEG.	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	3	0.33	2.87	0.33
Control	3.73	0.67	2.31	0.81
TOTAL	3.38	0.64	2.57	0.68

**Tabla 21.** Medias y desviaciones estándar para los dos grupos de la media de respuestas correctas en las cinco últimas sesiones del DMTP y de la media de aciertos en las cinco primeras sesiones del DNMTP con 15 seg. de demora.

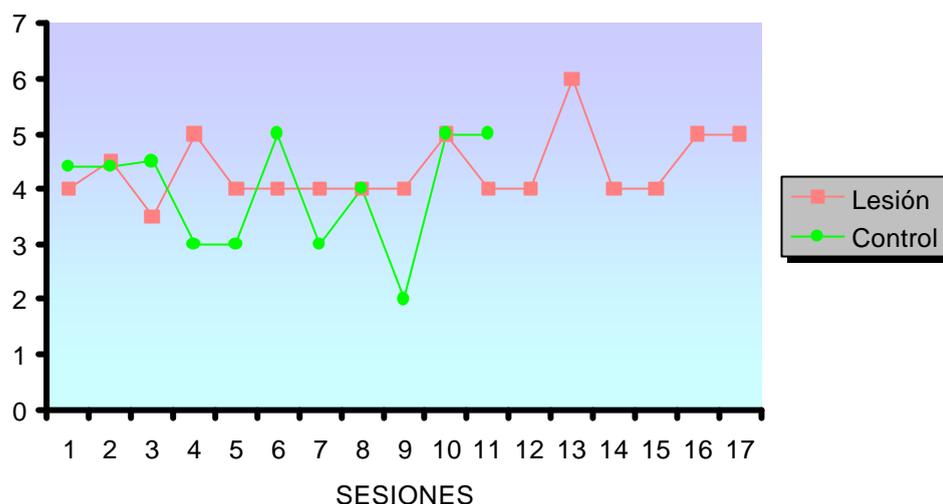
**5.3.4.3. Adquisición de la tarea de DNMTP con la demora de 30 seg.**

Los animales de los dos grupos que fueron capaces de aprender el DNMTP con la demora de 15 segundos pasaron a realizar la misma prueba con un intervalo entre la carrera forzada y la libre superior, de 30 segundos. Únicamente llegaron a esta fase experimental 2 sujetos del grupo lesión (el 25% de los animales lesionados que pasaron por el DNMTP con 15 segundos de demora) y 5 controles (el 66.66% de las ratas controles que fueron valoradas en la tarea de alternancia anterior).

Seguidamente se presenta el gráfico (fig. 48) de la evolución de las medias por grupo de la variable número de respuestas correctas por sesión. Uno de los dos sujetos del grupo lesión consiguió llegar al criterio de aprendizaje en la tercera sesión, con lo cual los datos restantes para este grupo corresponden a los del único animal que todavía no había

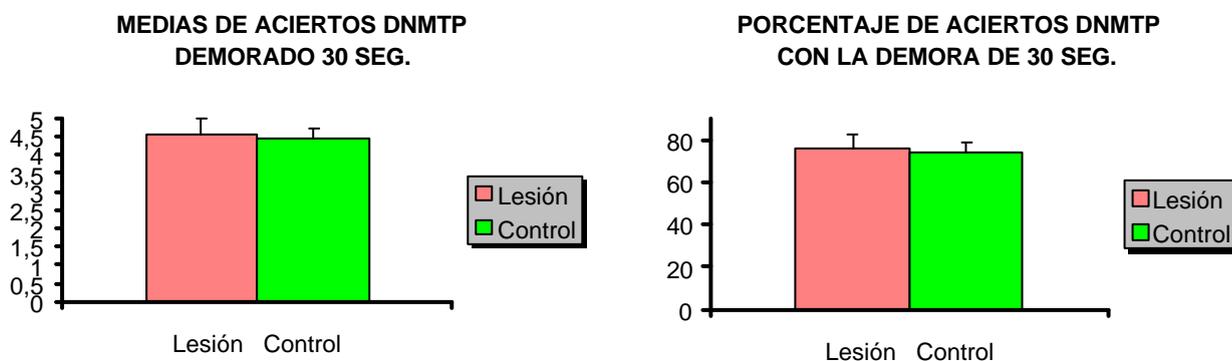
aprendido la tarea y que lo hizo en la sesión 17; en cuanto al grupo control, de las cinco ratas iniciales, una alcanzó el criterio de aprendizaje en la segunda sesión, otra en la tercera, dos más en la cuarta, y el último animal lo hizo en la sesión número 11.

**MEDIAS DE ACIERTOS EN CADA UNA DE LAS SESIONES DE APRENDIZAJE DEL DNMTMP CON LA DEMORA DE 30 SEG.**



**Fig. 48.** Gráfico de las medias de aciertos para cada grupo en cada sesión del DNMTMP con 30 seg. de demora.

La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney puso de manifiesto que no había diferencias significativas entre los grupos en relación a las variables media de respuestas correctas por sesión [U de Mann-Whitney: 4.5; Sig. exacta = 0.857] y porcentaje de respuestas correctas [U de Mann-Whitney: 4.5; Sig. exacta = 0.857] en esta tercera prueba.



**Fig. 49 y 50.** Medias (+SEM) por grupo de la media de respuestas correctas por sesión y del porcentaje de respuestas correctas del DNMTMP con la demora de 30 segundos. Los grupos no se diferenciaron en ninguna de estas variables.

A pesar de que los sujetos lesionados necesitaron más ensayos y sesiones para alcanzar el criterio de aprendizaje, no se hallaron diferencias significativas (U de Mann-Whitney) en ninguna de estas dos variables [Ensayos: U de Mann-Whitney: 3; Sig. exacta = 0.571] [Sesiones: U de Mann-Whitney: 3; Sig. exacta = 0.571] que necesitaron los dos grupos de sujetos para aprender esta tercera prueba.

**ENSAYOS Y SESIONES HASTA CRITERIO**

GRUPO EXPERIMENTAL	ENSAYOS		SESIONES	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	60	59.4	10	9.89
Control	27.6	21.88	4.6	3.64
TOTAL	36.86	34.02	6.14	5.66

**Tabla 22.** Medias y desviaciones estándar del número de ensayos y sesiones efectuados por los animales lesionados y controles hasta aprender el DNMTp con la demora de 30 segundos.

En esta prueba no se calculó ni analizó el índice A', ya que el número de animales que pasaron por ésta fue excesivamente bajo.

**5.3.4.4. Actividad locomotora durante las tareas de aprendizaje**

Para descartar un posible efecto motor debido a la lesión del PPTg que pudiera explicar los resultados encontrados en el DMTP, registramos y sometimos a análisis estadístico las siguientes variables:

- *Tiempo en completar la carrera forzada:* el tiempo en segundos que tardaba el sujeto en entrar (poner las cuatro patas) en el brazo reforzado en la carrera forzada.
- *Tiempo en completar la carrera libre:* el tiempo en segundos que tardaba el animal en llegar (poner las cuatro patas) a alguno de los dos brazos del laberinto en la carrera forzada.

El análisis de la variancia de un factor (ANOVA) no encontró diferencias significativas entre los dos grupos, ni en el tiempo que necesitaron los animales para completar la carrera forzada [F(1,18) = 1.63; p = 0.218] ni en el tiempo que tardaron éstos en finalizar la carrera libre [F(1,18) = 0.15; p = 0.702]. Por lo tanto, los resultados de la

lesión del PPTg sobre el DMTP no parecen ser atribuibles a problemas motores que puedan interferir con la ejecución de esta prueba.

**TIEMPO EN COMPLETAR LAS CARRERAS EN EL DMTP.**

GRUPO EXPERIMENTAL	TIEMPO C. FORZADA		TIEMPO C. LIBRE	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	4.62	2.91	4.71	2.63
Control	6.15	2.31	4.37	0.82
TOTAL	5.43	2.65	4.53	1.85

**Tabla 23.** Medias y desviaciones estándar del tiempo que invirtieron los sujetos de los dos grupos en la carrera forzada y la carrera libre del DMTP.

Por otra parte, en ninguno de los dos grupos se hallaron diferencias entre el tiempo requerido para completar la carrera forzada y el requerido para completar la carrera libre [Grupo:  $F(1,17) = 0.45$ ;  $p = 0.513$ ; Sesión:  $F(1,17) = 2.39$ ;  $p = 0.14$ ; Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,17) = 2.9$ ;  $p = 0.107$ ].

### 5.3.4.5. Índices de lateralidad durante las pruebas de aprendizaje

Para determinar hasta qué punto las respuestas de los sujetos en las tareas de aprendizaje estaban influenciadas por la tendencia de los mismos a responder sistemáticamente al mismo brazo, se analizaron tres variables que indican si el animal muestra un sesgo o lateralidad en su respuesta; específicamente, se analizó si los animales mostraban una tendencia a responder preferentemente a uno de los dos brazos del laberinto en la carrera libre (estas variables no se analizaron en la fase de DNMTTP demorado 30 seg. debido a que el número de sujetos del grupo lesión que pasó esta prueba fue muy bajo):

- *Índice de lateralización*: número de giros al lado izquierdo menos el número de giros al lado derecho dividido por el total de giros realizados durante la carrera libre.
- *Índice de perseverancia*: número de giros al lado más frecuente en la carrera libre dividido por el número de giros al otro lado durante esta carrera.
- *Índice RI*, derivado de la teoría de detección de señales (Hugh y cols., 1993). Este índice no paramétrico se calcula mediante la siguiente fórmula, basada en los valores H y F, descritos con anterioridad (punto 5.3.4.):

$$RI = \frac{H + F - 1}{1 - (F - H)^2}$$

Para los análisis estadísticos se tomaron los valores absolutos de dichas variables. Además, se transformó el índice de perseverancia (raíz cuadrada) para reducir la variabilidad entre-sujetos

En la primera tarea de aprendizaje la mayoría de los animales, tanto del grupo lesión como del grupo control, realizaron más giros en la carrera libre a la izquierda que a la derecha; en concreto, 6 de los 9 sujetos lesionados (el 66.66%) y 6 de los 10 controles (el 60%) presentaron una tendencia a ir al lado izquierdo. Sin embargo, en el DNMTP, 5 de las 8 ratas con la lesión en el PPTg (el 62.5%) presentaron una lateralización a la izquierda, pero 5 de 9 sujetos controles (el 66.66%) giraron más a la derecha. Por otra parte, únicamente dos ratas de control (el 22.22% de los sujetos de control que pasaron por las dos pruebas) cambiaron el sentido de la lateralización de una tarea a la otra; lateralizaron hacia la izquierda en el DMTP y a la derecha en el DNMTP.

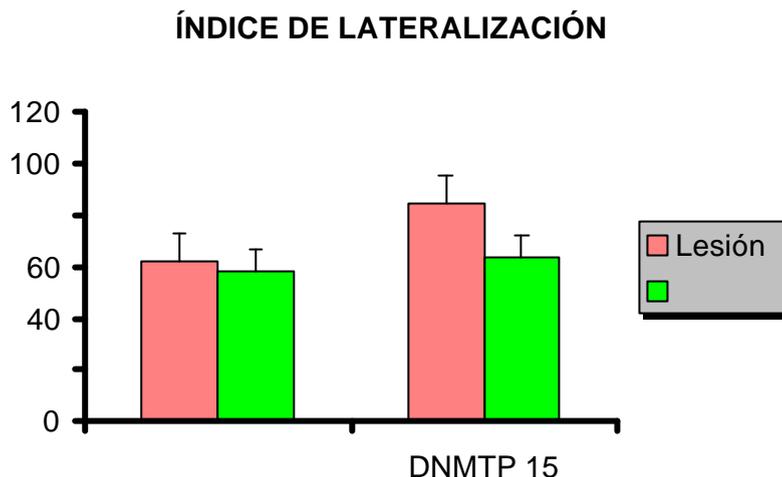
El análisis de la variancia de un factor (ANOVA) para la lateralización de todos los sujetos que pasaron por cada una de las pruebas de aprendizaje evaluadas mostró que no había diferencias entre grupos en esta variable ni en el DMTP [F(1,18) = 0.16; p = 0.693], ni en el DNMTP demorado 15 segundos [F(1,16) = 2.19; p = 0.16].

**LATERALIZACIÓN EN EL DMTP Y EN EL DNMTP 15 SEG.**

GRUPO EXPERIMENTAL	DMTP		DNMTP 15 SEG.	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	63.56	28.59	84.51	31.74
Control	58.75	23.59	63.47	26.90
TOTAL	61.03	25.45	73.37	30.33

**Tabla 24.** Medias y desviaciones estándar del índice de lateralización de todos los sujetos de los dos grupos que pasaron por el DMTP y los que pasaron por el DNMTP con 15 seg. de demora.

Los análisis estadísticos (MANOVA) realizados con los datos de los sujetos de los dos grupos que pasaron por las dos pruebas pusieron de manifiesto otra vez que la lesión no tuvo efecto sobre el índice de lateralización, ni en el global ni en ninguna de las dos pruebas [Grupo:  $F(1,15) = 0.92$ ;  $p = 0.353$ ] [Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,15) = 3.43$ ;  $p = 0.084$ ]; no obstante, se halló un aumento significativo de la lateralización para los dos grupos de animales en la segunda prueba respecto la primera [Sesión:  $F(1,15) = 8.6$ ;  $p = 0.01$ ].



**Fig. 51.** Medias (+SEM) para cada grupo del índice de lateralización en el DMTP y en el DNMTTP con 15 seg. de demora. No se observaron diferencias entre grupos, pero sí un aumento de este índice en la segunda tarea.

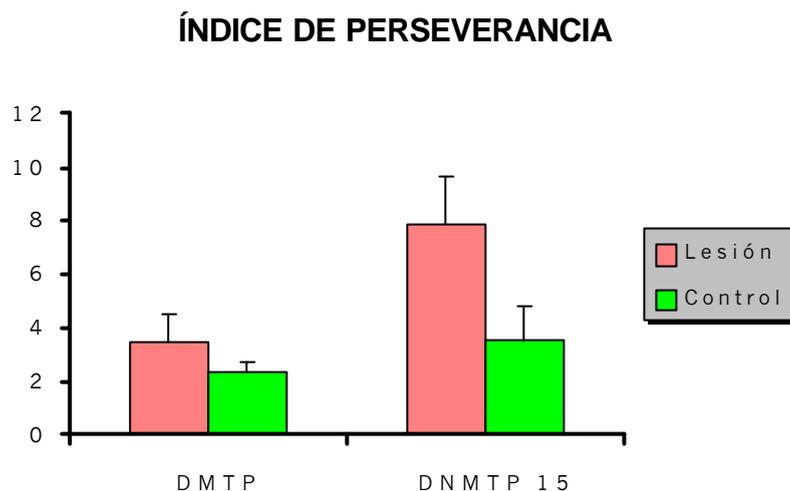
Los análisis del índice de perseverancia transformado (ANOVA) del DMTP y del DNMTTP con la demora de 15 segundos tampoco revelaron diferencias entre los grupos en la primera prueba [ $F(1,18) = 1.25$ ;  $p = 0.279$ ]; en cambio, en la segunda tarea se observó una tendencia a la significación [ $F(1,16) = 4.25$ ;  $p = 0.057$ ], que indicó que los animales lesionados perseveraban más que los controles en el DNMTTP.

**PERSEVERANCIA EN EL DMTP Y EN EL DNMTTP DEMORADO 15 SEG.**

GRUPO EXPERIMENTAL	DMTP		DNMTTP 15 SEG.	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	3.34	2.7	7.87	4.88
Control	2.31	1.03	3.53	3.76
TOTAL	2.80	2.01	5.57	4.74

**Tabla 25.** Medias y desviaciones estándar del índice de perseverancia del grupo lesión y del grupo control en el DMTP y en el DNMTTP con 15 seg. de demora.

Los análisis (MANOVA) realizados con los datos de los sujetos que pasaron por las dos pruebas mostraron que el grupo [ $F(1,15) = 3.66$ ;  $p = 0.075$ ] y la interacción entre grupo y sesión [Grupo  $\times$  Sesión:  $F(1,15) = 3.65$ ;  $p = 0.075$ ] mostraban una tendencia a la significación, siendo superiores los valores del grupo lesión. Además, el análisis longitudinal encontró diferencias entre las dos pruebas en el sentido de que se observó un aumento de la perseverancia en la segunda prueba [Sesión:  $F(1,15) = 10.98$ ;  $p = 0.005$ ].



**Fig. 52.** Medias (+SEM) de cada grupo del índice de perseverancia en el DMTP y en el DNMT 15 con 15 seg. de demora. Tampoco se observaron diferencias entre grupos, y también se constató un incremento de este índice en la segunda prueba.

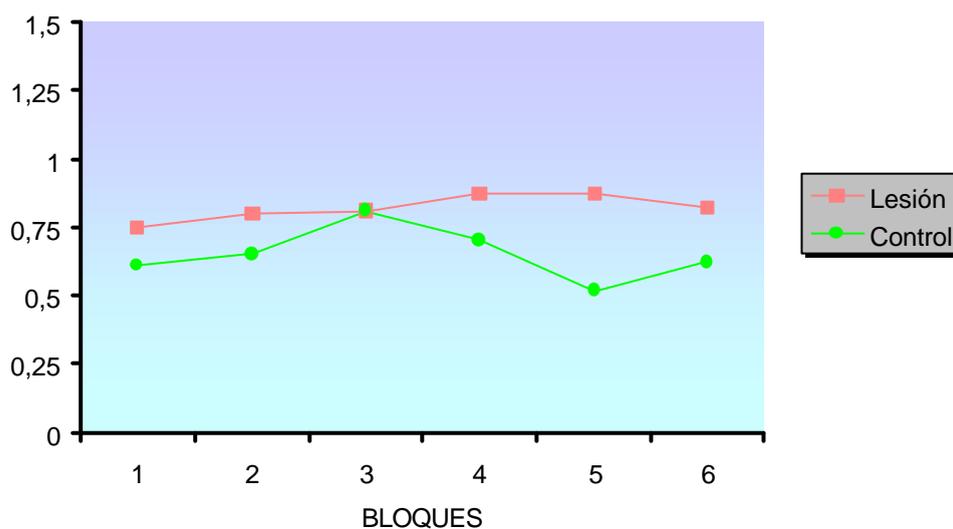
Los análisis (ANOVA) indicaron que no había diferencias entre grupos en el índice RI, ni en el DMTP [ $F(1,16) = 0.30$ ;  $p = 0.58$ ], ni en el DNMT 15 demorado 15 segundos [ $F(1,15) = 2.70$ ;  $p = 0.12$ ].

Sin embargo, cuando se analizó (ANOVAs) el índice RI para cada bloque de cinco sesiones, se halló que había diferencias significativas entre los dos grupos en los bloques cuarto [ $F(1,13) = 5.58$ ;  $p = 0.034$ ] y quinto [ $F(1,13) = 6.06$ ;  $p = 0.029$ ] del DNMT 15 demorado 15 seg., siendo en ambos casos dicho índice superior en los animales lesionados (véase la figura 53).

**ÍNDICE RI DEL DMTP Y DEL DNMTD DEMORADO 15 SEG.**

GRUPO EXPERIMENTAL	DMTP		DNMTD 15 SEG.	
	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión	0.66	0.29	0.78	0.21
Control	0.59	0.25	0.61	0.20
TOTAL	0.63	0.26	0.69	0.22

**Tabla 26.** Medias y desviaciones estándar del índice RI del grupo lesión y del grupo control en el DMTP y en el DNMTD con 15 seg. de demora.

**ÍNDICE RI POR BLOQUES DE CINCO SESIONES DEL DNMTD DEMORADO 15 SEG.**

**Fig. 53.** Medias (+SEM) para cada grupo del índice RI de cada bloque de cinco sesiones del DNMTD demorado 15 segundos. El grupo lesión presentó un sesgo significativamente superior al del grupo control en el cuarto y quinto bloque.

