

2.2. NÚCLEO PEDUNCULOPÓNTICO TEGMENTAL: RELACIONES FUNCIONALES

La actividad de las neuronas del PPTg se ha implicado en importantes aspectos funcionales, tanto cognitivos como no cognitivos.

Como hemos visto en el apartado de anatomía (punto 2.1.4.), este núcleo proyecta al tálamo y a diversas zonas que conectan de forma difusa hacia la corteza cerebral, modulando así la actividad electrofisiológica cortical. A través de las conexiones que acabamos de mencionar y de sus eferencias hacia regiones pontinas también controla diferentes aspectos del sueño REM. Por otro lado, forma parte del sistema motor de los ganglios basales y de los circuitos de la motivación y la recompensa. Asimismo, está relacionado con núcleos troncoencefálicos involucrados en respuestas autonómicas, como la respiración y el ritmo cardíaco. Y además, tanto por su organización anatómica como por los resultados de estudios funcionales y clínicos, se ha involucrado en aspectos cognitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria.

Una cuestión todavía sometida a debate es si existen subpoblaciones neuronales en el PPTg segregadas funcionalmente, o si, por el contrario, las mismas neuronas de este núcleo participan en varios aspectos. De hecho, si tenemos en cuenta el número relativamente pequeño de neuronas que pueblan esta región, parece improbable la existencia de una elevada segregación funcional (Reese y cols., 1995b).

2.2.1. Sueño-vigilia y activación cortical

El grupo Ch5, que contiene básicamente las neuronas colinérgicas del PPTg, pertenece al brazo colinérgico del SRAA y, como tal, está involucrado en la desincronía cortical, tanto durante la vigilia como durante el sueño REM (Inglis y Winn, 1995; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Steckler y cols., 1994a; Steriade y McCarley, 1990; Winn, 1998; Winn y cols., 1997). Además, las neuronas colinérgicas de este núcleo juegan también un papel clave en otros fenómenos relacionados con el sueño REM, como son las ondas ponto-geniculo-occipitales (ondas PGO) y la atonía muscular, y su integridad es esencial para muchas respuestas electrofisiológicas (Inglis y Winn, 1995; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Winn y cols., 1997).

En 1967, Shute y Lewis, citados en Reese y cols. (1995b), describieron dos rutas neurales ascendentes mesopontinas tegmentales, una dorsal y otra ventral, y, basándose en las pruebas histoquímicas, asumieron que eran colinérgicas. Estas vías se considerarían el sustrato neuroanatómico del brazo colinérgico del SRAA, descrito por Moruzzi y Magoun en 1949 (citados en Kayama y Koyama, 1998; y en Reese y cols., 1995b), un sistema neuronal difuso, modulador, que funciona de manera no jerárquica, heterogéneo neuroquímicamente, que se origina en el tronco del encéfalo y que ejerce efectos potentes a nivel cerebral. Estas proyecciones ascendentes se pensó, y posteriormente se ha confirmado, que provienen de las neuronas colinérgicas de la unión o confluencia pontomesencefálica, región en la que se incluye el PPTg.

Como parte, pues, de este sistema, el PPTg posee numerosas y dispersas proyecciones ascendentes, entre las cuales las más significativas son las que van al tálamo, particularmente a las áreas intralaminares, y a los núcleos motores y sensoriales. En cambio, el LDTg inerva especialmente núcleos de asociación límbicos, como el mediodorsal (Inglis y Winn, 1995; Winn, 1998; Winn y cols., 1997). Estas conexiones PPTg-tálamo se han implicado en la desincronización cortical observada como resultado de la activación mesencefálica descrita por primera vez por Moruzzi y Magoun (1949). Así, numerosos estudios ponen de manifiesto la existencia de una correlación positiva entre la actividad del PPTg y la desincronización cortical tanto durante la vigilia como durante el sueño paradójico (SP) o sueño REM (Reese y cols., 1995b).