**Correlación entre lateralidad y aprendizaje**

Finalmente, analizamos, para las tareas de DMTP y DNMTD con demora 15 segundos, si los diferentes índices relacionados con la lateralidad diferían en los animales que alcanzaron el criterio de aprendizaje, independientemente del tratamiento. Estos análisis indicaron que no había diferencias significativas en el índice de lateralidad entre

los sujetos que alcanzaron el criterio de aprendizaje en el DMTP y los que no lo alcanzaron. En cambio, tanto el índice de perseverancia como el índice RI eran significativamente superiores en los sujetos que no alcanzaron el criterio de aprendizaje en la tarea de DNMTTP con demora 15 segundos respecto a aquéllos que sí lo alcanzaron [Perseverancia:  $F(15,1)= 9.93$ ;  $p=0.007$ ; Índice RI:  $F(15,1)= 13.59$ ;  $p=0.002$ ].

#### **5.3.4.6. Relación entre las diferentes pruebas de habituación y de aprendizaje**

Para explorar si existía alguna relación entre los resultados de los animales en las distintas pruebas de habituación y su ejecución en las tareas de laberintos, así como entre el aprendizaje y la conducta de los sujetos durante el DMTP y el DNMTTP, analizamos correlaciones entre las variables estudiadas tanto de la habituación al reforzador, como de la habituación al laberinto y de las pruebas de laberintos. Los resultados más relevantes de dichos análisis se comentarán a continuación.

En el grupo lesión, pero no en el grupo control, el número de sesiones y ensayos hasta la habituación al laberinto correlaciona positivamente con el tiempo que tardan los sujetos en consumir el total de reforzadores y con el número de defecaciones de la primera sesión de habituación al reforzador, así como con el tiempo que tardan en consumir el primer reforzador, el total de reforzadores y el número de defecaciones de la segunda sesión de esta misma tarea.

		N° sesiones hasta la habituación al laberinto	N° ensayos hasta la habituación al laberinto
1ª sesión de habituación al reforzador	Tiempo en consumir el total de reforzadores	$r = 0.934$ $p = 0.006$	$r = 0.930$ $p = 0.007$
	Número de defecaciones	$r = 0.960$ $p = 0.001$	$r = 0.957$ $p = 0.001$
2ª sesión de habituación al reforzador	Tiempo en consumir el primer reforzador	$r = 0.919$ $p = 0.003$	$r = 0.927$ $p = 0.003$
	Tiempo en consumir el total de reforzadores	$r = 0.969$ $p < 0.001$	$r = 0.974$ $p < 0.001$
	Número de defecaciones	$r = 0.960$ $p = 0.001$	$r = 0.957$ $p = 0.001$

**Tabla 27.** Correlaciones que resultaron significativas ( $r$  de Pearson) y significación ( $p$  bilateral) entre las variables dependientes de la habituación al laberinto y la habituación al reforzador para el grupo lesión.

La media de aciertos por sesión del DMTP, el porcentaje de respuestas correctas y el índice A' de esta misma tarea, correlacionan inversamente, pero sólo en el grupo lesión, con el tiempo en consumir el total de reforzadores y con el número de defecaciones de la primera sesión de habituación al reforzador, así como con todas las variables de la segunda sesión de la habituación al reforzador. Las tres variables del DMTP anteriores también correlacionaron negativamente con el número de sesiones y ensayos hasta la habituación al laberinto en el grupo lesión; y además, la media de aciertos por sesión y el porcentaje de respuestas correctas del DMTP correlacionaron negativamente con el número de sesiones para llegar a la habituación al laberinto en el grupo control.

Por otra parte, el índice de perseverancia del DNMTTP con la demora de 15 segundos correlacionó positivamente con el tiempo en consumir el primer reforzador en la segunda sesión de habituación al reforzador ( $r = 0.903$ ,  $p = 0.002$ ), pero únicamente se observó dicha relación en el grupo control y no en el grupo lesión.

		Media de aciertos por sesión en el DMTP	Porcentaje de respuestas correctas en el DMTP	Índice A' del DMTP
1ª sesión de habituación al reforzador	Tiempo en consumir el total de reforzadores	$r = -0.857$ $p = 0.029$	$r = -0.857$ $p = 0.029$	$r = -0.841$ $p = 0.036$
	Número de defecaciones	$r = -0.901$ $p = 0.006$	$r = -0.901$ $p = 0.006$	$r = -0.974$ $p < 0.001$
2ª sesión de habituación al reforzador	Tiempo en consumir el primer reforzador	$r = -0.787$ $p = 0.036$	$r = -0.787$ $p = 0.036$	$r = -0.827$ $p = 0.022$
	Tiempo en consumir el total de reforzadores	$r = -0.842$ $p = 0.017$	$r = -0.842$ $p = 0.017$	$r = -0.931$ $p = 0.002$
	Número de defecaciones	$r = -0.901$ $p = 0.006$	$r = -0.901$ $p = 0.006$	$r = -0.974$ $p < 0.001$

**Tabla 28.** Correlaciones que resultaron significativas ( $r$  de Pearson) y significación ( $p$  bilateral) entre las variables dependientes del aprendizaje del DMTP y la habituación al reforzador para el grupo lesión.

		Nº sesiones hasta la habituación al laberinto	Nº ensayos hasta la habituación al laberinto
Grupo lesión	Media de aciertos por sesión en el DMTP	$r = -0.832$ $p = 0.005$	$r = -0.848$ $p = 0.004$
	Porcentaje de respuestas correctas en el DMTP	$r = -0.832$ $p = 0.004$	$r = -0.848$ $p = 0.005$
	Índice A' del DMTP	$r = -0.728$ $p = 0.026$	$r = -0.768$ $p = 0.016$
Grupo control	Media de aciertos por sesión en el DMTP	$r = -0.664$ $p = 0.036$	
	Porcentaje de respuestas correctas en el DMTP	$r = -0.665$ $p = 0.036$	

**Tabla 29.** Correlaciones que resultaron significativas ( $r$  de Pearson) y significación ( $p$  bilateral) entre las variables dependientes de la habituación al laberinto y las del DMTP para cada grupo de sujetos.

En la prueba de DMTP se encontró una correlación positiva entre el índice de lateralización y el número de ensayos y sesiones para llegar al criterio de aprendizaje en el grupo control (no se pudieron analizar las correlaciones entre estas variables para el grupo lesión ya que ningún sujeto lesionado consiguió llegar al criterio de aprendizaje del DMTP), y entre dicho índice y el índice de perseverancia en los dos grupos de ratas. El índice de lateralidad de la segunda prueba de aprendizaje correlaciona positivamente con el número de ensayos y de sesiones necesarios para alcanzar el criterio de aprendizaje en este test de DNMTTP tanto en los animales lesionados como en los controles, y casi lo hace de manera significativa, esta vez negativamente, con el porcentaje de aciertos y con la media de respuestas correctas por sesión de esta misma tarea en el grupo lesión.

		Índice de lateralización DMTP
Grupo lesión	Índice de perseverancia en el DMTP	$r = 0.664$ $p = 0.051$
Grupo control	Número de ensayos hasta criterio DMTP	$r = 0.834$ $p = 0.003$
	Número de sesiones hasta criterio DMTP	$r = 0.834$ $p = 0.003$
	Índice de perseverancia en el DMTP	$r = 0.827$ $p = 0.003$
		Índice de lateralización DNMTTP con 15 seg. de demora
Grupo lesión	Número de ensayos hasta criterio DNMTTP demorado 15 seg.	$r = 0.994$ $p < 0.001$
	Número de sesiones hasta criterio DNMTTP demorado 15 seg.	$r = 0.994$ $p < 0.001$
	Media de respuestas correctas por sesión DNMTTP demorado 15 seg.	$r = -0.693$ $p = 0.057$
	Porcentaje de respuestas correctas DNMTTP demorado 15 seg.	$r = -0.695$ $p = 0.056$
Grupo control	Número de ensayos hasta criterio DNMTTP demorado 15 seg.	$r = 0.865$ $p = 0.003$
	Número de sesiones hasta criterio DNMTTP demorado 15 seg.	$r = 0.865$ $p = 0.003$

**Tabla 30.** Correlaciones más significativas ( $r$  de Pearson) y significación ( $p$  bilateral) entre la lateralización y las variables dependientes del aprendizaje del DMTP y del DNMTTP con la demora de 15 segundos.

Finalmente, el índice RI del DMTP correlacionó positivamente con el número de ensayos y sesiones que necesitaron los animales controles para alcanzar el criterio de aprendizaje de esta misma prueba, así como con la suma de aciertos totales que realizaron los sujetos de este grupo en el DMTP. En el caso del grupo lesión no se pudieron calcular las correlaciones entre el índice RI del DMTP con el número de ensayos y sesiones hasta el criterio de aprendizaje ya que ninguno de ellos alcanzó dicho criterio. A su vez, el índice RI del DNMTP demorado 15 seg. correlacionó positivamente con el número de ensayos y sesiones hasta el criterio de esta tarea y con la suma de aciertos totales en el DNMTP en los dos grupos de sujetos.

		Índice RI del DMTP
Grupo control	Número de ensayos hasta criterio en el DMTP	$r = 0.837$ $p = 0.005$
	Número de sesiones hasta criterio en el DMTP	$r = 0.837$ $p = 0.005$
	Suma de aciertos totales en el DMTP	$r = 0.781$ $p = 0.013$
		Índice RI del DNMTP demorado 15 segundos
Grupo lesión	Número de ensayos hasta criterio en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.999$ $p < 0.001$
	Número de sesiones hasta criterio en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.999$ $p < 0.001$
	Suma de aciertos totales en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.975$ $p < 0.001$
Grupo control	Número de ensayos hasta criterio en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.907$ $p = 0.001$
	Número de sesiones hasta criterio en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.907$ $p = 0.001$
	Suma de aciertos totales en el DNMTP demorado 15 segundos	$r = 0.857$ $p = 0.003$

**Tabla 31.** Correlaciones más significativas ( $r$  de Pearson) y significación ( $p$  bilateral) entre el índice RI y las variables de aprendizaje del DMTP y del DNMTP demorado 15 segundos.

## 5.4. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo muestran que la lesión bilateral excitotóxica pre-entrenamiento del PPTg impide la adquisición de una tarea de DMTP en laberintos en T, deteriorando también, aunque en menor medida, la adquisición de una tarea de DNMTP en el mismo tipo de laberintos. Además, la lesión aumenta la lateralización de las respuestas, es decir la tendencia a entrar sistemáticamente en el mismo brazo, aunque este efecto sólo se observó en la tarea de alternancia. En conjunto, éstos resultados apoyan la hipótesis planteada, según la cual la lesión del PPTg ejerce un efecto disruptor sobre las tareas en las que la integridad de los sistemas fronto-estriatales juega un papel importante.

El efecto disruptor hallado en la primera de las tareas utilizadas (no-alternancia o DMTP) contrasta con el hecho de que Kessler y cols. (1986) no hallaran alteraciones del aprendizaje, tras la lesión del PPTg, en una tarea similar de no-alternancia en un laberinto de tres brazos, a menos que hubiera una demora substancial entre las carreras forzada y libre. Dado que en este último trabajo los animales tenían que elegir entre tres brazos diferentes, y no sólo entre dos como en nuestro caso, podría parecer que la tarea utilizada por Kessler y cols. era más compleja que la utilizada por nosotros. Sin embargo, hemos de tener en cuenta que los tres brazos del laberinto utilizado por Kessler y sus colaboradores diferían en color, tamaño, textura y olores. En cambio, en el laberinto utilizado por nosotros los dos brazos eran idénticos y las únicas claves que permitían distinguirlos eran, por un lado, los objetos situados en la habitación (claves extra-laberinto, que requieren el uso de estrategias alocétricas para que sirvan de guía) y, por el otro, claves egocéntricas propioceptivas (giro a la derecha o a la izquierda respecto al brazo de partida invariante). Aunque no podemos saber si nuestros animales utilizaron básicamente claves alocétricas o egocéntricas, o ambas a la vez, pensamos que la existencia de diferencias evidentes en los brazos del laberinto utilizado por Kessler y su equipo, y sobre todo, el uso de estímulos olfativos, que resultan especialmente relevantes para animales como la rata, habrían facilitado la adquisición de la tarea.

En cuanto a la tarea de DNMTP, el deterioro hallado por nosotros concuerda con el efecto disruptor observado en otros laboratorios en otras tareas dependientes de sistemas fronto-estriatales que involucran o bien la regla de alternancia [tarea de “win-shift” (Keating y Winn, 2002); DNMTP en laberintos en T (Leri y Franklin, 1998), aunque en

este último caso los datos se atribuyeron a un aumento de la ansiedad], o bien memoria de trabajo (Kessler y cols., 1986; Dellu y cols., 1991; Keating y Winn, 2002).

## **¿Cómo podemos explicar los resultados obtenidos en nuestro experimento?**

### **1) Efectos secundarios: Alteraciones emocionales, motivacionales y motoras.**

En primer lugar, podríamos atribuirlos a factores emocionales. Leri y Franklin (1998) observaron deterioro de una tarea similar de DNMTp, que atribuyeron a un incremento de la ansiedad. No obstante, nuestros resultados no parecen ser interpretables en términos de alteraciones emocionales. En primer lugar, no se hallaron diferencias entre los dos grupos en el tiempo que necesitaron los animales para habituarse al reforzador y al laberinto (variables que podrían estar influidas por la ansiedad). En segundo lugar, los animales utilizados por nosotros habían sido sometidos previamente a una prueba utilizada frecuentemente para medir ansiedad, el laberinto elevado en cruz (Homs-Ormo, 2000), observándose que la lesión no aumentaba la ansiedad ni provocaba alteraciones de la motricidad espontánea. De hecho, los animales lesionados mostraban una reducción de algunas conductas de evaluación de riesgo (“risk assessment”), como las posturas de estiramiento atento (“strecht-attend postures”), el número de reentradas en brazos cerrados (“closed-arm returns”) o el número de acicalamientos. Se considera que las conductas de evaluación de riesgo correlacionan positivamente con la ansiedad (Rogers y Dalvi, 1997; Rogers y Johnson, 1995), por lo que los efectos de la lesión del PPTg parecen ser más bien levemente ansiolíticos.

En relación con otras variables también relacionadas con la emocionabilidad, se observó que tanto los sujetos lesionados como los animales de control requirieron, en general, un elevado número de sesiones para alcanzar el criterio de habituación al laberinto, hasta el punto de que algunos animales de ambos grupos tuvieron que ser eliminados del experimento por no haber alcanzado ese criterio (6 sujetos, de los cuales cuatro eran del grupo lesión). De todos modos, no hubo diferencias significativas en esta variable entre los sujetos de lesión y los controles, por lo que la dificultad para la habituación no resulta atribuible a la lesión. Resulta interesante destacar que cuantas más sesiones necesitaron los animales para adquirir el criterio de habituación al laberinto, peor era su ejecución en la tarea de DMTP. Asimismo, en los animales del grupo de lesión se

halló también una correlación negativa entre, por un lado, el tiempo requerido para consumir el total de reforzadores y el número de defecaciones en la fase de habituación al reforzador, y, por el otro, diferentes índices de aprendizaje de la tarea de DMTP. Es decir, aunque la lesión no influyó en el nivel de ansiedad de los sujetos, es probable que la reactividad emocional de los animales, tanto lesionados como controles, influyera negativamente, al menos, en la ejecución de la primera tarea de aprendizaje.

El déficit conductual observado en el presente trabajo tampoco parece atribuible a alteraciones motivacionales. Así, las ratas lesionadas, al igual que las controles, consumían siempre el reforzador, tanto en las carreras forzadas como en las carreras libres en las que emitían una respuesta correcta. Además, no se hallaron diferencias entre los dos grupos en el tiempo en consumir los reforzadores en la fase de habituación a los mismos. Estos datos (junto con el hecho de que las latencias de respuesta fueran similares en los dos grupos) indican que resulta improbable que el deterioro de la ejecución de las tareas en el laberinto en T causado por la lesión del PPTg fuese debido a un déficit motivacional.

Otra variable a descartar son las alteraciones motoras. Al contrario de lo hallado en el experimento 1, en el que los animales con lesión pre-entrenamiento del PPTg mostraban diversos signos de enlentecimiento motor durante la ejecución de la tarea de EV2, no se han encontrado diferencias significativas entre los sujetos lesionados y los controles en ninguna de las variables relacionadas con la motricidad en las tareas de DMTP y DNMTP (principalmente, la latencia de las carreras libres y forzadas). Los datos presentes, a su vez, contrastan también con los resultados de otro trabajo en el que se encontró que los sujetos lesionados mostraban una mayor velocidad de respuesta en laberintos radiales (aunque también un mayor número de respuestas incorrectas) (Keating y Winn, 2002). No están claras las razones de estas diferencias, pero, en todo caso, el conjunto de resultados de los diferentes trabajos sugiere nuevamente que los posibles efectos motores hallados en diversas tareas de aprendizaje tras la lesión del PPTg estarían relacionados probablemente con las condiciones específicas del entrenamiento y no con ninguna alteración de la motricidad espontánea. Por tanto, podemos concluir que los efectos disruptores hallados no son atribuibles a alteraciones emocionales, motivacionales ni motoras.

## 2) Alteración de los procesos cognitivos involucrados en las tareas de DMTP y DNMTP

Las dos tareas utilizadas en este experimento involucran múltiples componentes (Steckler y cols., 1998a). En primer lugar, se requiere aprender y recordar una regla y aprender también la relación entre los estímulos visuales extra-laberinto. Ambas informaciones pasan a formar parte de la memoria de referencia. Además, el animal ha de utilizar una información que varía en cada ensayo: la de la última posición visitada en la fase de muestra, información que se guarda en la memoria de trabajo. Finalmente, y al igual que en muchos otros aprendizajes, el animal ha de llevar a cabo el proceso de selección de la respuesta más apropiada en función de la configuración de estímulos presentes y de las contingencias establecidas anteriormente.

### a) *Adquisición de la regla y de la configuración de estímulos extra-laberinto*

Pues bien, la lesión del PPTg sí parece alterar la adquisición de las reglas de alternancia y no-alternancia, al menos cuando éstas involucran un componente espacial importante. Así, los animales lesionados tendrían dificultades para buscar el reforzador en el mismo lugar (regla de no-alternancia) o en un lugar diferente (regla de alternancia) que en la fase de muestra, pero no para aplicar estas mismas reglas en situaciones en las que la posición de los brazos del laberinto parece tener menos importancia. Ello podría explicar por qué la lesión no deterioró la tarea de no-alternancia utilizada por Kessler y cols. (1986), ya que para realizar correctamente esa tarea no era necesario que el animal aprendiera a ir a la misma localización que en la fase de muestra, sino que era suficiente con que aprendiera a buscar la misma configuración anterior de estímulos visuales, táctiles y olfatorios (o quizás, ni siquiera una configuración, sino sólo alguno de ellos por separado).

No podemos descartar, de todos modos, que la razón de las diferencias observadas en ambas tareas también pudiera ser atribuible al hecho de que todos los animales pasaron primero por la tarea de no-alternancia, y, posteriormente, por la de alternancia. Así, la gravedad de la disrupción de la tarea de no-alternancia hallada en los animales lesionados podría haber estado influida por el hecho de tratarse de la primera tarea espacial en el laberinto en T con la que tenían que enfrentarse. En este caso, la disrupción no sería atribuible sólo al tipo de regla requerida por cada una de las dos tareas (o a su nivel de

dificultad), sino también a la menor exposición al aparato en el que tenían lugar las pruebas.

Por otro lado, los escasos datos disponibles a partir de trabajos previos sugieren que la codificación de los estímulos visuales presentes durante el aprendizaje, que requiere la participación del hipocampo (Steckler y cols., 1998b; Wood y cols., 2000), no estaría alterada en los animales con lesión en el PPTg, ya que de lo contrario la lesión tendría que haber afectado a la adquisición de una tarea de memoria en un laberinto en cruz que forzaba el uso de claves alocéntricas visuales, y en cambio, no se halló deterioro de la misma (Dellu y cols., 1991).

Aunque las dos explicaciones anteriores (que los animales con lesión en el PPTg serían capaces de utilizar una configuración de estímulos espaciales para guiarse, pero no de aplicar una regla de alternancia o no-alternancia en situaciones espaciales) puedan parecer contradictorias, no tienen porqué serlo. Así, se ha visto que los animales con lesión de la corteza prefrontal pueden utilizar claves espaciales para guiarse, y de hecho las utilizan con preferencia respecto a las claves egocéntricas (Sánchez-Santed y cols., 1997), pero parecen tener dificultades para generar respuestas ante estímulos cuya asociación con el refuerzo varía de un ensayo a otro, así como para suprimir respuestas ante estímulos previamente asociados con la recompensa (Seamans, 1995). De manera parecida, el déficit inducido por la lesión del PPTg podría estar relacionado con la existencia de relaciones variables entre una posición determinada y el refuerzo, y no con la incapacidad para localizar esa posición.

#### b) *Memoria de trabajo*

También existen datos a favor del hecho de que la lesión del PPTg deteriora la memoria de trabajo, aunque probablemente este deterioro depende de la interacción con otros factores. Los datos disponibles parecen sugerir que la memoria de trabajo estaría alterada: 1) en condiciones que involucran el uso de reglas de alternancia o no-alternancia espaciales [fase de test de la tarea de “win-shift” (Keating y Winn, 2002)]; 2) cuando la carga mnésica es muy importante (es decir cuando se utilizan demoras muy elevadas) (por ejemplo, Kessler y cols. observaron deterioro utilizando demoras de entre 15 minutos y 2 horas); o 3) cuando el número de opciones de respuesta es elevado (por ejemplo, en laberintos de ocho brazos: Dellu y cols., 1991; Keating y Winn, 2002). En el presente

trabajo no ha resultado posible analizar el efecto del aumento de demanda de memoria de trabajo sobre la ejecución de las tareas, dado que el número de sujetos que alcanzaron el criterio de aprendizaje en la fase de DNMTp con la demora de 15 segundos fue muy bajo. Ahora bien, los pocos animales que adquirieron la tarea de DNMTp con la demora de 15 segundos (incluidos los dos sujetos lesionados que alcanzaron el criterio de aprendizaje en esta tarea) fueron también capaces de alcanzar el criterio de aprendizaje cuando la demora entre las carreras forzada y libre aumentó a 30 segundos. Es decir, el déficit hallado en este trabajo parecen ser independiente de la demora, probablemente por el hecho de involucrar un componente (reglas de alternancia y no-alternancia en situaciones espaciales) suficientemente sensible a la lesión del PPTg. Es decir, podría ser que la lesión del PPTg afectara la memoria de trabajo sólo en condiciones de alta demanda (elevada carga mnésica o número elevado de opciones de respuesta), o cuando la tarea contiene otros componentes especialmente sensibles a dicha lesión.

*c) Selección de la Respuesta*

Finalmente, los datos hallados en este trabajo sugieren que la lesión del PPTg podría alterar los mecanismos de selección de respuesta. Así, la lesión indujo un aumento del número de respuestas sesgadas o lateralizadas; es decir aumentó la tendencia de los animales a entrar sistemáticamente en uno de los brazos, en detrimento del número de entradas en el otro brazo. Este efecto sólo se observó, sin embargo, en la tarea de DNMTp, alcanzando el nivel de significación estadística en aquellas mismas sesiones de dicha tarea en las que se halló una disminución de la ejecución (en concreto, en estas sesiones el índice A' de precisión de la respuesta era inferior en los sujetos lesionados). Por otro lado, se halló también que la lateralización de las respuestas era significativamente superior en los animales que no alcanzaron el criterio de aprendizaje que en aquellos que sí lo hicieron, independientemente de la lesión. También se encontró una correlación positiva entre el nivel de lateralización y el número de ensayos y sesiones requeridos para alcanzar el criterio de aprendizaje. Estos datos pueden interpretarse de dos maneras diferentes: por un lado, es posible que la lateralización sea consecuencia de las dificultades de aprendizaje de los sujetos; es decir, los animales que tienen más dificultades para adquirir las tareas de aprendizaje acabarían optando por lateralizar sus respuestas. Esta lateralización, aunque no les permite alcanzar el criterio de aprendizaje, les garantiza la obtención del reforzador en el cincuenta por ciento de los ensayos. Por el otro, la relación entre lateralidad y

aprendizaje podría ser justamente la inversa; es decir, podría ser que algunos animales mostraran una tendencia a la lateralización y que ésta les impidiera adquirir el aprendizaje de DNMTP. Esta tendencia sería agravada por la lesión, con lo cual la disrupción de esta tarea hallada en los animales lesionados sería consecuencia del aumento de la lateralización provocada por la lesión. Sin embargo, esta última explicación no parece apropiada para dar cuenta del efecto deteriorante de la lesión sobre la tarea de DMTP, ya que en esta tarea no se hallaron diferencias significativas en las variables relacionadas con la lateralidad de respuesta entre los animales lesionados y los sujetos de control.

La exacerbación de este tipo de respuestas sesgadas se ha observado también, en tareas de DNMTP y DMTP (aunque principalmente de tipo operante), tras la lesión de diversas estructuras estriatales, como el núcleo accumbens (Reading y Dunnett, 1991) y el núcleo caudado (Dunnett, 1990; Döbrössy y cols., 1996). Además, estas mismas lesiones inducen déficits de aprendizaje que son independientes de la demora entre las fases de muestra y de test. El déficit hallado en este trabajo comparte estas características (aparente independencia de la demora y sesgo lateral), y sugiere que uno de los mecanismos que mediaría el efecto disruptor de la lesión del PPTg sobre este tipo de tareas sería la disfunción de los mecanismos de selección de respuesta. De hecho, algunos autores (Inglis y Winn, 1995; Winn y cols., 1997; Winn, 1998) han aportado datos a favor de que una de las funciones de este núcleo podría ser la de constituir un interfaz entre la información relacionada con aspectos motivacionales y los mecanismos de control motor, de tal manera que su actividad influiría en la selección de la respuesta más apropiada en función de las contingencias y el estado motivacional de los sujetos, así como en la inhibición de las respuestas inapropiadas.

### **¿Cómo ha influido la dificultad de la tarea en los resultados de nuestro experimento?**

Respecto a la influencia de la dificultad de la tarea sobre el deterioro del aprendizaje inducido por la lesión del PPTg, nuestra hipótesis era que este factor influía en dichos efectos, pero no era determinante para los mismos. Los resultados obtenidos parecen avalar esta conclusión. Así, por un lado, y en contra de lo sugerido por Deltu y cols. (1991), se halló deterioro a pesar de utilizarse tareas que sólo involucraban dos únicas opciones de respuesta. Por el otro, el deterioro fue más grave en la tarea de DMTP, que en la de DNMTP. Estas dos tareas se diferencian únicamente en el tipo de regla en la que se basan.

Las ratas muestran una tendencia innata a alternar entre diferentes localizaciones a la hora de buscar alimento, y los animales intactos tiene mayor facilidad para aprender la regla de alternancia que la de no-alternancia en laberintos en T (Flaherty, 1985). Por tanto, la conducta de alternancia parece estar más predeterminada, en las ratas, que la de buscar comida en la misma localización dos veces seguidas. Esto podría explicar el hecho de que la tarea de DMTP no sólo estuviera gravemente alterada en los animales lesionados, sino también que sólo el cincuenta por ciento de los sujetos control, una proporción realmente baja, fueran capaces de alcanzar el criterio predeterminado de aprendizaje en dicha tarea. Así, de manera parecida a como la lesión del PPTg afecta la conducta de EV2 tanto en condiciones de alta como de baja dificultad, pero el grado de deterioro es superior en el primer caso, el aumento de la dificultad de las tareas utilizadas en el presente experimento (mediante el uso de una regla poco predeterminada biológicamente) podría exacerbar el efecto deteriorante de la lesión del PPTg sobre tareas espaciales, pero no ser determinante para el mismo.

### **Conclusiones**

Los resultados obtenidos en el presente experimento no parecen debidos a alteraciones emocionales, motivacionales o motores. Tampoco parece que sean atribuibles a alteraciones en la capacidad de los animales para hacer uso de configuraciones de estímulos aloécnicos espaciales, aunque esta conclusión se basa en datos todavía escasos. En cambio, los efectos de la lesión sobre las tareas de aprendizaje examinadas en este experimento podrían estar mediados, por un lado, por la alteración de la capacidad de los animales para establecer relaciones variables entre el refuerzo y su posición en el espacio y, por el otro, por la disrupción de los mecanismos de selección de respuestas en función las contingencias entre estímulos. Además, no puede descartarse que se haya afectado también la memoria de trabajo, incluso con demoras entre las carreras forzada y libre tan pequeñas como 15 segundos, aunque los datos obtenidos no permiten alcanzar ninguna conclusión en este sentido. Finalmente, parte de los efectos hallados podrían ser atribuibles a alteraciones en los mecanismos atencionales. Tal como ya hemos explicado (Winn, 1998), todas estas variables tienen en común su relación con los mecanismos fronto-estriatales, por lo que podemos concluir que los resultados obtenidos apoyan la hipótesis planteada, según la cual la lesión del PPTg ejerce un efecto disruptor sobre las tareas en las que la integridad de los sistemas fronto-estriatales juega un papel importante.

## **6. DISCUSIÓN GENERAL**

---

## DISCUSIÓN GENERAL

A partir de la hipótesis según la cual el PPTg, a través de sus amplias conexiones con los sistemas córtico-estriatales, sería una estructura clave para la adquisición de aprendizajes dependientes de esos sistemas, esta tesis ha abordado una serie de cuestiones, todas ellas novedosas. En primer lugar, ha examinado directamente los efectos de la lesión del PPTg sobre la EV2 en función del nivel de demanda de la tarea. En segundo lugar, se ha estudiado si la lesión del PPTg practicada inmediatamente después del entrenamiento (y no con demora) alteraba la retención de ese mismo condicionamiento. Finalmente, ha examinado los efectos de la lesión del PPTg sobre dos tareas (alternancia y no-alternancia) de tipo espacial. Asimismo, hipotetizamos que la influencia del PPTg sobre la actividad electrofisiológica cortical modularía la adquisición y retención de una amplia variedad de tareas, especialmente en condiciones de elevada demanda.

Los principales resultados obtenidos indican que: 1) la lesión electrolítica bilateral pre-entrenamiento del PPTg provoca una grave disrupción del condicionamiento de EV2; 2) la dificultad de la tarea influye en el deterioro inducido por la lesión del PPTg sobre este condicionamiento, pero no es determinante para el mismo, ya que se halló deterioro tanto en la condición de baja dificultad (uso de un EC de 10 segundos de duración), como en la condición de alta dificultad (uso de un EC de 3 segundos de duración); 3) la lesión electrolítica del PPTg practicada inmediatamente después de una sesión de entrenamiento masivo en este mismo condicionamiento, no afecta a su RLP; y 4) la lesión excitotóxica de este mismo núcleo deteriora tareas de no-alternancia y alternancia demoradas (DMTP y DNMTP), aunque el grado de deterioro es superior en el primer caso. Dado que la regla de no-alternancia (o emparejamiento) de tipo espacial parece estar menos preparada biológicamente en las ratas que la de alternancia (Flaherty, 1985), este último resultado sugiere nuevamente que los factores que influyen en la dificultad de las tareas de aprendizaje aumentan los déficits inducidos por la lesión del PPTg, pero no son determinantes para los mismos.

Los datos del experimento II, según los cuales la lesión del PPTg practicada inmediatamente después del entrenamiento no afecta a la RLP del condicionamiento de EV2, indican, contrariamente a lo que esperábamos, que la integridad del PPTg no es indispensable para la consolidación de este condicionamiento. No obstante, estos datos no

descartan necesariamente que la activación de este núcleo (por ejemplo, mediante estimulación eléctrica o química) pudiera revertir los déficits de memoria inducidos por el envejecimiento o por la lesión de otras regiones cerebrales. También resulta plausible considerar que la lesión post-entrenamiento de este núcleo pudiera alterar la retención de la EV2 cuando se aumenta la demanda atencional durante la prueba de retención. Datos preliminares de una tesis doctoral en curso de nuestro mismo laboratorio apoyan esta última posibilidad.

En comparación con la falta de efectos de la lesión del PPTg sobre la RLP de la EV2, se ha visto que diversas tareas espaciales se deterioran tanto tras la lesión pre-entrenamiento como post-entrenamiento de este núcleo (Keating y Winn, 2002). Se desconoce cuál es el motivo de estas diferencias, aunque una posible explicación sería que el PPTg podría no ser indispensable para retener aprendizajes procedimentales adquiridos antes de la lesión, pero sí para la memoria de aprendizajes espaciales, de tipo declarativo, que ponen en juego funciones ejecutivas, como la memoria de trabajo, la inhibición de respuestas inapropiadas, la planificación de secuencias de acciones o la capacidad para cambiar el foco de atención de unos estímulos a otros.

Nuestro trabajo ha puesto de manifiesto efectos disruptores de la lesión sobre tareas que presentan indudables diferencias entre sí. Así, la EV2 es un aprendizaje de tipo procedimental, mientras que las tareas de DMTP y DNMTP espaciales son aprendizajes de tipo relacional o declarativo. La primera se basa en el reforzamiento negativo y las segundas, tal como se han llevado a cabo en este trabajo, en el refuerzo positivo. También existen diferencias en el substrato neural que las sustenta. Mientras que la EV2 parece ser especialmente dependiente de la integridad del estriado dorsal y del complejo amigdalóide, los aprendizajes de alternancia y no-alternancia en laberintos son dependientes de la integridad no sólo del hipocampo (como tareas de tipo declarativo que son), sino también de diversas regiones de la corteza prefrontal y, quizás en menor medida, del estriado ventral.

Ahora bien, ¿qué es lo que hace que los dos tipos de tareas sean sensibles a la destrucción del PPTg? Como indicamos en el planteamiento de esta tesis, nuestro interés por este núcleo surgió, principalmente, por la importante influencia que ejerce en la activación cortical (a través del tálamo y del núcleo basal magnocelular) y en el funcionamiento de los sistemas córtico-estriatales. El PPTg forma parte del sistema

colinérgico de “arousal” e interacciona de manera muy directa con otros núcleos que conforman la parte central de los denominados “sistemas moduladores difusos” del tronco encefálico (sistema noradrenérgico del locus coeruleus, sistema serotoninérgico de los núcleos del rafe y sistemas dopaminérgicos negroestriado y mesolímbico-mesocortical). El PPTg, pues, participa en el conjunto de mecanismos que ponen a punto a las estructuras prosencefálicas para que éstas puedan mantener el nivel apropiado de actividad en función de las demandas externas. En nuestra opinión, estos mecanismos serían de especial relevancia a medida que aumentara la dificultad de la tarea o los requerimientos atencionales de la misma, independientemente de la naturaleza de los aprendizajes.

Por otro lado, las múltiples interrelaciones entre el PPTg y los sistemas córtico-estriatales sugieren que este núcleo ha de participar de manera específica en aquéllos aprendizajes especialmente dependientes de dichos sistemas. Por tanto, la influencia del PPTg en el aprendizaje y la memoria sería doble: 1) una influencia genérica mediada por la activación cortical y los procesos atencionales, susceptible de influir en una gran variedad de aprendizajes, especialmente en condiciones de elevada demanda; y 2) una influencia específica en aquellos mecanismos cognitivos especialmente dependientes de los sistemas estriatales, ejerciendo en este caso la dificultad de la tarea una influencia menor. Sin embargo, no deberíamos olvidar que ambos sistemas están, de hecho, interrelacionados. Así, el PPTg influye en la activación cortical a través, entre otros mecanismos, de la modulación de la actividad de los núcleos talámicos inespecíficos (intralaminares, por ejemplo) (Steriade y cols., 1990). Estos últimos, a su vez, forman parte también de los bucles córtico-estriatales (Alexander y cols., 1986). Diferentes regiones del estriado dorsal están relacionadas con una serie de bucles paralelos que los conectan con el globo pálido, el tálamo y la corteza frontal. El estriado ventral y la región medial del caudado-putamen proyectan, mediante vías pálido-talámicas y pálido-negro-talámicas, a los núcleos talámicos dorsomedial, ventromedial e intralaminares. Dichos núcleos, a su vez, inervan las áreas de la corteza prefrontal donde se origina la parte córtico-estriatal de cada uno de estos bucles (Alexander y cols., 1986). El PPTg modula tanto la actividad de los núcleos talámicos (especialmente, en este contexto, los intralaminares), como la del estriado dorsal y ventral, por lo que su influencia en los bucles córtico-estriatales es doble: vía talámica y vía los propios componentes del estriado.

Hemos interpretado los déficits del condicionamiento de EV2 inducidos por la lesión del PPTg principalmente como una consecuencia de la disrupción del funcionamiento del estriado dorsal y la amígdala, regiones cerebrales influidas por el PPTg. Esta disrupción, a su vez, podría haber incapacitado a los animales para establecer las contingencias entre el EI y el EC, o entre la respuesta motora y la desaparición del EI aversivo. Asimismo, la lesión podría haber alterado los mecanismos de selección de respuesta mediados por el estriado ventral. Además, la alteración de los mecanismos de activación cortical y atención se haría especialmente evidente en condiciones de alta demanda o dificultad, agravando el deterioro de dicha conducta.

A su vez, hipotetizamos que la alteración de las tareas de alternancia y no-alternancia estarían mediadas, principalmente, por la disrupción de los circuitos fronto-estriatales, y que la lesión podría haber alterado procesos como el establecimiento de relaciones cambiantes entre el refuerzo y su posición en el espacio, los mecanismos de selección de respuesta, la memoria de trabajo y los procesos atencionales. Para verificar si nuestras suposiciones en relación a la mediación de los sistemas córtico-estriatales en los efectos disruptores observados tanto en la evitación activa como en las tareas de no-alternancia y alternancia son correctas, sería necesario realizar otros tipos de experimentos. En este sentido, datos todavía no publicados sugieren que uno de los componentes del estriado ventral, el núcleo accumbens, media el efecto disruptor de la lesión del PPTg sobre el reforzamiento condicionado. Estos mismos resultados podrían ser aplicables a otras tareas de aprendizaje.

Por el momento no resulta posible explicar qué aspectos de los déficits observados son resultado de la muerte de neuronas colinérgicas y cuáles no, ya que, al contrario de lo que ocurre en el prosencéfalo basal, no se ha hallado todavía ninguna toxina selectiva para las células colinérgicas del tronco encefálico, que no contienen el receptor p75 del factor de crecimiento nervioso, diana de la acción tóxica de la IgG-saporina sobre las neuronas colinérgicas prosencefálicas (Knusel y Hefti, 1988). Sin embargo, algunos estudios sugieren que las neuronas colinérgicas de la “pars compacta” (localizada en la región postero-lateral del núcleo) estarían especialmente relacionadas con procesos atencionales, ya que la lesión restringida de dicha región deteriora la atención (Inglis y cols., 2001), mientras que su estimulación eléctrica activa a las neuronas del núcleo basal magnocelular y aumenta la liberación de acetilcolina en la corteza cerebral (Rassmusson y cols., 1994).

Suponiendo que esta conclusión fuera correcta, sería de esperar que la participación de esta región caudo-lateral del núcleo jugara un papel especialmente importante en condiciones de elevada demanda atencional o de elevada dificultad de la tarea.