Parece, pues, que esta estructura neural media los procesos de activación cerebral o “arousal” que preparan al sujeto para la acción; que se disparan en función del procesamiento que hace este individuo sobre la naturaleza de los estímulos sensoriales (familiares o nuevos, importantes o no) y su estado interno, cuando este organismo está sano y en estado de vigilia. Por este motivo, la relación del PPTg con el “arousal” cortical sugiere también su implicación en procesos cognitivos, especialmente en los procesos de atención, aprendizaje, memoria, y funciones ejecutivas.

2.2.1.1. Sueño paradójico

Desde 1960 se sabe que las inyecciones del agonista colinérgico carbacol en el tegmento pontino producen un estado de sueño REM en el gato que se caracteriza por la presencia de una actividad rápida de bajo voltaje en el EEG, movimientos rápidos de los

ojos registrados en el electrooculograma (EOG) y atonía muscular observada en el electromiograma de la nuca (EMG). Múltiples estudios indican que el lugar óptimo para producir este efecto se localiza en la formación reticular pontina medial colinoceptiva (mPRF), aunque el lugar exacto todavía se desconoce. Los lugares descritos que causan incrementos de SP después de la inyección de carbacol incluyen el locus coeruleus α , el perilocus coeruleus α y el nucleus reticularis pontis oralis (Reese y cols., 1995b; Vanni-Mercier y cols., 1989).

Las neuronas de la mPRF también se han relacionado con varios de los eventos que ocurren de manera natural durante el SP. Las lesiones bilaterales de la mPRF suprimen la atonía muscular del sueño REM, y los registros extracelulares de esta región han revelado la presencia de células con patrones de disparo asociados temporalmente a la pérdida de tono muscular presente durante esta fase del sueño. Presumiblemente, las neuronas de la mPRF darían lugar a la inhibición de las motoneuronas de la médula espinal mediante una ruta descendente polisináptica, que se correspondería con la vía productora de atonía descrita por Mori y sus colaboradores (1989), citados en Reese y cols. (1995b); otros autores, pero, han sugerido que la estimulación de esta área inhibitoria activaría mecanismos inhibitorios reticuloespinales y simultáneamente inhibiría la actividad de varios sistemas inductores de la facilitación del tono muscular y del movimiento en los niveles medulares y pontino, tales como el LC, el CnF y el PPTg (Mileykovskiy y cols., 2000). Además, se ha sugerido que esta región participa en el control del movimiento rápido de los ojos, la desincronización cortical y las sacudidas musculares, fenómenos todos ellos presentes durante el SP.

Las técnicas de trazado anterógrado y retrógrado han puesto de manifiesto la existencia de proyecciones desde las neuronas colinérgicas pontomesencefálicas (PPTg y LDTg), hacia la formación reticular troncoencefálica, incluyendo la mPRF (Deurveilher y Hennevin, 2001; Jones, 1990; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Semba, 1993), y estas conexiones parecen ser las responsables de la generación de SP (Deurveilher y Hennevin, 2001; Reese y cols., 1995b); inmediatamente antes y durante el sueño REM se activarían las neuronas colinérgicas mesopontinas incrementando la liberación de ACh en sus terminales situados en la zona de la formación reticular inductora de este tipo de sueño, lo que a su vez, induciría una despolarización de las neuronas de esta región, resultando en

una activación (o inhibición) de las vías eferentes que están involucradas en los diferentes componentes fenomenológicos del sueño REM.

El SP parece depender principalmente de la activación de receptores colinérgicos muscarínicos, ya que los agentes más efectivos para inducirlo son los agonistas de este tipo de proteínas de membrana, mientras que las sustancias más eficaces para bloquearlo son los antagonistas muscarínicos (Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Deurveilher y Hennevin, 2001). Sin embargo, otros sistemas de neurotransmisores también parecen participar en el SP. Así, Lai y cols. (1993) han encontrado que la administración, en esta área pontina, tanto de ACh como de agonistas de receptores no-NMDA provoca atonía muscular. Y Semba (1993) destaca que esta zona recibe, además de influencias colinérgicas desde el tegmento mesopontino, inputs serotoninérgicos del núcleo del rafe y del prosuprlemniscus, aferencias noradrenérgicas del tegmento lateral y del bulbo ventrolateral, y proyecciones histaminérgicas del núcleo tuberomamilar hipotalámico.