En todo caso, estamos de acuerdo con la visión de diversos autores (Inglis y Winn, 1995; Reese y cols., 1995; Winn y cols., 1997) según la cual las partes colinérgica y no colinérgica, compacta y dispersa, del PPTg deben considerarse una unidad funcional, de la misma manera que lo son las partes compacta y reticulata de la sustancia negra, y que su influencia en procesos cognitivos es el producto de dicha interacción. Asimismo, cabe tener presente que el PPTg es un núcleo filogenéticamente antiguo y que, como ocurre típicamente con las áreas de la formación reticular, mantiene conexiones difusas con amplias regiones encefálicas. Ello sugiere una influencia compleja de dicho núcleo sobre procesos tanto cognitivos como no cognitivos.

En conclusión, los resultados del presente trabajo son consistentes con la hipótesis general de que, a través de sus extensas interrelaciones con los diversos componentes del estriado dorsal y ventral, el PPTg constituye una estructura importante para la adquisición de aprendizajes dependientes de los sistemas córtico-estriales. Los datos obtenidos son también consistentes con la hipótesis de que, mediante su influencia sobre el nivel de activación cortical, el PPTg puede ejercer efectos moduladores sobre la adquisición de una gran variedad de tareas, especialmente en condiciones de elevada demanda. Nuestros datos, en cambio, no corroboran el planteamiento inicial según el cual la participación del PPTg sería necesaria para las primeras fases del proceso de consolidación del condicionamiento de EV2, aunque tampoco resultan incompatibles con la hipótesis de que este núcleo podría ejercer efectos moduladores sobre dicho proceso.

## **7. RESUMEN Y CONCLUSIONES**

---

## 7.1. RESUMEN

El conocimiento de los diversos mecanismos encefálicos que modulan el procesamiento de información y que permiten optimizar los procesos de aprendizaje y memoria puede contribuir a hallar tratamientos de diversa naturaleza capaces de revertir las deficiencias de aprendizaje y memoria en sujetos que, por lesión cerebral u otro tipo de alteraciones neurales, tengan dificultades para uno o varios tipos de aprendizajes y/o de procesos mnésicos.

Uno de estos mecanismos moduladores estaría constituido por todo aquel conjunto de procesos y sistemas neurales que regulan el nivel de activación o “arousal” cortical, incluido el sistema colinérgico. Uno de los componentes de este sistema es el núcleo pedunculopontico tegmental (PPTg), que contiene la mayoría de las neuronas del grupo CH5 (Mesulam y cols., 1983), así como células no colinérgicas interdigitadas con aquéllas.

Las conexiones anatómicas que establece el PPTg con otras estructuras neurales, así como la actividad electrofisiológica de sus células, sugieren una importante influencia del mismo en el procesamiento de la información y en los procesos de aprendizaje y memoria. En concreto, el PPTg:

- 1) Forma parte del sistema reticular activador ascendente y ejerce una importante influencia sobre la actividad electrofisiológica de las neuronas tálamo-corticales.
- 2) Regula diversos aspectos de la generación del sueño paradójico o sueño REM, a través de sus conexiones con la formación reticular pontina.
- 3) Envía proyecciones al núcleo basal magnocelular, proyecciones que también podrían influir en el nivel de activación cortical.
- 4) Establece amplias conexiones con todas las estructuras del estriado dorsal, incluida la regulación de la actividad de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra, así como con todas las estructuras del estriado ventral, incluido el núcleo accumbens. A través de estas conexiones, parece influir en los mecanismos de selección de respuestas en función de las contingencias ambientales y del estado motivacional, en el procesamiento de estímulos reforzantes, y en una serie de aprendizajes dependientes de sistemas córtico-estriatales.

Asimismo, diversos trabajos conductuales (que han utilizado principalmente técnicas de lesión) han puesto de manifiesto la participación del PPTg en diversas tareas de aprendizaje, aunque los datos disponibles en este sentido son todavía escasos y en algunos casos confusos.

Tanto los datos de trabajos conductuales, como las conexiones anatómicas del PPTg y la electrofisiología de sus neuronas sugieren la **hipótesis general** de que el PPTg afecta al aprendizaje y la memoria principalmente a través de dos mecanismos. Por un lado, debido a sus extensas interrelaciones con los diversos componentes del estriado dorsal y ventral, el PPTg constituiría una estructura clave para la adquisición de aprendizajes tanto procedimentales como declarativos dependientes de los sistemas córtico-estriatales. Por el otro, el PPTg ejercería efectos moduladores sobre una amplia diversidad de tareas a través de su papel en el control de la actividad cortical. Su influencia en el aprendizaje sería mayor a medida que aumentara la dificultad de la tarea.

Ahora bien, todavía quedan muchas cuestiones por resolver en relación al papel que juega el PPTg en procesos cognitivos. Por ejemplo, la hipótesis de que la integridad del PPTg se vuelve progresivamente más necesaria a medida que aumenta la dificultad de la tarea no ha sido todavía testada experimentalmente de manera específica. Otra de esas cuestiones es determinar cual es la influencia del PPTg en la consolidación de la memoria para tareas procedimentales motivadas aversivamente, como la evitación activa de dos sentidos (EV2). Así, aunque los datos indican que este núcleo es necesario para la adquisición de esta tarea, también sugieren que no sería esencial para la retención de la misma. Sin embargo, esta conclusión se basa en datos de trabajos en los que la lesión del PPTg se practicaba con una demora de al menos 24 horas respecto a la adquisición, es decir cuando las primeras fases de consolidación de la memoria ya habían tenido lugar. Se desconoce, por tanto, si la integridad del PPTg es necesaria para los primeros estadios del proceso de consolidación de la memoria para este tipo de aprendizajes. Un tercer aspecto todavía no resuelto es si el efecto de la lesión del PPTg sobre tareas espaciales depende principalmente del nivel de demanda de las tareas, y en especial del número de opciones de respuesta disponibles, del tipo de aprendizaje utilizado (y, específicamente, de si se trata de aprendizajes dependientes de sistemas fronto-estriatales o no), o de una interacción entre ambos factores.

Teniendo en cuenta la hipótesis general expuesta y las cuestiones sugeridas por algunos de los trabajos previos, nos planteamos la realización de un trabajo cuyos objetivos experimentales eran los siguientes:

- 1) Determinar si el grado de deterioro inducido por las lesiones bilaterales del PPTg sobre la conducta de EV2 depende de la demanda o nivel de dificultad de las condiciones de entrenamiento.
- 2) Determinar si las lesiones bilaterales del PPTg inmediatamente post-entrenamiento tienen algún efecto sobre la retención a largo plazo (RLP) de un condicionamiento de EV2 adquirido con anterioridad a la lesión.
- 3) Examinar el efecto de las lesiones excitotóxicas bilaterales del PPTg sobre la adquisición de tareas de alternancia y no-alternancia demoradas (“delayed non-matching to position” y “delayed matching to position”) en laberintos en T, tareas espaciales que son sensibles a la lesión de los sistemas fronto-estriatales, pero que sólo comportan la elección entre dos opciones de respuesta.

Para lograr estos objetivos, llevamos a cabo un trabajo compuesto por tres experimentos. En el experimento I se estudió el efecto de la lesión bilateral pre-entrenamiento del PPTg sobre la adquisición del condicionamiento de EV2 en función del nivel de demanda de la tarea. Concretamente, los animales fueron sometidos a una lesión electrolítica bilateral pre-entrenamiento o a una intervención de control y, una vez recuperados, fueron entrenados en una tarea de EV2 (una única sesión de 30 ensayos), bajo una de las dos condiciones siguientes: alta demanda (estímulo condicionado de 3 segundos de duración) o baja demanda (estímulo condicionado de 10 segundos de duración). Al cabo de 10 días, se llevó a cabo una sesión para determinar la RLP del condicionamiento. Los principales resultados de este experimento fueron que: 1) la lesión electrolítica del PPTg (al igual que lo hallado con lesiones excitotóxicas en trabajos de otros laboratorios) impide la adquisición de la EV2; 2) el aumento de la demanda de la tarea (mediante la reducción de la duración del EC) tiene también efectos deteriorantes sobre la adquisición del condicionamiento; 3) los efectos deteriorantes de la lesión y del aumento de la demanda de la tarea son sinérgicos, pero independientes; 4) la lesión induce también una disminución de la actividad motora durante el entrenamiento y un aumento de las latencias de escape. Sin embargo, puede descartarse que la lesión induzca alteraciones motoras generalizadas, y

se sugiere que el enlentecimiento motor observado, comparable al descrito tras diversas alteraciones del funcionamiento del estriado dorsal, sería atribuible a la disrupción del flujo de salida estriatal causado por la lesión.

En el experimento II, se examinaron los efectos de la lesión electrolítica bilateral del PPTg, practicada inmediatamente después de la adquisición de una tarea de EV2, sobre la retención de este condicionamiento. Así, los animales fueron entrenados en la tarea de EV2, en condiciones de alta demanda (EC de 3 segundos), e inmediatamente después fueron sometidos a una intervención quirúrgica para practicar una lesión electrolítica bilateral del PPTg o los correspondientes procedimientos de control. La RLP se valoraba diez días después de la intervención quirúrgica. Los resultados mostraron que la lesión de este núcleo no afecta a la RLP de la tarea, ni siquiera cuando esta lesión tiene lugar inmediatamente después del entrenamiento.

Finalmente en el experimento III, se estudió el efecto de la lesión excitotóxica bilateral pre-entrenamiento del PPTg sobre las tareas de no-alternancia (“delayed matching to position” o DMTP) y alternancia (“delayed non-matching to position” o DNMTP) demoradas en laberintos en T, dos tareas que comportan la elección entre dos únicas opciones de respuesta, pero que son sensibles a la alteración de los circuitos fronto-estriatales. En este trabajo, los animales fueron intervenidos quirúrgicamente para practicar una lesión bilateral del PPTg mediante la infusión de ácido iboténico o para aplicar el correspondiente tratamiento de control (infusión de vehículo). Una vez recuperados, fueron habituados al laberinto en T y, posteriormente se iniciaron las sesiones de aprendizaje, que constaban de las siguientes fases: 1) adquisición de la tarea de no-alternancia (DMTP), con una demora de 15 segundos entre las carreras forzada y libre; 2) adquisición de la tarea de alternancia (DNMTP), también con una demora de 15 segundos entre las carreras forzada y libre; y 3) los animales que alcanzaron el criterio de la tarea de DNMTP con la demora de 15 segundos fueron entrenados también en esta misma tarea, pero con una demora de 30 segundos entre las carreras forzada y libre. En las tres fases, los animales eran sometidos a sesiones diarias de 6 ensayos cada una hasta que alcanzaban un criterio predeterminado de aprendizaje o hasta un máximo de 30 sesiones. Los principales resultados de este experimento fueron que la lesión del PPTg: 1) induce un claro deterioro de la tarea de DMTP (ninguno de los animales lesionados alcanzó el criterio predeterminado de aprendizaje) y un deterioro más moderado de la tarea de DNMTP (en concreto, los

animales lesionados mostraban una menor precisión de la respuesta, medida mediante el índice A', basado en la teoría de detección de señales, en diversas sesiones del entrenamiento); 2) asimismo, la lesión inducía un aumento de variables relacionadas con la lateralidad (tendencia de los animales a ir sistemáticamente a uno de los brazos del laberinto), aumento que era significativo sólo en la tarea de DNMTP; 3) dado que el número de animales lesionados que alcanzaron el criterio de aprendizaje en la tarea de DNMTP con la demora de 15 segundos (y que, por tanto, fueron sometidos también a entrenamiento con la demora de 30 segundos) fue muy escaso, no resultó posible determinar la influencia del aumento de la demora sobre el efecto de la lesión del PPTg en este tipo de aprendizaje.

## 7.2. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se derivan de los resultados obtenidos en el presente trabajo son las siguientes:

1. La integridad del PPTg es necesaria para la adquisición de la tarea de EV2, tanto en condiciones de alta como de baja demanda.
2. Las variaciones en el nivel de demanda de la tarea influyen en el efecto deteriorante de la lesión del PPTg sobre la adquisición de la EV2, pero no son un determinante crítico para el mismo.
3. La participación del PPTg no es necesaria para la RLP de la EV2 ni siquiera en los primeros estadios del proceso de consolidación. Sin embargo, no puede descartarse que el PPTg ejerza efectos moduladores sobre la retención de esta tarea en determinadas condiciones.
4. El PPTg participa en la adquisición de tareas espaciales dependientes de sistemas fronto-estriatales, incluso en condiciones de baja demanda (únicamente dos opciones de respuesta y uso de una regla biológicamente preparada).
5. Las causas más plausibles del efecto disruptor de tareas apetitivas de tipo espacial causado por la lesión son la dificultad para establecer relaciones variables entre el refuerzo y su posición en el espacio, y la alteración de los mecanismos de selección de respuestas en función de las contingencias y el estado motivacional. Además, la lesión podría haber afectado también a la memoria de trabajo y a procesos atencionales.

En conjunto, los datos obtenidos apoyan la hipótesis de que el PPTg influye en el aprendizaje a través de al menos dos vías diferentes, aunque probablemente interrelacionadas: 1) una influencia genérica y de carácter modulador, mediada por las conexiones de este núcleo con el tálamo, y que jugaría un papel especialmente relevante en condiciones de elevada demanda; y 2) una influencia más específica sobre tareas dependientes de sistemas córtico-estriatales.

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainge, J.A., Walker, S.C., Alderson, H.L., Latimer, M.P. y Winn, P. (2000). The effects of excitotoxic lesions of the cuneiform nucleus and the pedunculopontine tegmental area on performance in the elevated plus-maze. *30<sup>th</sup> Annual Meeting, Society for Neuroscience Abstracts*, **26(1)**: 482.
- Alderson, H.L., Brown, V.J., Latimer, M.P., Brasted, P.J., Robertson, A.H. y Winn, P. (2002). The effects of excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus on performance of a progressive ratio schedule of reinforcement. *Neuroscience*, **112(2)**: 417-425.
- Alderson, H.L., Jenkins, T.A., Kozak, R., Latimer, M.P. y Winn, P. (2001). The effects of excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus on conditioned place preference to 4%, 12% and 20% sucrose solutions. *Brain Research Bulletin*, **56(6)**: 599-605.
- Alderson, H.L., Walker, S.C., MacKinlay, L.A., Latimer, M.P. y Winn, P. (2000). An examination of the involvement of the pedunculopontine tegmental area in anxiety-related behaviours in rats. *European Journal of Neuroscience*, **12 (suppl.11)**: 88.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R. y Strick, P.L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking the basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience*, **9**: 357-381.
- Allen, L.F., Inglis, W.L. y Winn, P. (1996). Is the cuneiform nucleus a critical component of the mesencephalic locomotor region? An examination of the effects of excitotoxic lesions of the cuneiform nucleus on spontaneous and nucleus accumbens induced locomotion. *Brain Research Bulletin*, **41(4)**: 201-210.
- Allen, L.F. y Winn, P. (1995). Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus disinhibit orofacial behaviours stimulated by microinjections of *d*-amphetamine into rat ventrolateral caudate-putamen. *Experimental Brain Research*, **104**: 262-274.
- Amalric, M. y Koob, G.F. (1987). Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *Journal of Neuroscience*, **7**: 2129-2134.
- Amorapanth, P., LeDoux, J.E. y Nader, K. (2000). Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by fear-arousing stimulus. *Nature Neuroscience*, **3**: 74-79.
- Archer, T. (1982). DSP4 (*N*-2-chloroethyl-*N*-ethyl-2-bromobenzylamine), a new noradrenaline neurotoxin, and stimulus conditions affecting acquisition of two-way active avoidance. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **96(3)**: 476-490.

- Archer, T., Sven-Ove, Ö y Johansson, G. (1984). Stimulus conditions affecting rate of acquisition in a computer-operated version of the two-way active avoidance procedure. *Scandinavian Journal of Psychology*, **25(1)**: 89-95.
- Arendt, T., Brückner, M.K., Bigl, V. y Marcova, L. (1995). Dendritic reorganisation in the basal forebrain under degenerative conditions and its defects in Alzheimer's disease. III. The basal forebrain compared with other subcortical areas. *The Journal of Comparative Neurology*, **351**: 223-246.
- Aziz, T.Z., Davies, L., Stein, J. y France, S. (1998). The role of descending basal ganglia connections to the brain stem in parkinsonian akinesia. *British Journal of Neurosurgery*, **12**: 245-249.
- Aziz, T.Z., Peggs, D., Sambrook, M.A. y Crossman, A.R. (1991). Lesion of the subthalamic nucleus for the alleviation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism in the primate. *Movement Disorders*, **6**: 288-292.
- Baghdoyan, H.A., Rodrigo-Angulo, M.L., McCarley, R.W. y Hobson, J.A. (1987). A neuroanatomical gradient in the pontine tegmentum for the cholinceptive induction of desynchronized sleep signs. *Brain Research*, **414**: 245-261.
- Baghdoyan, H.A., Spotts, J.L. y Snyder, S.G. (1993). Simultaneous pontine and basal forebrain microinjections of carbachol suppress REM sleep. *The Journal of Neuroscience*, **13(1)**: 229-242.
- Baldissera, F., Di Loreto, D., Florio, T. y Scarnati, E. (1994). Short-latency excitation of hindlimb motoneurons induced by electrical stimulation of the pontomesencephalic tegmentum in the rat. *Neuroscience Letters*, **169**: 13-16.
- Baunez, C., Nieoullon, A. y Amalric, M. (1995). Dopamine and complex sensorimotor integration: Further studies in a conditioned motor task in the rat. *Neuroscience*, **65**: 375-384.
- Bechara, A., Martin, G.M., Pridgar, A. y van der Kooy, D. (1993). The parabrachial nucleus: A brainstem substrate critical for mediating the aversive motivational effects of morphine. *Behavioral Neuroscience*, **107**: 147-160.
- Bechara, A., Nader, K. y van der Kooy, D. (1995). Neurobiology of withdrawal motivation: evidence for two separate aversive effects produced in morphine-naive versus morphine-dependent rats by both naloxone and spontaneous withdrawal. *Behavioral Neuroscience*, **109(1)**: 91-105.
- Bechara, A., Nader, K. y van der Kooy, D. (1998). A two-separate-motivational-systems hypothesis of opioid addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **59(1)**: 1-17.
- Bechara, A. y van der Kooy, D. (1989). The tegmental pedunculo-pontine nucleus: a brainstem output of the limbic system critical for the conditioned place preferences produced by morphine and amphetamine. *The Journal of Neuroscience*, **9**: 3400-3409.