La administración tanto de agonistas muscarínicos como de inhibidores de la acetilcolinesterasa en la mPRF inducen un aumento de la activación cortical durante la vigilia seguida por una reducción de la latencia del SP y una mayor duración de esta fase del sueño, mientras que la disminución de ACh producida por los bloqueadores de la recaptación de colina, así como la lesión combinada PPTg/LDTg dan lugar a un decremento de la vigilia y abolen o interfieren con la expresión del sueño REM y de sus componentes tónicos y fásicos (atonía, ondas PGO y movimientos oculares) (Deurveilher y Hennevin, 2001; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997).

Además, el empleo de microdiálisis “in vivo” para medir la liberación de ACh en el tegmento pontino durante el sueño REM, natural o inducido colinérgicamente, ha permitido demostrar que se libera dos veces más ACh durante el SP que durante la vigilia (Deurveilher y Hennevin, 2001; Reese y cols., 1995b). Sin embargo, las células colinérgicas no son las únicas neuronas del PPTg que se activarían durante el sueño REM. Torterolo y cols. (2001), por ejemplo, demuestran, mediante la expresión de c-fos, que durante la microinyección de carbacol en el puente rostro-dorsal para producir sueño REM, se activan un gran número de neuronas GABAérgicas en el lado ipsilateral, mientras en el lado contralateral se produce una disminución de c-fos en este mismo tipo de células; además, las neuronas que manifestaron un incremento más grande en este marcador no eran ni GABAérgicas ni colinérgicas. Otras sustancias que se han relacionado con el

control del sueño en el PPTg son los opioides. Se han encontrado receptores para estos neurotransmisores en esta zona pontina, y se cree que la estimulación del receptor μ podría bloquear la transmisión colinérgica contribuyendo a la inhibición del sueño REM (Capece y cols., 1998b).

El NO, neuromodulador presente en las neuronas colinérgicas pontomesencefálicas, parece influir también en el control de los estados de sueño y vigilia. Se ha sugerido que la liberación de NO (supuestamente procedente del complejo PPTg-LDTg) en el tálamo puede tener importantes efectos sobre el control colinérgico de los estados sueño-vigilia (Steriade, 1993). Las concentraciones de NO extracelulares en el tálamo son altas durante la vigilia y el sueño REM, y bajas durante el sueño de ondas lentas (SOL) (Williams y cols., 1997); y se ha demostrado que el NO puede regular las oscilaciones de las ondas delta del sueño no-REM (Inglis y Winn, 1995).

El registro extracelular de neuronas en el PPTg/LDTg ha revelado que los niveles de disparo neuronal en estas áreas durante la vigilia y el sueño REM es más del doble que el nivel observado durante el SOL (Reese y cols., 1995b; Sakai y cols., 1990; Steriade y cols., 1990; Williams y cols., 1994; Winn, 1998; Winn y cols., 1997). La estimulación química del PPTg con glutamato ha permitido confirmar la hipótesis de que la excitación de las células de este núcleo genera vigilia y SP (Datta y Siwek, 1997); efecto que parece estar mediado por receptores NMDA (Datta y cols., 2001).

Varios grupos de investigadores han registrado células individuales del PPTg que parecen estar relacionadas con la producción de las espigas PGO (Reese y cols., 1995b; Steriade y cols., 1990), habiéndose establecido también las conexiones anatómicas entre el PPTg y el núcleo geniculado lateral del tálamo (involucrado en la inducción de las ondas PGO) (ver punto 2.1.4.2.). Un trabajo de registro extracelular de las neuronas del PPTg describió la existencia de seis tipos de células relacionadas con las ondas PGO en esta área (Reese y cols., 1995b; Steriade y cols., 1990); y aunque los neurotransmisores utilizados por cada uno de estos subtipos todavía no se conocen con claridad, estudios más recientes han revelado que las microinyecciones de carbacol en el PPTg producen un incremento inmediato y prolongado de las ondas PGO independientemente del estadio del sueño en que se halle el animal (Datta y cols., 1992; Reese y cols., 1995b). Estas ondas representan una condición indispensable para la ocurrencia del sueño REM porque son especialmente efectivas en bloquear los potenciales postsinápticos inhibitorios cíclicos de las neuronas