- Bechara, A. y van der Kooy, D. (1992a). A single brain stem substrate mediates the motivational effects of both opiates and food in nondeprived rats but not in deprived rats. *Behavioral Neuroscience*, **106**(2): 351-363.
- Bechara, A. y van der Kooy, D. (1992b). Chronic exposure to morphine does not alter the neural tissues subserving its acute rewarding properties: apparent tolerance is overshadowing. *Behavioral Neuroscience*, **106**: 364-373.
- Bechara, A. y van der Kooy, D. (1992c). Lesions of the tegmental pedunculo-pontine nucleus: effects on the locomotor activity induced by morphine and amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **42**: 9-18.
- Becker, J.T., Walker, J.A. y Olton, D.S. (1980). Neuroanatomical bases of spatial memory. *Brain Research*, **200**: 307-321.
- Beninato, M. y Spencer, R.F. (1987). A cholinergic projection to the rat substantia nigra from the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Brain Research*, **412**: 169-174.
- Blaha, C.D., Allen, L.F., Das, S., Inglis, W.L., Latimer, M.P., Vincent, S.R. y Winn, P. (1996). Modulation of dopamine efflux in the nucleus accumbens after cholinergic stimulation of the ventral tegmental area in intact, pedunculo-pontine tegmental nucleus-lesioned, and laterodorsal tegmental nucleus-lesioned rats. *The Journal of Neuroscience*, **16**(2): 714-722.
- Blaha, C.D. y Winn, P. (1993). Modulation of dopamine efflux in the striatum following cholinergic stimulation of the substantia nigra in intact and pedunculo-pontine tegmental nucleus-lesioned rats. *The Journal of Neuroscience*, **13**(3): 1035-1044.
- Bloch, V. (1976). Brain activation and memory. En: M.R. Rosenzweig y E.L. Bennett (Eds). *Neural Mechanisms of Learning and Memory*. Boston: The MIT Press.
- Boop, F.A., García-Rill, E., Dykman, R. y Skinner, R.D. (1994). The P1: Insights into attention and arousal. *Pediatric Neurosurgery*, **20**: 57-62.
- Bringmann, A. (1995a). Different functions of rat's pedunculo-pontine tegmental nucleus are reflected in cortical EEG. *NeuroReport*, **6**: 2065-2068.
- Bringmann, A. (1995b). The pontomesencephalic tegmentum delays the peak latency of the visual evoked potential in rats. *Neuroscience Letters*, **202**: 13-16.
- Brito, G.N.O. y Brito, L.S.O. (1990). Septohippocampal system and the prelimbic sector of frontal cortex: a neurophysiological battery analysis in the rat. *Behavioural Brain Research*, **36**: 127-146.
- Brito, G.N.O., Thomas, G.J. y Davis, B.J. (1982). Prelimbic cortex, mediodorsal thalamus, septum and delayed alternation in rats. *Expl. Brain Research*, **46**: 52-58.
- Brudzynski, S.M., Houghton, P.E., Brownlee, R.D. y Mogenson, G.J. (1986). Involvement of neuronal cell bodies of the mesencephalic locomotor region in the initiation of locomotor activity of freely behaving rats. *Brain Research Bulletin*, **16**: 377-381.

- Brudzynski, S.M., Kadishevitz, L. y Fu, X-W. (1998). Mesolimbic component of the ascending cholinergic pathways: electrophysiological-pharmacological study. *Journal of Neurophysiology*, **79**: 1675-1686.
- Brudzynski, S.M. y Mogenson, G.J. (1985). Association of the mesencephalic locomotor region with locomotor activity induced by injections of amphetamine into the nucleus accumbens. *Brain Research*, **334**: 77-84.
- Brudzynski, S.M., Wu, M. y Mogenson, G.J. (1992). Decreases in rat locomotor activity as a result of changes in synaptic transmission to neurons within the mesencephalic locomotor region. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **71**: 394-406.
- Buchwald, J.S., Hinman, C., Norman, R.J., Huang, C.M. y Brown, K.A. (1981). Middle- and long-latency auditory evoked responses recorded from the vertex of normal and chronically lesioned cats. *Brain Research*, **205**: 91-109.
- Buchwald, J.S., Rubinstein, E.H., Schwafel, J. y Strandburg, R.J. (1991). Midlatency auditory evoked responses: Differential effects of a cholinergic agonist and antagonist. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, **80**: 303-309.
- Buscher, W., Schugens, M., Wagner, U. y Huston, J.P. (1989). Interhemispheric relationship between lateral hypothalamic self-stimulation and the region of the nucleus tegmenti pedunculo-pontinus. *Brain Research*, **487(2)**: 321-334.
- Campeau, S., Falls, W.A., Cullinan, W.E., Helmreich, D.L., Davis, M. Y Watson, S.J. (1997). Elicitation and reduction of fear: behavioural and neuroendocrine indices and brain induction of the immediate-early gene c-fos. *Neuroscience*, **78(4)**: 1087-1104.
- Capece, M.L., Baghdoyan, H.A. y Lydic, R. (1998a). Carbachol stimulates [<sup>35</sup>S]Guanylyl 5'-( $\gamma$ -Thio)-Triphosphate binding in rapid eye movement sleep-related brainstem nuclei of rat. *The Journal of Neuroscience*, **18(10)**: 3779-3785.
- Capece, M.L., Baghdoyan, H.A. y Lydic, R. (1998b). Opioids activate G proteins in REM sleep-related brainstem nuclei of rat. *NeuroReport*, **9**: 3025-3028.
- Carlson, J.D., Pearlstein, R.D., Buchholz, J., Iacono, R.P. y Maeda, G. (1999). Regional metabolic changes in the pedunculopontine nucleus of unilateral 6-hydroxydopamine Parkinson's model rats. *Brain Research*, **828**: 12-19.
- Cassel, J.-C. y Jeltsch, H. (1995). Serotonergic modulation of cholinergic function in the central nervous system: cognitive implications. *Neuroscience*, **69(1)**: 1-41.
- Charara, A., Smith, J. y Parent, A. (1996). Glutamatergic inputs from the pedunculopontine nucleus to midbrain dopaminergic neurons in primates: *Phaseolus vulgaris*-leucoagglutinin anterograde labeling combined with postembedding glutamate and GABA immunocytochemistry. *Journal of Comparative Neurology*, **364**: 254-266.
- Chevalier, G., Deniau, J.M., Thierry, A.M. y Feger, J. (1981). The nigro-tectal pathway, an electrophysiological reinvestigation in the rat. *Brain Research*, **213**: 253-263.

- Childs, J.A. y Gale, K. (1984). Circling behavior elicited from the pedunculopontine nucleus: evidence for the involvement of hindbrain GABAergic projections. *Brain Research*, **304**: 387-391.
- Clinke, G.H.C. y Werbrouck, L. (1993). Two-way active avoidance. En: A. Sahgal (Ed.). *Behavioural Neuroscience. A practical approach.*, Vol. 1. Oxford: Oxford University Press, p. 71-80.
- Coll-Andreu, M., Martí-Nicolovius, M., Portell-Cortés, I. y Morgado-Bernal, I. (1993). Facilitation of shuttle-box avoidance by the platform method: effects of conditioned stimulus duration. *Physiology and Behavior*, **53**: 349-352.
- Condé, H., Dormont, J.F. y Farin, D. (1998). The role of the pedunculopontine tegmental nucleus in relation to conditioned motor performance in the cat. II. Effects of reversible inactivation by intracerebral microinjections. *Experimental Brain Research*, **121**: 411-418.
- Corrigall, W.A., Coen, K.M., Adamson, K.L. y Chow, B.L.C. (1999). Manipulations of mu-opioid and nicotinic cholinergic receptors in the pontine tegmental region alter cocaine self-administration. *Psychopharmacology*, **145**: 412-417.
- Corrigall, W.A., Coen, K.M., Zhang, J. y Adamson, K.L. (2001). GABA mechanisms in the pedunculopontine tegmental nucleus influence particular aspects of nicotine self-administration selectively in the rat. *Psychopharmacology*, **158**: 190-197.
- Corrigall, W.A., Coen, K.M., Zhang, J. y Adamson, K.L. (2002). Pharmacological manipulations of the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat reduce self-administration of both nicotine and cocaine. *Psychopharmacology*, **160**: 198-205.
- Da Cunha, C., Gevaerd, M.S., B.F. Vital, M.A., Miyoshi, E., Andreatini, R., Silveira, R., Takahashi, R.N. y Canteras, N.S. (2001). Memory disruption in rats with nigral lesions induced by MPTP: a model for early Parkinson's disease amnesia. *Behavioural Brain Research*, **124**: 9-18.
- Datta, S., Calvo, J. M., Quattrachi, J. y Hobson, J.A. (1992). Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. I. Immediate and prolonged increases in pontogeniculo-occipital waves. *Archives Italiennes de Biologie*, **130**: 263-284.
- Datta, S., Patterson, E.H. y Spoley, E.E. (2001). Excitation of the pedunculopontine tegmental NMDA receptors induces wakefulness and cortical activation in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, **66**(1): 109-116.
- Datta, S. y Siwek, D.F. (1997). Excitation of the brain stem pedunculopontine tegmentum cholinergic cells induces wakefulness and REM sleep. *Journal of Neurophysiology*, **77**: 2975-2988.
- De Bruin, J.P., Sanchez-Santed, F., Heinsbroek, R.P., Donker, A. y Postmes, P. (1994). A behavioural analysis of rats with damage to the medial prefrontal cortex using the Morris water maze: evidence for behavioural flexibility, but not for impaired spatial navigation. *Brain Research*, **652**: 323-333.

- Dellu, F., Mayo, W., Cherkaoui, J., LeMoal, M. y Simon, H. (1991). Learning disturbances following excitotoxic lesions of cholinergic pedunculo-pontine nucleus in the rat. *Brain Research*, **544**: 126-131.
- Deurveilher, S. y Hennevin, E. (2001). Lesions of the pedunclopontine tegmental nucleus reduce paradoxical sleep (PS) propensity: evidence from a short-term PS deprivation study in rats. *European Journal of Neuroscience*, **13**: 1963-1976.
- Deutsch, J. A. (1973). The cholinergic synapse and the site of memory. En: J. A. Deutsch (Ed.). *The Physiological Basis of Memory*. New York and London: Academic Press, p. 59-76.
- Dieter, S.E. (1977). Preexposure to situational cues and shock intensity in two-way avoidance learning. *Animal Learning and Behavior*, **5**: 403-406.
- Di Loreto, S., Florio, T. y Scarnati, E. (1992). Evidence that non-NMDA receptors are involved in the excitatory pathway from the pedunclopontine region to nigrostriatal dopaminergic neurons. *Experimental Brain Research*, **89**: 79-86.
- Döbrössy, M.D., Svendsen, C.N. y Dunnett, S.B. (1996). Bilateral striatal lesions impair retention of an operant test of short-term memory. *Brain Research Bulletin*, **41**: 159-165.
- Dormont, J.F., Condé, H. y Farin, D. (1998). The role of the pedunclopontine tegmental nucleus in relation to conditioned motor performance in the cat. I. Context-dependent and reinforcement-related single unit activity. *Experimental Brain Research*, **121**: 401-410.
- Dunbar, J.S., Hitchcock, K., Latimer, M., Rugg, E.L., Ward, N. y Winn, P. (1992). Excitotoxic lesions of the pedunclopontine tegmental nucleus of the rat. II. Examination of eating and drinking, rotation and reaching and grasping following unilateral ibotenate or quinolinate lesions. *Brain Research*, **589**: 194-206.
- Dunnett, S.B. (1990). Role of the prefrontal cortex and striatal output systems in short-term memory deficits associated with aging, basal forebrain lesions, and cholinergic-rich grafts. *Canadian Journal of Psychology*, **44**: 210-232.
- Dunnett, S.B. (1993). Operant delayed matching and non-matching to position in rats. En: A. Sahgal (Ed.). *Behavioural Neuroscience. A practical approach.*, **Vol. 1**. Oxford: Oxford University Press, p. 123-136.
- Dunnett, S.B., Ryan, C.N., Levin, P.D., Reynolds, M. y Buch T. (1987). Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. *Behavioral Neuroscience*, **101**: 489-503..
- Ebert, U. y Ostwald, J. (1991). The mesencephalic locomotor region is activated during the auditory startle response of the unrestrained rat. *Brain Research*, **565**: 209-217.
- Edo-Izquierdo, S., Aldavert-Vera, L., Coll-Andreu, M., Garau-Florit, A. y Segura-Torres, P. (1994). A parametrical study of two-way active avoidance acquisition and long-term retention: New approaches for data analyses. *Psicothema*, **6(1)**: 49-69.

- Eidelberg, E., Walden, J.G. y Nguyen, L.H. (1981). Locomotor control in Macaque monkeys. *Brain*, **104**: 647-663.
- Engber, T.M., Koury, E.J., Dennis, S.A., Miller, M.S., Contreras, P.C. y Bhat, R.V. (1998). Differential patterns of regional c-Fos induction in the rat brain by amphetamine and the novel wakefulness-promoting agent modafinil. *Neuroscience Letters*, **241**: 95-98.
- Fay, R.A. y Norgren, R. (1997a). Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus. I. Masticatory muscle motor systems. *Brain Research Reviews*, **25**: 255-275.
- Fay, R.A. y Norgren, R. (1997b). Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus. II. Facial muscle motor systems. *Brain Research Reviews*, **25**: 276-290.
- Fay, R.A. y Norgren, R. (1997c). Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus. III. Lingual muscle motor systems. *Brain Research Reviews*, **25**: 291-311.
- Fendt, M. y Koch, M. (1999). Cholinergic modulation of the acoustic startle response in the caudal pontine reticular nucleus of the rat. *European Journal of Pharmacology*, **370**: 101-107.
- Fendt, M., Li, L. y Yeomans, J.S. (2001). Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl)*, **156(2-3)**: 216-224.
- Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R.M., Núñez, J.F., Zapata, A., Boix, F., Salazar, W. y Tobeña, A. (1991). The early acquisition of two-way (shuttle-box) avoidance as an anxiety-mediated behavior: psychopharmacological validation. *Brain Research Bulletin*, **26**:173-176.
- Fibiger, H.C. y Semba, K. (1988). Afferent connections of the pedunclopontine and laterodorsal tegmental nuclei in the rat. *Society for Neuroscience Abstracts*, **14**: 633.
- Flaherty, Ch.F. (1985). *Animal Learning and Cognition*. NY: Alfred A. Knopf.
- Floresco, S.B., Braaksma, D.N. y Phillips, A.G. (1999). Involvement of the ventral pallidum in working memory tasks with or without a delay. *Annals of the N.Y. Academy of Sciences*, **877**: 711-716.
- Floresco, S.B., Seamans, J.K., y Phillips, A.G. (1997). Selective Roles for Hippocampal, Prefrontal Cortical, and Ventral Striatal Circuits in Radial-Arm Maze Tasks With or Without a Delay. *The Journal of Neuroscience*, **17(5)**: 1880-1890.
- Florio, T., Capozzo, A., Cellini, R., Pizzuti, G., Staderini, E. M. y Scarnati, E. (2001). Unilateral lesions of the pedunclopontine nucleus do not alleviate subthalamic nucleus-mediated anticipatory responding in a delayed sensorimotor task in the rat. *Behavioural Brain Research*, **126**: 93-103.
- Florio, T., Capozzo, A., Puglielli, E., Pupillo, R., Pizzuti, G. y Scarnati, E. (1999). The function of the pedunclopontine nucleus in the preparation and execution of an

- externally-cued bar pressing task in the rat. *Behavioural Brain Research*, **104**: 95-104.
- Frasca, J., Blumbergs, P.C., Henschke, P. y Burns, R.J. (1991). A clinical and pathological study of progressive supranuclear palsy. *Clinical and Experimental Neurology*, **28**: 79-89.
- Freedman, R., Adler, L.E., Waldo, M.C., Patchman, E. y Franks, R.D. (1983). Neurophysiological evidence for a defect in inhibitory pathways in schizophrenia: Comparison of medicated and drug-free patients. *Biological Psychiatry*, **18**: 537-551.
- Fujimoto, K., Ikeguchi, K. y Yoshida, M. (1992). Impaired acquisition, preserved retention and retrieval of avoidance behavior of pedunculopontine nucleus areas in the rat. *Neuroscience Research*, **13**: 43-51.
- Fujimoto, K., Yoshida, M., Ikeguchi, K. y Niiijima, K. (1989). Impairment of active avoidance produced after destruction of pedunculopontine nucleus areas in the rat. *Neuroscience Research*, **6**: 312-328.
- Fujimoto, K., Yoshida, M., Ikeguchi, K. y Ogawa, M. (1990). Impairment of passive and active avoidance produced by destruction of the cholinergic projection from the pedunculopontine nucleus to the medial thalamus of the rat. *Dementia*, **1**: 65-73.
- Fung, S.J., Chan, J.Y.H., Manzoni, D., White, S.R., Lai, Y.-Y., Strahlendorf, H.K., Zhuo, H., Liu, R.-H., Reddy, V.K. y Barnes, C.D. (1994). Cotransmitter-mediated locus coeruleus action on motoneurons. *Brain Research Bulletin*, **35(5/6)**: 423-432.
- Gai, W.P., Blumbergs, P.C., Geffen, L.B. y Blessing, W.W. (1993). Galanin-containing fibers innervate substance P-containing neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus in humans. *Brain Research*, **618**: 135-141.
- Gai, W.P., Halliday, G.M., Blumbergs, P.C., Geffen, L.B. y Blessing, W.W. (1991). Substance P-containing neurons in the mesopontine tegmentum are severely affected in Parkinson's disease. *Brain*, **114**: 2253-2267.
- Gal, G., Joel, D., Gusak, O., Feldon, J. y Weiner, I. (1997). The effects of electrolytic lesion to the shell subterritory of the nucleus accumbens on delayed non-matching-to-sample and four-arm baited eight-arm radial-maze tasks. *Behavioral Neuroscience*, **111**: 92-103.
- García-Muñoz, M., Patino, P., Aguilar, R. y Abuthnott, G. (1982). Participation of projections from substantia nigra reticulata to the lower brain stem in turning behavior. *Experimental Neurology*, **78**: 380-390.
- García-Rill, E. (1991). The pedunculopontine nucleus. *Progress in Neurobiology*, **36**: 363-389.
- García-Rill, E., Biedermann, J., Chambers, T., y cols. (1995). Mesopontine neurons in schizophrenia. *Neuroscience*, **66**: 321-335.
- García-Rill, E., Kinjo, N., Atsuta, Y., Ishikawa, Y., Webber, M. y Skinner, R.D. (1990). Posterior midbrain-induced locomotion. *Brain Research Bulletin*, **24**: 499-508.

- García-Rill, E. y Skinner, R.D. (1987a). The mesencephalic locomotor region. I. Activation of a medullary projection site. *Brain Research*, **411**: 1-12.
- García-Rill, E. y Skinner, R.D. (1987b). The mesencephalic locomotor region. II. Projections to reticulospinal neurons. *Brain Research*, **411**: 13-20.
- García-Rill, E. y Skinner, R.D. (1988). Modulation of rhythmic function in the posterior midbrain. *Neuroscience*, **27**: 639-654.
- García-Rill, E., Skinner, R.D., Miyazato, H. y Homma, Y. (2001). Pedunclopontine stimulation induces prolonged activation of pontine reticular neurons. *Neuroscience*, **104(2)**: 455-465.
- Goldman-Rakic, P.S. (1990). Cellular and circuit basis of working memory in prefrontal cortex of nonhuman primates. *Progress in Brain Research*, **85**: 325-335.
- Granata, A.R. y Katai, S.T. (1991). Inhibitory substantia nigra inputs to the pedunclopontine neurons. *Experimental Brain Research*, **86**: 459-466.
- Granon, S., Vidal, C., Thinus-Blanc, C., Changeux, J.P. y Pouchet, B. (1994). Working memory, response selection, and effortful processing in rats with medial prefrontal lesions. *Behavioral Neuroscience*, **108**: 883-891.
- Groenewegen, H.J., Berendse, H.W. y Haber, S.N. (1993). Organization of the output of the ventral striadopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents. *Neuroscience*, **57**: 113-142.
- Groenewegen, H.J., Wright, C.I. y Beijer, A.V.J. (1996). The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? En G. Holstege, R. Bandler y C.B. Saper (Eds.). *Progress in Brain Research*, **Vol. 107**. Elsevier Science Publishers.
- Grofova, I. y Zhou, M. (1998). Nigral innervation of cholinergic and glutamatergic cells in the rat mesopontine tegmentum: light and electron microscopic anterograde tracing and immunohistochemical studies. *The Journal of Comparative Neurology*, **395**: 359-379.
- Grunberg, B.S., Krein, H. y Krauthamer, G.M. (1992). Somatosensory input and thalamic projection of pedunclopontine tegmental neurons. *NeuroReport*, **3(8)**: 673-675.
- Hallanger, A.E., Levey, A.I., Lee, H.J., Rye, D.B. y Wainer, B.H. (1987). The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, **262**: 105-124.
- Hallbeck, M., Hermanson, O. y Blomqvist, A. (1999). Distribution of preprovasopressin mRNA in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, **411**: 181-200.
- Harrison, J.B., Woolf, N.J. y Buchwald, J.S. (1990). Cholinergic neurons of the feline pontomesencephalon. II. Essential role in "Wave A" generation. *Brain Research*, **520**: 43-54.

- Higo, S., Matsuyama, T. y Kawamura, S. (1996). Direct projections from the pedunclopontine and laterodorsal tegmental nuclei to area 17 of the visual cortex in the cat. *Neuroscience Research*, **26**: 109-118.
- Hirsch, E.C., Graybiel, A.M., Duyckaerts, C. y Javoy-Agid, F. (1987). Neuronal loss in the pedunclopontine tegmental nucleus in Parkinson disease and in progressive supranuclear palsy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **84**: 5976-5980.
- Homs-Ormo, S. (2000). Efectes de la lesió del nucli pedunclopòntic tegmental sobre la reactivitat emocional i la motricitat espontània, en rates. *Tesina del Departament de Psicobiologia i Metodologia de les Ciències de la Salut, Unitat de Psicobiologia, UAB*.
- Homs-Ormo, S., Coll-Andreu, M., Satorra-Marín, N. y Morgado-Bernal, I. (2000). Effects of pedunclopontine tegmental nucleus lesions on elevated plus-maze and open field behaviours: no evidences for anxiety or altered locomotor activity. *European Journal of Neuroscience*, **12** (suppl.11): 163.
- Horne, J. (1992). Human slow wave sleep: a review and appraisal of recent findings, with implications for sleep functions, and psychiatric illness. *Experientia*, **48**: 941-954.
- Horner, R.L., Sanford, L.D., Pack, A.I. y Morrison, A.R. (1997). Activation of a distinct arousal state immediately after spontaneous awakening from sleep. *Brain Research*, **778**: 127-134.
- Hughes, H.C. (1980). Efferent organization of the cat pulvinar complex, with a note on bilateral claustricortical and reticulocortical connections. *Journal of Comparative Neurology*, **193**: 937-963.
- Inglis, W.L., Allen, L.F., Whitelaw, R.B., Latimer, M.P., Brace, H.M. y Winn, P. (1994a). An investigation into the role of the pedunclopontine tegmental nucleus in the mediation of locomotion and orofacial stereotypy induced by *d*-amphetamine and apomorphine in the rat. *Neuroscience*, **58**(4): 817-833.
- Inglis, W.L., Dunbar, J.S. y Winn, P. (1994b). Outflow from the nucleus accumbens to the pedunclopontine tegmental nucleus: a dissociation between locomotor activity and the acquisition of responding for conditioned reinforcement stimulated by *d*-amphetamine. *Neuroscience*, **62**(1): 51-64.
- Inglis, W.L., Olmstead, M.C. y Robbins, T.W. (2000). Pedunclopontine tegmental nucleus lesions impair stimulus-reward learning in autoshaping and conditioned reinforcement paradigms. *Behavioral Neuroscience*, **114**(2): 285-294.
- Inglis, W.L., Olmstead, M.C. y Robbins, T.W. (2001). Selective deficits in attentional performance on the 5-choice serial reaction time task following pedunclopontine tegmental nucleus lesions. *Behavioural Brain Research*, **123**: 117-131.
- Inglis, W.L. y Semba, K. (1996). Colocalization of ionotropic glutamate receptor subunits with NADPH-diaphorase-containing neurons in the rat mesopontine tegmentum. *The Journal of Comparative Neurology*, **368**: 17-32.

- Inglis, W.L., Thakkar, M., Rainnie, D.G., Greene, R.W., McCarley, R.W. y Semba, K. (1995). Ibotenic acid lesions of the rat pedunculopontine or laterodorsal tegmental nucleus: effects on behavioural state control. *Sleep Research*, **24A**: 217.
- Inglis, W.L. y Winn, P. (1995). The pedunculopontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Progress in Neurobiology*, **47**: 1-29.
- Iwamoto, E.T. (1989). Antinociception after nicotine administration into mesopontine tegmentum of rats: evidence for muscarinic actions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*, **251**: 412-121.
- Iwamoto, E.T. (1991). Characterization of the antinociception induced by nicotine in the pedunculopontine tegmental nucleus and the nucleus raphe magnus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*, **257**: 120-133.
- Jellinger, K. (1988). The pedunculopontine nucleus in Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, **51**: 540-543.
- Jenkins, T.A., Latimer, M.P., Alderson, H.L. y Winn, P. (2002). Determination of acetylcholine and dopamine content in thalamus and striatum after excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus in rats. *Neuroscience Letters*, **322**: 45-48.
- Joel, D. y Weiner, I. (1994). The organization of the basal ganglia-thalamo-cortical circuits: Open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience*, **63**: 363-379.
- Jones, B.E. (1990). Relationship of GABAergic to cholinergic neurons within the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei. *Neuroscience Abstracts*, **16**: 300.
- Jones, B.E. y Webster, H.H. (1988). Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. I. Effects upon the cholinergic innervation of the brain. *Brain Research*, **451**: 13-32.
- Junqué, C. y Barroso, J. (1994). Envejecimiento, demencias y otros procesos degenerativos. En *Neuropsicología*. Madrid: Síntesis, S.A., p. 436.
- Junqué, C. y Jurado, M.A. (1994). La enfermedad de Alzheimer y otras demencias corticales. En *Envejecimiento y demencias*. Barcelona: Martínez Roca, p.108.
- Kamondi, A., Williams, J.A., Hutcheon, B. y Reiner, P.B. (1992). Membrane properties of mesopontine cholinergic neurons studied with the whole-cell patch-clamp technique: Implications for behavioural state control. *Journal of Neurophysiology*, **68**: 1359-1371.
- Kang, Y. y Katai, S.T. (1990). Electrophysiological properties of pedunculopontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra reticulata. *Brain Research*, **535**: 79-95.

- Karson, C.N., Casanova, M.F., Kleinman, J.E., y Griffin, W.SueT. (1993). Choline Acetyltransferase in Schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, **150(3)**: 454-459.
- Karson, C.N., García-Rill, E., Biedermann, J., Mrak, R.E., Husain, M.M. y Skinner, R.D. (1991). The brain stem reticular formation in schizophrenia. *Psychiatry Research*, **40**: 31-48.
- Katner, S.N., McBride, W.J., Lumeng, L., Li, T.-K. y Murphy, J.M. (1997). Alcohol intake of P rats is regulated by muscarinic receptors in the pedunculopontine nucleus and VTA. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **58(2)**: 497-504.
- Kayama, Y. y Koyama, Y. (1998). Brainstem neural mechanisms of sleep and wakefulness. *European Urology*, **33(suppl. 3)**: 12-15.
- Keating, G.L., Blaha, C.D., Winn, P., DiCiano, P., Latimer, M.P. y Phillips, A.G. (1997). Amphetamine self-administration is enhanced by excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus in rats. *Society for Neuroscience Abstracts*, **23**: 2145.
- Keating, G.L. y Winn, P. (1996). Excitotoxic lesions of the pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei in rats: II. Effects on conditioned place preference. *Society for Neuroscience Abstracts*, **22**: 444.
- Keating, G.L. y Winn, P. (2002). Examination of the role of the pedunculopontine tegmental nucleus in radial maze tasks with or without a delay. *Neuroscience*, **112(3)**: 687-696.
- Kelland, M.D. y Asdourian, D. (1989). Pedunculopontine tegmental nucleus-induced inhibition of muscle activity in the rat. *Behavioural Brain Research*, **34**: 213-234.
- Kelland, M.D., Freeman, A.S., Rubin, J. y Chiodo, L.A. (1993). Ascending afferent regulation of rat midbrain dopamine neurons. *Brain Research Bulletin*, **31**: 539-546.
- Kessler, J., Markowitsch, H.J. y Sigg, G. (1986). Memory related role of the posterior cholinergic system. *International Journal of Neuroscience*, **30**: 101-109.
- Khateb, A., Serafin, M. y Muhlethaler, M. (1990). Histamine excites pedunculopontine neurons in guinea pig brain stem slices. *Neuroscience Letters*, **112**: 257-262.
- Klarner, A., Koch, M. y Schnitzler, H.-U. (1998). Induction of fos-protein in the forebrain and disruption of sensorimotor gating following N-Metil-D-Aspartate infusion into the ventral hippocampus of the rat. *Neuroscience*, **84(2)**: 443-452.
- Kleiner, S. y Bringmann, A. (1996). Nucleus basalis magnocellularis and pedunculopontine tegmental nucleus: control of the slow EEG waves in rats. *Archives Italiennes de Biologie*, **134**: 153-167.
- Klingberg, F., Mager, P. y Mager, R. (1989). The mesencephalic reticular formation as a link in the cortical control of exploratory and goal-directed behaviour. *Acta Physiologica Hungarica*, **74**: 121-134.

- Klitenick, M.A. y Kalivas, P.W. (1994). Behavioral and neurochemical studies of opioid effects in the pedunculopontine nucleus and mediodorsal thalamus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **269**: 437-448.
- Knusel, B. y Hefti, F. (1988). Development of cholinergic pedunculopontine neurons in vitro: Comparison with cholinergic septal cells and response to nerve growth factor and retinoic acid. *Journal of Neuroscience Research*, **21**: 365-375.
- Koch, M., Kungel, M. y Herbert, H. (1993). Cholinergic neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus are involved in the mediation of prepulse inhibition of the acoustic startle response in the rat. *Experimental Brain Research*, **97**: 71-82.
- Koch, M. y Schnitzler, H.-U. (1997). The acoustic startle response in rats-circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. *Behavioural Brain Research*, **89**: 35-49.
- Kodsi, M.H. y Swerdlow, N.R. (1997). Regulation of prepulse inhibition by ventral pallidal projections. *Brain Research Bulletin*, **43**: 219-228.
- Kofman, O., McGlynn, S., Olmstead, M.C. y Yeomans, J.S. (1990). Differential effects of atropine, procaine and dopamine in the rat ventral tegmentum on lateral hypothalamic rewarding brain stimulation. *Behavioural Brain Research*, **38**: 55-68.
- Kofman, O. y Yeomans, J.S. (1989). Cholinergic antagonists in ventral tegmentum elevate thresholds for lateral hypothalamic and brainstem self-stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **31**: 547-559.
- Kohyama, J. (1998). Sleep as a window on the developing brain. *Current problems in pediatrics*, **28(3)**: 69-100.
- Kojima, J., Yamaji, Y., Matsumura, M., Nambu, A., Inase, M., Tokuno, H., Takada, M. y Imai, H. (1997) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neuroscience Letters*, **226**: 111-114.
- Koyama, Y., Honda, T., Kusakabe, M., Kayama, Y. y Sugiura, Y. (1998). "In vivo" electrophysiological distinction of histochemically-identified cholinergic neurons using extracellular recording and labelling in rat laterodorsal tegmental nucleus. *Neuroscience*, **83(4)**: 1105-1112.
- Koyama, Y., Jodo, E. y Kayama, Y. (1994). Sensory responsiveness of "broad-spike" neurons in the laterodorsal tegmental nucleus, locus coeruleus and dorsal raphe of awake rats: implications for cholinergic and monoaminergic neuron-specific responses. *Neuroscience*, **63(4)**: 1021-1031.
- Kozicz, T., Yanaihara, H. y Arimura, A. (1998). Distribution of urocortin-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, **391**: 1-10.
- Krauthamer, G.M., Grunberg, B.S. y Krein, H. (1995). Putative cholinergic neurons of the pedunculopontine tegmental nucleus projecting to the superior colliculus consist of

- sensory responsive and unresponsive populations which are functionally distinct from other mesopontine neurons. *Neuroscience*, **69**(2): 507-517.
- Kretschmer, B.D. y Koch, M. (1998). The ventral pallidum mediates disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle response induced by dopamine agonists, but not by NMDA antagonists. *Brain Research*, **798**: 204-210.
- Lai, Y.Y., Clements, J.R. y Siegel, J.M. (1993). Glutamatergic and cholinergic projections to the pontine inhibitory area identified with horseradish peroxidase retrograde transport and immunohistochemistry. *Journal of Comparative Neurology*, **336**: 321-330.
- Lai, Y.Y., Clements, J.R., Wu, X.Y., Shalita, T., Wu, J.-P., Kuo, J.S. y Siegel, J.M. (1999). Brainstem projections to the ventromedial medulla in cat: retrograde transport horseradish peroxidase and immunohistochemical studies. *The Journal of Comparative Neurology*, **408**: 419-436.
- Lai, Y.Y. y Siegel, J.M. (1990). Muscle tone suppression and stepping produced by stimulation of midbrain and rostral pontine reticular formation. *Journal of Neuroscience*, **10**(8): 2727-2734.
- Lança, A.J., Adamson, K.L., Coen, K.M., Chow, B.L.C. y Corrigall, W. A. (2000a). The pedunculopontine tegmental nucleus and the role of cholinergic neurons in nicotine self-administration in the rat: a correlative neuroanatomical and behavioral study. *Neuroscience*, **96**(4): 735-742.
- Lança, A.J., Sanelli, T.R. y Corrigall, W.A. (2000b). Nicotine-induced fos expression in the pedunculopontine mesencephalic tegmentum in the rat. *Neuropharmacology*, **39**: 2808-2817.
- Lavoie, B. y Parent, A. (1994a). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: Distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the mesopontine tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *Journal of Comparative Neurology*, **344**: 190-209.
- Lavoie, B. y Parent, A. (1994b). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: Cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *Journal of Comparative Neurology*, **344**: 232-241.
- Lee, M.S., Rinne, J.O. y Marsden, C.D. (2000). The pedunculopontine nucleus: its role in the genesis of movement disorders. *Yonsei Medical Journal*, **41**: 2167-2184.
- Lee, H.J., Rye, D.B., Hallanger, A.E., Levey, A.I. y Wainer, B.H. (1988). Cholinergic vs non-cholinergic efferents from the mesopontine tegmentum to the extrapyramidal motor system nuclei. *Journal of Comparative Neurology*, **275**: 469-492.
- Leitner, D.S., Powers, A.S., Stitt, C.L. y Hoffman, H.S. (1981). Midbrain reticular formation involvement in the inhibition of acoustic startle. *Physiology and Behavior*, **26**: 259-268.

- Leonard, C.S. y Llinás, R. (1988). Electrophysiology of thalamic-projecting cholinergic brain stem neurons and their inhibition by acetylcholine. *Neuroscience Abstracts*, **14**: 297.
- Leonard, C.S. y Llinás, R. (1994). Serotonergic and cholinergic inhibition of mesopontine cholinergic neurons controlling REM sleep: an *in vivo* electrophysiological study. *Neuroscience*, **59**: 309-330.
- Lepore, M. y Franklin, K.B.J. (1996). N-Methyl-D-Aspartate lesions of the pedunculopontine nucleus block acquisition and impair maintenance of responding reinforced with brain stimulation. *Neuroscience*, **71(1)**: 147-155.
- Leri, F. y Franklin, K.B.J. (1998). Learning impairments caused by lesions to the pedunculopontine tegmental nucleus: an artifact of anxiety? *Brain Research*, **807**: 187-192.
- Leri, F. y Franklin, K.B.J. (2000). Diazepam modifies the effect of pedunculopontine lesions on morphine but not on amphetamine conditioned place preference. *Behavioural Brain Research*, **117**: 21-27.
- Leumann, L., Sterchi, D., Vollenweider, F., Ludewig, K. y Früh, H. (2001). A neural network approach to the acoustic startle reflex and prepulse inhibition. *Brain Research Bulletin*, **56(2)**: 101-110.
- Li, L., Priebe, R.P.M. y Yeomans, J.S. (1998). Prepulse inhibition of acoustic or trigeminal startle of rats by unilateral electrical stimulation of the inferior colliculus. *Behavioral Neuroscience*, **112(5)**: 1187-1198.
- Li, L. y Yeomans, J.S. (2000). Using intracranial electrical stimulation to study the timing of prepulse inhibition of the startle reflex. *Brain Research Protocols*, **5**: 67-74.
- Liljenström, H. y Hasselmo, E. (1995). Cholinergic modulation of cortical oscillatory dynamics. *Journal of Neurophysiology*, **74(1)**: 288-297.
- Lin, J.-S., Hou, Y., Sakai, K. y Jouvet, M. (1996). Histaminergic descending inputs to the mesopontine tegmentum and their role in the control of cortical activation and wakefulness in the cat. *The Journal of Neuroscience*, **16(4)**: 1523-1537.
- Lokwan, S.J.A., Overton, P.G., Berry, M.S. y Clark, D. (1999). Stimulation of the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat produces burst firing in A9 dopaminergic neurons. *Neuroscience*, **92(1)**: 245-254.
- Losier, B.J. y Semba, K. (1993). Dual projections of single cholinergic and aminergic brainstem neurons to the thalamus and basal forebrain in the rat. *Brain Research*, **604**: 41-52.
- Luebke, J.I., Greene, R.W., Semba, K., Kamondi, A., McCarley, R.W. y Reiner, P.B. (1992). Serotonin hyperpolarizes cholinergic low-threshold burst neurons in the rat laterodorsal tegmental nucleus *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* **89**: 743-747.

- Mager, P., Mager, R. y Klingberg, F. (1984). The effect of lesions in the mesencephalic reticular formation upon conditioned avoidance responses in rat. II. Lesions of the area cuneiformis. *Biomedical Biochimica Acta*, **43**:1145-1155.
- Maloney, K.J., Mainville, L. y Jones, B.E. (1999). Differential c-Fos expression in cholinergic, monoaminergic, and GABAergic cell groups of the pontomesencephalic tegmentum after paradoxical sleep deprivation and recovery. *Journal of Neuroscience*, **15**: 3057-3072.
- Manaye, K.F., Zweig, R., Wu, D., Hersh, L.B., De la calle, S., Saper, C.B. y German, D.C. (1999). Quantification of cholinergic and select non-cholinergic mesopontine neuronal populations in the human brain. *Neuroscience*, **89(3)**: 759-770.
- Masdeu, J.C., Alampur, U., Cavaliere, R. y Tavoulareas, G. (1994). Ataxia and gait failure with damage of the pontomesencephalic locomotor region. *Annals of Neurology*, **35**: 619-621.
- Mathur, A., Shandarin, A., LaViolette, S.R., Parker, J. y Yeomans, J.S. (1997). Locomotion and stereotypy induced by scopolamine: contributions of muscarinic receptors near the pedunculopontine tegmental nucleus. *Brain Research*, **775**: 144-155.
- Matsumura, M., Watanabe, K. y Ohye, C. (1997). Single-unit activity in the primate nucleus tegmenti pedunculopontinus related to voluntary arm movement. *Neuroscience Research*, **28**: 155-165.
- McAllister, W.R., McAllister, D.E., Dieter, S.E. y James, H.J. (1979). Preexposure to situational cues produces a direct relationship between two-way avoidance learning and shock intensity. *Animal Learning and Behavior*, **7**: 165-173.
- McGaugh, J.L. (2000). Memory- a century of consolidation. *Science*, **287**: 248-251.
- Mediavilla, C., Molina, F. y Puerto, A. (2000). Electrolytic lesions of the pedunculopontine nucleus disrupt concurrent learned aversion induced by NaCl. *Neurobiology of Learning and Memory*, **74**: 105-118.
- Meltzer, L.T., Christoffersen, C.L. y Serpa, K.A. (1997). Modulation of dopamine neuronal activity by glutamate receptor subtypes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **21(4)**: 511-518.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. y Levey, A.I. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, **10**: 1185-1201.
- Mileykovskiy, B.Y., Kiyashchenko, L.I., Kodama, T., Lai, Y.-Y. y Siegel, J.M. (2000). Activation of pontine and medullary motor inhibitory regions reduces discharge in neurons located in the locus coeruleus and the anatomical equivalent of the midbrain locomotor region. *The Journal of Neuroscience*, **20(22)**: 8551-8558.
- Milner, K.L. y Mogenson, G.J. (1988). Electrical and chemical activation of the mesencephalic and subthalamic locomotor regions in freely moving rats. *Brain research*, **452**: 273-285.

- Mitchell, I.J., Clarke, C.E., Boyce, S., Robertson, R.G., Peggs, D., Sambrook, M.A. y Crossman, A.R. (1989). Neural mechanisms underlying Parkinsonian symptoms based upon regional uptake of 2-deoxyglucose in monkeys exposed to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neuroscience*, **32**: 213-226.
- Miyazato, H., Skinner, R.D. y García-Rill, E. (1999). Neurochemical modulation of the P13 midlatency auditory evoked potential in the rat. *Neuroscience*, **92(3)**: 911-920.
- Mogenson, G.J. y Wu, M. (1988). Differential effects on locomotor activity of injections of procaine into mediodorsal thalamus and pedunculo pontine nucleus. *Brain Research Bulletin*, **20**: 241-246.
- Mogenson, G.J., Wu, M. y Tsai, C.T. (1989). Subpallidal-pedunculo pontine projections but not subpallidal-mediodorsal thalamus projections contribute to spontaneous exploratory locomotor activity. *Brain Research*, **485**: 396-398.
- Morilak, D.A. y Ciaranello, R.D. (1993). 5-HT<sub>2</sub> receptor immuno-reactivity on cholinergic neurons of the pontomesencephalic tegmentum shown by double immunofluorescence. *Brain Research*, **627**: 49-54.
- Moritzumi, T. y Hattori, T. (1992). Separate neuronal populations of the rat globus pallidus projecting to the subthalamic nucleus, auditory cortex and pedunculo pontine tegmental area. *Neuroscience*, **46**: 701-710.
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P. y O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, **297**: 681-683.
- Mufson, E.J., Mash, D.C. y Hersh, L.B. (1988). Neurofibrillary tangles in cholinergic pedunculo pontine neurons in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, **24(5)**: 623-629.
- Müller K. y Klingberg, F. (1986). Lesions in the mesencephalic part of pedunculo pontine nuclei modify goal-directed behaviour. *Biomedical Biochimica Acta*, **45(9)**: 1159-1165.
- Munro-Davies, L., Winter, J., Aziz, T.Z. y Stein, J. (2001). Kainate acid lesions of the pedunculo pontine region in the normal behaving primate. *Movement Disorders*, **16(1)**: 150-151.
- Nader, K., Bechara, A., Roberts, D.C.S. y van der Kooy, D. (1994). Neuroleptics block high- but not low-dose heroin place preferences: further evidence for a two-system model of motivation. *Behavioral Neuroscience*, **108(6)**: 1128-1138.
- Nader, K. y van der Kooy, D. (1994). The motivation produced by morphine and food is isomorphic: approaches to specific motivational stimuli are learned. *Psychobiology*, **22(1)**: 68-76.
- Nader, K. y van der Kooy, D. (1997). Deprivation state switches the neurobiological substrates mediating opiate reward in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience*, **17(1)**: 383-390.

- Nakahara, D., Ishida, Y., Nakamura, M., Furuno, N. y Nishimori, T. (2001). Intracranial self-stimulation induces fos expression in GABAergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Neuroscience*, **106**(3): 633-641.
- Newman, D.B. (1985). Distinguishing rat brainstem reticulospinal nuclei by their neuronal morphology. II. Pontine and mesencephalic nuclei. *Journal fur Hirnforschung*, **26**: 385-418.
- Nuyt, A.M., Lenkei, Z., Palkovits, M., Corvol, P. y Llorens-Cortés, C. (1999). Ontogeny of angiotensin II type 2 receptor mRNA expression in fetal and neonatal rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, **407**: 193-206.
- Oakman, S.A., Faris, P.L., Cozzari, C. y Hartman, B.K. (1999). Characterization of the extent of pontomesencephalic cholinergic neurons' projections to the thalamus: comparison with projections to midbrain dopaminergic groups. *Neuroscience*, **94**: 529-547.
- Oakman, S.A., Faris, P.L., Kerr, P.E., Cozzari, C. y Hartman, B.K. (1995). Distribution of pontomesencephalic cholinergic neurons projecting to substantia nigra differs significantly from those projecting to ventral tegmental area. *Journal of Neuroscience*, **15**: 5859-5869.
- Oda, Y. y Nakanishi, I. (2000). The distribution of cholinergic neurons in the human central nervous system. *Histology and Histopathology*, **15**: 825-834.
- Ogren, S.O. y Archer, T. (1994). Effects of typical and atypical antipsychotic drugs on two-way active avoidance. Relationship to DA receptor blocking profile. *Psychopharmacology*, **114**: 383-391.
- Ogura, M., Nakao, N., Nakai, E., Nakai, K. e Itakura, T. (1997). Firing activity of the basal ganglia and pedunculopontine nucleus in rats with nigrostriatal lesions. *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, **67**: 80-81.
- Olmstead, M.C. y Franklin, K.B.J. (1993). Effects of pedunculopontine tegmental nucleus lesions on morphine-induced conditioned place preference and analgesia in the formalin test. *Neuroscience*, **57**(2): 411-418.
- Olmstead, M.C. y Franklin, K.B.J. (1994). Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus abolish catalepsy and locomotor depression induced by morphine. *Brain Research*, **662**: 134-140.
- Olmstead, M.C., Inglis, W.L., Bordeaux, C.P., Clarke, E.J., Wallum, N.P., Everitt, B.J. y Robbins, T.W. (1999) Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus increase sucrose consumption but do not affect discrimination or contrast effects. *Behavioral Neuroscience*, **113**(4): 732-743.
- Olmstead, M.C., Munn, E.M., Franklin, K.B.J. y Wise, R.A. (1998). Effects of pedunculopontine tegmental nucleus lesions on responding for intravenous heroin under different schedules of reinforcement. *The Journal of Neuroscience*, **18**(13): 5035-5044.

- Olszewski, J. y Baxter, D. (1982). *Cytoarchitecture of the Human Brain Stem*, 2<sup>a</sup> edn. S. Karger: New York.
- Packard, M.G. y McGaugh, J.L. (1992). Double Dissociation of Fornix and Caudate Nucleus Lesions on Acquisition of Two Water Maze Tasks: Further Evidence for Multiple Memory Systems. *Behavioral Neuroscience*, **106(3)**: 439-446.
- Pahapill, P.A. y Lozano, A.M. (2000). The pedunculo-pontine nucleus and Parkinson's disease. *Brain*, **123**: 1767-1783.
- Parker, J.L. y van der Kooy, D. (1995). Tegmental pedunculo-pontine nucleus lesions do not block cocaine reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **52(1)**: 77-83.
- Parvizi, J. y Damasio, A. (2001). Consciousness and the brainstem. *Cognition*, **79**: 135-159.
- Pascoe, J.P. y Kapp, B.S. (1993). Electrophysiology of the dorsolateral mesopontine reticular formation during pavlovian conditioning in the rabbit. *Neuroscience*, **54(3)**: 753-772.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 2<sup>a</sup> edn. San Diego: Academic Press.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 3<sup>a</sup> edn. California: Academic Press.
- Podhorna, J. y Franklin K.B.J. (1998). Lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus increase anxiety in rats. *NeuroReport*, **9**: 1783-1786.
- Podhorna, J. y Franklin, K.B.J. (1999). Long-lasting increase in anxiety after electrolytic lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Behavioral Neuroscience*, **113(3)**: 550-557.
- Podhorna, J. y Franklin, K.B.J. (2000). Pontine tegmentum lesions increase anxiety-like behavior in rats: a comparison with anxiety produced by  $\beta$ -CCE. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **65(2)**: 267-273.
- Popovic, M., Caballero-Bleda, M., Popovic, N., Bokanjic, D. y Dobric, S. (1997). Neuroprotective effect of chronic verapamil treatment on cognitive and noncognitive deficits in an experimental Alzheimer's disease in rats. *International Journal of Neuroscience*, **92(1-2)**: 79-94.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E. y McCarley, R.W. (2000). Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an *in vivo* microdialysis study. *Neuroscience*, **99(3)**: 507-517.
- Porter, M.C., Burk, J.A. y Mair, R.G. (2000). A comparison of the effects of hippocampal or prefrontal cortical lesions on three versions of delayed non-matching-to-sample based on positional or spatial cues. *Behavioural Brain Research*, **109**: 69-81.

- Porter, M.C. y Mair, R.G. (1997). The effects of frontal cortical lesions on remembering depend on the procedural demands of tasks performed in the radial arm maze. *Behavioural Brain Research*, **87**: 115-125.
- Prinz, P., Poceta, J.S. y Vitiello, M.V. (1990). Sleep in the dementing disorders. En F. Boller y J. Grafman (Eds.). *Handbook of Neuropsychology*, **Vol. 4**. Elsevier Science Publishers.
- Rainnie, D.G., Grunze, H.C.R., McCarley, R.W. y Greene, R.W. (1994). Adenosine inhibition of mesopontine cholinergic neurons: implications for EEG arousal. *Science*, **263(4)**: 689-692.
- Ramos Platón, M.J. (1996). *Sueño y procesos cognitivos*. Madrid: Síntesis Psicología.
- Rasmusson, D.D.; Clow, K. y Szerb, J.C. (1994) Modification of neocortical acetylcholine release and electroencephalogram desynchronization due to brainstem stimulation by drugs applied to the basal forebrain. *Neuroscience*, **60(3)**: 665-677.
- Rawlins, J.N.P. y Deacon, R.M.J. (1993). Further developments of maze procedures. En: A. Sahgal (Ed.). *Behavioural Neuroscience. A practical approach.*, **Vol. 1**. Oxford: Oxford University Press, p. 95-106.
- Reading, P.J. y Dunnett, S.B. (1991). The effects of excitotoxic lesions of the nucleus accumbens on a matching to position task. *Behavioural Brain Research*, **46**: 17-29.
- Reese, N.B., García-Rill, E. y Skinner, R.D. (1995a). Auditory input to the pedunculopontine nucleus. II. Unit responses. *Brain Research Bulletin*, **37**: 265-273.
- Reese, N.B., García-Rill, E. y Skinner, R.D. (1995b). The pedunculopontine nucleus-auditory input, arousal and pathophysiology. *Progress in Neurobiology*, **42**: 105-133.
- Robbins, T.W., Cador, W., Taylor, J.R. y Everitt, B.J. (1989). Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, **13**: 155-162.
- Robbins, T.W., Everitt, B.J., Muir, J.L. y Harrison, A. (1992). Understanding the behavioural functions of neurochemically defined arousal systems. *IBRO News*, **20(3)**: 7.
- Robbins, T.W., James, M., Owen, A.M., Lange, K.W., Lees, A.J., Leigh, P.N., Marsden, C.D., Quinn, N.P. y Summers, B.A. (1994). Cognitive deficits in progressive supranuclear palsy, Parkinson's disease and multiple system atrophy in tests sensitive to frontal lobe dysfunction. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, **57**: 79-88.
- Rodgers, R.J. y Dalvi, A. (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **21(6)**: 801-810.
- Rodgers, R.J. y Johnson, J.T. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **52(2)**: 297-303.

- Rugg, E.L., Dunbar, J.S., Latimer, M. y Winn, P. (1992) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus of the rat. I. Comparison of the effects of various excitotoxins, with particular reference to the loss of immunohistochemically identified cholinergic neurons. *Brain Research*, **589**: 181-193.
- Rye, D.B. (1997). Contributions of the pedunculopontine region to normal and altered REM sleep. *Sleep*, **20(9)**: 757-788.
- Rye, D.B., Saper, C., Lee, H. y Wainer, B. (1987). Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *The Journal of Comparative Neurology*, **259**: 483-528.
- Rye, D.B., Vitck, J., Bakay, R.A.E., Kaneoke, Y., Hashimoto, T., Turner, R. y cols. (1995). Termination of pallidofugal pathways in man. *Society for Neuroscience Abstracts*, **21**: 676.
- Sakai, K., El Mansari, M. y Jouvet, M. (1990). Inhibition by carbachol microinjections of presumptive cholinergic PGO-on neurons in freely moving cats. *Brain Research*, **527**: 213-223.
- Samson, H.H. y Chappell, A. (2001). Injected muscimol in pedunculopontine tegmental nucleus alters ethanol self-administration. *Alcohol*, **23**: 41-48.
- Sanchez-Santed, F., De Bruin, J.P.C., Heinsbroek, R.P.W. y Verwer, R.W.H. (1997). Spatial delayed alternation of rats in a T-maze: effects of neurotoxic lesions of the medial prefrontal cortex and of T-maze rotations. *Behavioural Brain Research*, **84**: 73-79.
- Sánchez, R., Kahteb, M., Muhlethaler, M. y Leonard, C.S. (1991). Glutamate and NMDA actions on mesopontine cholinergic neurons *in vitro*. *Neuroscience Abstracts*, **17**: 256.
- Saper, C.B. y Loewy, A.D. (1982). Projections of the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat: evidence for additional extrapyramidal circuitry. *Brain Research*, **252**: 367-372.
- Sapolsky, R.M., Krey, L.C. y McEwen, B.S. (1984). Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number. Implications for aging. *Journal of Neuroscience*, **5**: 1222-1227.
- Sauvage, M. y Steckler, T. (2001). Detection of corticotropin-releasing hormone receptor 1 immunoreactivity in cholinergic, dopaminergic and noradrenergic neurons of the murine basal forebrain and brainstem nuclei- potential implications for arousal and attention. *Neuroscience*, **104(3)**: 643-652.
- Scarnati, E., Campana, E. y Pacitti, C. (1984). Pedunculopontine-evoked excitation of substantia nigra neurons in the rat. *Brain Research*, **304**: 351-361.
- Scarnati, E., Proia, A., Di Loreto, S. y Pacitti, C. (1987). The reciprocal electrophysiological influence between the nucleus tegmenti pedunculopontinus and the substantia nigra in normal and decorticated cats. *Brain Research*, **423**: 116-124.

- Schenkel, E. y Siegel, J.M. (1989). REM sleep without atonia after lesions of the medial medulla. *Neuroscience Letters*, **98**: 159-165.
- Schreiber, W., Lauer, C.J., Krumrey, K., Holsboer, F., y Krieg, J-C. (1992) Cholinergic REM sleep induction test in subjects at high risk for psychiatric disorders. *Biological Psychiatry*, **32**: 79-90.
- Seamans, J.K., Floresco, S.B. y Phillips, A.G. (1995). Functional Differences Between the Prelimbic and Anterior Cingulate Regions of the Rat Prefrontal Cortex. *Behavioral Neuroscience*, **109(6)**: 1063-1073.
- Seligman M.E.P., Beagley, G. (1975). Learned helplessness in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **88**: 53-541.
- Semba, K. (1993). Aminergic and cholinergic afferents to REM sleep induction regions of the pontine reticular formation in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, **330**: 543-556.
- Serafin, M., Khateb, A. y Mühlethaler, M. (1990). Opiates inhibit pedunculopontine neurones in guinea pig brainstem slices. *Neuroscience Letters*, **119**: 125-128.
- Sesack, S.R., Deutch, A.Y., Roth, R.H. y Bunney, B.S. (1989). Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology*, **290**: 213-242.
- Shaw, C. y Aggleton, J.P. (1993). The effects of fornix and medial prefrontal lesions in delayed non-matching-to-sample by rats. *Behavioural Brain Research*, **54**: 91-102.
- Shink, E., Sidibé, M. y Smith, Y. (1997). Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey: II. Topography and synaptic organization of pallidal efferents to the pedunculopontine nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, **382**: 348-363.
- Siegel, J.M. (2001). The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science*, **294**: 1058-1063.
- Silvestri, A.J. y Kapp, B.S. (1998). Amygdaloid modulation of mesopontine peribrachial neuronal activity: implications for arousal. *Behavioral Neuroscience*, **112(3)**: 571-588.
- Skinner, R.D. y García-Rill, E. (1984). The mesencephalic locomotor region (MLR) in the rat. *Brain Research*, **323**: 385-389.
- Smith, Y., Paré, D., Deschenes, M., Parent, A. y Steriade, M. (1988). Cholinergic and non-cholinergic projections from the upper brainstem core to the visual thalamus in the cat. *Experimental Brain Research*, **70**: 166-180.
- Smith, Y. y Shink, E. (1995). The pedunculopontine nucleus (PPN): a potential target for the convergence of information arising from different functional territories of the internal pallidum (Gpi) in primates. *Society for Neuroscience Abstracts*, **21**: 677.

- Smith, Y., Sidibé, M. y Paré, J. (2000). Synaptic inputs from the substantia nigra and the pedunculopontine nucleus to thalamostriatal neurons in monkeys. *30<sup>th</sup> Annual Meeting, Society for Neuroscience Abstracts*, **26(1)**: 965.
- Sofroniew, M.V., Priestley, J.V., Consolazione, A., Eckenstein, F. y Cuello, A.C. (1985). Cholinergic projections from the midbrain and pons to the thalamus in the rat, identified by combined retrograde tracing and choline acetyltransferase immunocytochemistry. *Brain Research*, **329**: 213-223.
- Spann, B.M. y Grofova, I. (1989). Origin of ascending and spinal pathways from the nucleus tegmenti pedunculopontinus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, **283**: 13-27.
- Spann, B.M. y Grofova, I. (1991). Nigropedunculopontine projection in the rat: An anterograde tracing study with *Phaseolus vulgaris*-Leucoagglutinin (PHA-L). *Journal of Comparative Neurology*, **311**: 375-388.
- Spann, B.M. y Grofova, I. (1992). Cholinergic and non-cholinergic neurons in the rat pedunculopontine tegmental nucleus. *Anatomy and Embryology*, **186**: 215-227.
- Steckler, T. (1993). Lesions of the cholinergic pedunculopontine nucleus impair cognitive performance in rats. *Journal of Psychopharmacology, British Association for Psychopharmacology Summer Meeting Abstract Book, Suppl.*: A83.
- Steckler, T., Drinkenburg, W.H.I.M., Sahgal, A. y Aggleton, J.P. (1998a). Recognition memory in rats -II. Neuroanatomical substrates. *Progress in Neurobiology*, **54**: 313-332.
- Steckler, T., Inglis, W., Winn, P. y Sahgal, A. (1994a). The pedunculopontine tegmental nucleus: a role in cognitive processes?. *Brain Research Reviews*, **19**: 298-318.
- Steckler, T., Keith, A.B. y Sahgal, A. (1994b). Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus do not alter delayed non-matching to position accuracy. *Behavioural Brain Research*, **61**: 107-112.
- Steckler, T. y Sahgal, A. (1995). The role of serotonergic-cholinergic interactions in the mediation of cognitive behaviour. *Behavioural Brain Research*, **67**: 165-199.
- Steckler, T., Sahgal, A., Aggleton, J.P. y Drinkenburg, W.H.I.M. (1998b). Recognition memory in rats -III. Neurochemical substrates. *Progress in Neurobiology*, **54**: 333-348.
- Stefurak, T.L. y van der Kooy, D. (1994). Tegmental pedunculopontine lesions in rats decrease saccharin's rewarding effects but not its memory-improving effect. *Behavioral Neuroscience*, **108(5)**: 972-980.
- Steininger, T.L., Rye, D.B. y Wainer, B.H. (1992). Afferent projections to the cholinergic pedunculopontine tegmental nucleus and adjacent midbrain extrapyramidal area in the albino rat. I. Retrograde tracing studies. *Journal of Comparative Neurology*, **321**: 515-543.

- Steininger, T.L., Wainer, B.H. y Rye, D.B. (1997). Ultrastructural study of cholinergic and noncholinergic neurons in the pars compacta of the rat pedunculopontine tegmental nucleus. *The Journal of Comparative Neurology*, **382**: 285-301.
- Steriade, M. (1993). Central core modulation of spontaneous oscillations and sensory transmission in thalamocortical systems. *Current Opinion in Neurobiology*, **3**: 619-625.
- Steriade, M., Amzica, F. y Nuñez, A. (1993). Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow ( $\approx 0.3$  Hz) oscillation in neocortical cells. *Journal of Neurophysiology*, **70(4)**: 1385-1400.
- Steriade, M., Datta, S., Paré, D., Oakson, G. y Curró Dossi, R. (1990). Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *Journal of Neuroscience*, **10**: 2541-2559.
- Steriade, M. y Llinás, R.R. (1988). The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiological Reviews*, **68**: 649-742.
- Steriade, M. y McCarley, R.W. (1990). *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep*. New York: Plenum Press.
- Stickgold, R. (1998). Sleep: off-line memory reprocessing. *Trends in Cognitive Sciences*, **2(12)**: 484-492.
- Stickgold, R., Hobson, J.A., Fosse, R. y Fosse, M. (2001). Sleep, learning and dreams: off-line memory reprocessing. *Science*, **294**: 1052-1057.
- Sujimoto, T. y Hattori, T. (1984). Organization and efferent projections of nucleus tegmenti pedunculopontinus pars compacta with special reference to its cholinergic aspects. *Neuroscience*, **11**: 931-946.
- Sutherland, R.J., Kolb, B. y Whishaw, I.Q. (1982). Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat. *Neuroscience Letters*, **31**: 271-276.
- Swerdlow, N.R. y Geyer, M.A. (1993). Prepulse inhibition of acoustic startle in rats after lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus. *Behavioral Neuroscience*, **107**: 104-117.
- Swerdlow, N.R. y Koob, G.F. (1987). Lesions of the dorsomedial nucleus of the thalamus, medial prefrontal cortex and pedunculopontine nucleus: Effects on locomotor activity mediated by nucleus accumbens-ventral pallidal circuitry. *Brain Research*, **412**: 233-243.
- Szymusiak, R. y McGinty, D. (1989). Effects of basal forebrain stimulation on the waking discharge of neurons in the midbrain reticular formation of cats. *Brain Research*, **498**: 355-359.
- Takakusaki, K., Shiroyama, T. y Katai, S.T. (1997). Two types of cholinergic neurons in the rat tegmental pedunculopontine nucleus: electrophysiological and morphological characterization. *Neuroscience*, **79**: 1089-1109.

- Takakusaki, K., Shiroyama, T., Yamamoto, T. y Kitai, S.T. (1996). Cholinergic and noncholinergic tegmental pedunculopontine projection neurons in rats revealed by intracellular labeling. *Journal of Comparative Neurology*, **371**: 345-361.
- Thakkar, M.M., Stecker, R.E. y McCarley, R.W. (1998). Behavioral state control through differential serotonergic inhibition in the mesopontine cholinergic nuclei: a simultaneous unit recording and microdialysis study. *The Journal of Neuroscience*, **18(14)**: 5490-5497.
- Thornton, J.M., Aziz, T., Schlugman, D. y Paterson, D.J. (2002). Electrical stimulation of the midbrain increases heart rate and arterial blood pressure in awake humans. *Journal of Physiology*, **539(2)**: 615-621.
- Torterolo, P., Yamuy, J., Sampogna, S., Morales, F.R. y Chase, M.H. (2001). GABAergic neurons of the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei of the cat express *c-fos* during carbachol-induced active sleep. *Brain Research*, **892**: 309-319.
- Trojnar, W. y Staszewska, M. (1995). Bilateral lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus affect feeding induced by electrical stimulation of the ventral tegmental area. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **55**: 201-206.
- Tsai, C.T., Mogenson, G.J., Wu, M. y Yang, C.R. (1989). A comparison of the effects of electrical stimulation of the amygdala and hippocampus on subpallidal output neurons to the pedunculopontine nucleus. *Brain Research*, **494**: 22-29.
- Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Martí-Nicolovius, M., Nadal-Alemany, R., Arévalo-García, R. y Morgado-Bernal, I. (2002). Electrolytic and ibotenic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Experimental Brain Research*, **142**: 52-66.
- Vanderwolf, C.H. (1992). The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, **82**: 165-175.
- Vanni-Mercier, G. y Debilly, G. (1998). A key role for the caudoventral pontine tegmentum in the simultaneous generation of eye saccades in bursts and associated ponto-geniculo-occipital waves during paradoxical sleep in the cat. *Neuroscience*, **86(2)**: 571-585.
- Vanni-Mercier, G., Sakai, K., Lin, J.S. y Jouvet, M. (1989). Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Archives Italiennes de Biologie*, **127**: 133-164.
- Vertes, R.P., Colom, L.V., Fortin, W.J. y Bland, B.H. (1993). Brainstem sites for the carbachol elicitation of the hippocampal theta rhythm in the rat. *Experimental Brain Research*, **96**: 419-429.
- Waraczynski, M. y Perkins, M. (1998). Lesions of pontomesencephalic cholinergic nuclei do not substantially disrupt the reward value of medial forebrain bundle stimulation. *Brain Research*, **800**: 154-169.

- Webster, H.H. y Jones, B.E. (1988). Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Research*, **458**: 282-302.
- White, I.M. y Rebec, G.V. (1993). Responses of rat striatal neurons during performance of a lever-release version of the conditioned avoidance response task. *Brain Research*, **616**: 71-82.
- Williams, J.A., Comisarow, J., Day, J., Fibiger, H.C. y Reiner, P.B. (1994). State-dependent release of acetylcholine in rat thalamus measured by in vivo microdialysis. *Journal of Neuroscience*, **14**: 5236-5242.
- Williams, J.A. y Reiner, P.B. (1993). Noradrenaline hyperpolarizes identified rat mesopontine cholinergic neurons *in vitro*. *Journal of Neuroscience*, **13**: 3878-3883.
- Williams, J.A., Vincent, S.R. y Reiner, P.B. (1997). Nitric oxide production in rat thalamus changes with behavioral state, local depolarization, and brainstem stimulation. *The Journal of Neuroscience*, **17(1)**: 420-427.
- Winn, P. (1991). Cholinergic stimulation of substantia nigra: effects on feeding, drinking, and sexual behaviour in the male rat. *Psychopharmacology (Berl)*, **104**: 208-214.
- Winn, P. (1998). Frontal syndrome as a consequence of lesions in the pedunculopontine tegmental nucleus: A short theoretical review. *Brain Research Bulletin*, **47(6)**: 551-563.
- Winn, P., Brown, V.J. e Inglis, W.L. (1997). On the relationship between the striatum and the pedunculopontine tegmental nucleus. *Critical Reviews in Neurobiology*, **11(4)**: 241-261.
- Winn, P., Latimer, M.P., Brown, V.J. y Brasted, P.J. (1995) The pedunculopontine tegmental nucleus as a striatal output station. II. Effects of PPTg lesions on reaction time measures in a conditioned visual discrimination task. *Society for Neuroscience Abstracts*, **21**: 2079.
- Winn, P. y Redgrave, P. (1979). Feeding following microinjections of cholinergic substances into substantia nigra. *Life Sciences*, **25**: 333-338.
- Winn, P. y Redgrave, P. (1981). Dose-dependent feeding in the rat following substantia nigra acetylcholinesterase blockade. *European Journal of Pharmacology*, **76**: 208-214.
- Wolf, G., Henschke, G. y Würdig, S. (1993). Glutamate agonist-induced hippocampal lesion and nitric oxide synthase/NADPH-diaphorase: a light and electron microscopical study in the rat. *Neuroscience Letters*, **161**: 49-52.
- Wood, E.R.; Dudchenko, P.A.; Robitsek, R.J. y Eichembaum, H. (2000) Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron*, **27**: 623-633.

- Woolf, N.J. y Butcher, L.L. (1986). Cholinergic systems in the rat brain. III. projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Research Bulletin*, **16**: 603-637.
- Woolf, N.J., Jacobs, R.W. y Butcher, L.L. (1989). The pontomesencephalotegmental cholinergic system does not degenerate in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, **96**: 277-282.
- Wu, J.C. y Bunney, W.E. (1990). The biological basis of an antidepressant response to sleep deprivation and relapse: Review and hypothesis. *American Journal of Psychiatry*, **147**: 14-21.
- Wu, M.-F., Siegel, J.M., Shouse, M.N. y Schenkel, E. (1990). Lesions producing REM sleep without atonia disinhibit the acoustic startle reflex without affecting prepulse inhibition. *Brain Research*, **528**: 330-334.
- Xuereb, J.H., Perry, E.K., Candy, J.M., Bonham, J.R., Perry, R.H. y Marshall, E. (1990). Parameters of cholinergic neurotransmission in the thalamus in Parkinson's disease and in Alzheimer's disease. *Journal of Neurological Sciences*, **99**: 185-197.
- Yang, C.R. y Mogenson, G.J. (1987). Hippocampal signal transmission to the pedunculopontine nucleus and its regulation by dopamine D<sub>2</sub> receptors in the nucleus accumbens: an electrophysiological and behavioural study. *Neuroscience*, **23(3)**: 1041-1055.
- Yeomans, J.S. (1995). Role of tegmental cholinergic neurons in dopaminergic activation, antimuscarinic psychosis and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, **12(1)**: 3-16.
- Yeomans, J.S. y Baptista, M. (1995). Both nicotinic and muscarinic receptors in ventral tegmental area contribute to brain-stimulation reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **57(4)**: 915-921.
- Yeomans, J.S., Mathur, A. y Tampakeras, M. (1993). Rewarding brain stimulation: Role of tegmental cholinergic neurons that activate dopamine neurons. *Behavioral Neuroscience*, **107(6)**: 1077-1087.
- Zhang, J., Engel, J.A., Ericson, M. y Svensson, L. (1999). Involvement of the medial geniculate body in prepulse inhibition of acoustic startle. *Psychopharmacology*, **141**: 189-196.
- Zweig, R.M., Jankel, W.R., Hedreen, J.C., Mayeux, R. y Price, D.L. (1989). The pedunculopontine nucleus in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, **26**: 41-46.
- Zweig, R., Whitehouse, P., Casanova, M., Walker, L., Jankel, W. y Price, D. (1987). Loss of pedunculopontine neurons in progressive supranuclear palsy. *Annals of Neurology*, **22**: 18-25.

## **9. ANEXOS**

---

## ANEXO 1:

### PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN DE LOS EXPERIMENTOS 1 Y 2

Sesión	Fecha	Observación del animal			Otras Observaciones	Punt. Total
		Mutilac. Voc.ext.	Aspecto	Agresivo comatoso		
Intervención y Recuperación Estereotaxia	Interv.					
	Rec.1					
	Rec.2					
	Rec.3					
	Rec.4					
	Rec.5					
	Rec.6					

#### CRITERIOS DE VALORACIÓN:

ASPECTO DEL ANIMAL	
0	Normal
1	Pelo en mal estado
2	Pelo en mal estado + secreciones
3	Postura anormal
CONDUCTA NO-PROVOCADA: Automutilaciones, vocalizaciones extremas	
0	Normal
3	Presencia
CONDUCTA EN RESPUESTA A ESTÍMULOS	
0	Normal
3	Estado agresivo / Comatoso

## **CORRECCIÓN: ESCALA DE SEVERIDAD Y ACCIONES A REALIZAR EN CADA CASO.**

Se debe especificar que por el tipo de variables de estudio de nuestros procedimientos (parámetros conductuales complejos) el estado del animal tiene que ser, no únicamente de no-sufrimiento, sino de bienestar y tranquilidad psicológicos y de adaptación a las condiciones experimentales. Por este motivo, los criterios basados en la escala de severidad para eliminar un animal determinado del experimento y, si es el caso, de sacrificarlo, son más rigurosos que los utilizados en otros tipos de investigación.

PUNTUACIÓN	CLASSIFICACION	ACCIONES
0-1	Normal	Supervisar el aspecto alterado y intentar devolverlo a la normalidad.
2-3	Posible sufrimiento	Supervisar con cuidado. Parar el proceso experimental, si es posible, hasta recuperar la normalidad. Si no se recupera la normalidad o la parada del procedimiento experimental, invalidar los resultados, sacrificar al animal
4-8	Sufrimiento	IDEM anterior, más valoración de la mejora con analgésicos o posibilidad de sacrificar al animal independientemente de su provecho para continuar el proceso experimental.
9-12	Sufrimiento intenso	Sacrificar el animal.

NOTA: cuando más de un apartado tenga valor 3, se considera como 4, por tanto, ESCALA: del 0 al 12.

### **CRITERIOS DE PUNTO FINAL:**

#### **Cuantitativos:**

- Puntuación en la Escala de Severidad igual o superior a 8 (sacrificio independientemente de la posibilidad de recuperar al animal, principalmente por su sufrimiento).

#### **Cualitativos:**

- Presencia de automutilaciones en cualquier momento del proceso experimental.
- Estado comatoso en cualquier momento del proceso experimental.
- Adipsia y/o afagia durante un periodo superior a 3 días (sin ninguna causa experimental).

## ANEXO 2:

### PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN DEL EXPERIMENTO 3

#### INTERVENCIÓN 1:

Sesión	Fecha	Observación del animal				Otras Observaciones	Punt. Total
		Mutilac Voc.ext.	Aspecto	Agresivo comatoso	Peso		
Intervención y Recuperación Esterotaxia	Interv.						
	Rec.1						
	Rec.2						
	Rec.3						
	Rec.4						
	Rec.5						
	Rec.6						

#### INTERVENCIÓN 2:

Sesión	Fecha	Observación del animal				Otras Observaciones	Punt. Total
		Mutilac Voc.ext.	Aspecto	Agresivo comatoso	Peso		
Intervención y Recuperación Esterotaxia	Interv.						
	Rec.1						
	Rec.2						
	Rec.3						
	Rec.4						
	Rec.5						
	Rec.6						

## CRITERIOS DE VALORACIÓN:

ASPECTO DEL ANIMAL	
0	Normal
1	Pelo en mal estado
2	Pelo en mal estado + secreciones
3	Postura anormal

CONDUCTA NO-PROVOCADA: Automutilaciones, vocalizaciones extremas	
0	Normal
3	Presencia

CONDUCTA EN RESPUESTA A ESTÍMULOS	
0	Normal
3	Estado agresivo / Comatoso

PESO	
0	Crecimiento normal
1	↓ 10% del peso inicial.
2	↓ 10%-20%, posible alteración de las heces.
3	↓ 20%, no ingesta de agua y/o de comida.

(\*) se debe indicar que el control del peso se realizaba diariamente (pero se apunta en el protocolo individualizado de cada sujeto, donde se identifica cada animal, se registra el grupo y las características experimentales, así como sus resultados)

## **CORRECCIÓN: ESCALA DE SEVERIDAD Y ACCIONES A REALIZAR EN CADA CASO.**

Se debe especificar que por el tipo de variables de estudio de nuestros procedimientos (parámetros conductuales complejos) el estado del animal tiene que ser, no únicamente de no-sufrimiento, sino de bienestar y tranquilidad psicológicos y de adaptación a las condiciones experimentales. Por este motivo, los criterios basados en la escala de severidad para eliminar un animal determinado del experimento y, si es el caso, de sacrificarlo, son más rigurosos que los utilizados en otros tipos de investigación.

Se debe también tener en cuenta, especialmente por lo que se refiere al peso de los animales, que los criterios tienen un significado muy diferente si se dan en la fase de recuperación postoperatoria o en la fase experimental propiamente dicha (cuando el bienestar de los animales, a demás de ser el objetivo ético es también un objetivo de validez de los resultados experimentales).

PUNTUACION	CLASSIFICACION	ACCIONES
0-1	Normal	Supervisar el aspecto alterado y intentar devolverlo a la normalidad.
2-3	Posible sufrimiento	Supervisar con cuidado. Parar el proceso experimental, si es posible, hasta recuperar la normalidad. Si no se recupera la normalidad o la parada del procedimiento experimental, invalidar los resultados, sacrificar al animal.
4-8	Sufrimiento	IDEM anterior, más valoración de la mejora con analgésicos o posibilidad de sacrificar al animal independientemente de su provecho para continuar el proceso experimental.
9-16	Sufrimiento intenso	Sacrificar el animal.

NOTA: cuando más de un apartado tenga valor 3, se considera como 4, por tanto, ESCALA: del 0 al 16.

### **CRITERIOS DE PUNTO Y FINAL:**

#### **Cuantitativos:**

- Puntuación en la escala de Severidad igual o superior a 8 (sacrificio independientemente de la posibilidad de recuperar el animal, principalmente por su sufrimiento).

#### **Cualitativos:**

- Presencia de automutilaciones en cualquier momento del proceso experimental.
- Estado comatoso en cualquier momento del proceso experimental.
- Adipsia y/o afagia durante un periodo superior a 3 días (sin ninguna causa experimental).
- No recuperación del peso anterior a la intervención estereotáxica en un periodo superior a 7 días.

## **ANEXO 3:**

### **MÉTODO HISTOQUÍMICO PARA LA DETERMINACIÓN DE NADPH-DIAFORASA**

#### **PERFUSIÓN Y FIJACIÓN DEL TEJIDO**

Los animales eran anestesiados profundamente con tiopental sódico (Pentothal Sódico®, Abbott; 200 mg/Kg) y perfundidos por vía intracardíaca, mediante una bomba peristáltica, con 50 ml de PBS heparinizado, seguidos por una solución fijadora constituida por 400 ml de paraformaldehído al 4% a los cuales se les había añadido un 2% de sacarosa y un 4% de una solución de glutaraldehído al 25%, según el método descrito por Wolf, Henschke y Würdig (1993). Este método de fijación garantiza una óptima reacción histoquímica, a la vez que permite una adecuada preservación de la estructura tisular, condición necesaria para el posterior tratamiento del tejido. La función de la sacarosa es proteger el tejido de los potenciales daños que provoca la congelación de las muestras durante el tratamiento histológico.

Después de la extracción de los cerebros, se dejaban estos sumergidos durante 60 minutos en la misma solución fijadora y, posteriormente, se sumergían en PBS con sacarosa al 15% durante 24 horas, a 4° C.

#### **CONGELACIÓN, CORTE DEL TEJIDO Y PROTOCOLO DE APLICACIÓN DE LA NADPH-DIAFORASA**

Se congelan los cerebros entre -16° C y -23° C. Seguidamente se cortan mediante un criostato (Cryocut 1800, con un microtomo 2020, Jung) para obtener cortes coronales seriados de 40µm de grosor. Estos cortes se recogen con PBS y se ponen a incubar en un medio que contiene solución salina 0.1M en tampón fosfato (pH=8), un 0.8% de Tritón X-100, 1.2 mM de NADPH-d y 0.8 mM de Nitro Blue Tetrazolium Salt. Los cortes permanecían durante 90 minutos en este medio, en una estufa a 37° C.

Seguidamente, los cortes se lavan dos veces con la solución salina tamponada, se montan sobre el portaobjetos y se dejan secar a temperatura ambiente. Posteriormente, se deshidratan pasándolos por las siguientes soluciones:

- Etanol de 70° durante 30 segundos;

- Etanol de 80° durante 30 segundos;
- Etanol de 90° durante 30 segundos;
- Etanol de 90° durante 30 segundos;
- Etanol de 100° durante 30 segundos;
- Etanol de 100° durante 30 segundos;
- Xilol durante 2 minutos.

Finalmente, se cubren los cortes con cubreobjetos utilizando Entellan como medio de inclusión.