tálamo-corticales (Rye, 1997). Por otra parte, estas ondas han sido propuestas como el correlato neural que subyace a las imágenes de los sueños, las alucinaciones, y las respuestas de orientación (Rye, 1997). Se ha observado, también, que la lesión extensa de las neuronas colinérgicas mesopontinas se asocia a la pérdida de sueño REM, a una disminución de las ondas PGO y a una reducción de la atonía de los músculos de la nuca. Además, la cantidad de ondas PGO y de SP que se mantiene después de la lesión correlaciona con el número de neuronas colinérgicas que permanecen intactas (Reese y cols., 1995b).

Parece que cuando las neuronas del PPTg/LDTg incrementan sus niveles de descarga tónicos en estado de vigilia e inmediatamente antes y durante el sueño REM, la liberación de ACh en los núcleos de relevo específicos y no específicos del tálamo despolariza a las neuronas que proyectan hacia el córtex y ayuda a mantenerlas en el modo de descarga en espigas típico de la desincronización cortical. Una vez la actividad pontina cesa, hay un retorno a un estado relativamente hiperpolarizado, al patrón de descarga en ráfagas en el tálamo, al restablecimiento del SOL, a los husos y la sincronización cortical, y a un bloqueo de la sensibilidad talámica y cortical a la estimulación generada interna y externamente (Inglis y Winn, 1995; Rye, 1997; Steriade, 1993; Steriade y Llinás, 1988; Winn y cols., 1997).

Dada la importancia de las neuronas colinérgicas del PPTg para el mantenimiento y la inducción de sueño REM, es de esperar que la lesión de las mismas dé lugar a alteraciones de esta fase del sueño. De acuerdo con esta sugerencia, los estudios electroencefalográficos realizados en animales con lesiones excitotóxicas (con ácido iboténico) del PPTg idénticas a las que producen déficits conductuales indican que estas lesiones fragmentan el patrón de sueño-vigilia e inducen cambios en diversos componentes corticales del EEG (Inglis y cols., 1995). Sin embargo, al cabo de tres o cuatro días se normaliza este patrón de sueño-vigilia. Esto podría deberse a la existencia de mecanismos compensatorios (Deurveilher y Hennevin, 2001; Winn, 1998; Winn y cols., 1997). Por un lado, las lesiones realizadas en el PPTg, a pesar de que destruyen virtualmente todas las neuronas no colinérgicas, raramente afectan más del 80% de las neuronas colinérgicas. Por otro lado, la destrucción restringida del PPTg deja intactas a las células colinérgicas del núcleo subpeduncular y del LDTg (lo cual supone que más de la mitad de la inervación colinérgica talámica permanece). A favor de esta conclusión está el hecho de que, tal como

hemos indicado antes, las lesiones combinadas del PPTg y el LDTg sí que alteran profundamente la generación de SP, efecto que también se observa cuando se inducen lesiones del PPTg con ácido kaínico, una toxina que, según se ha podido comprobar, da lugar a daños neuronales muy extensos de la región pontomesencefálica, y no a destrucciones restringidas del PPTg (Winn, 1998).

No obstante, a pesar de que la integridad del PPTg no parece ser necesaria para el mantenimiento del SP, sí que da lugar a efectos más sutiles en la regulación de esta fase del sueño. Por ejemplo, se sabe que la privación de SP induce el llamado efecto rebote, es decir, cuando se permite que los animales vuelvan a dormir, normalmente, aumenta la cantidad de sueño REM respecto a los niveles basales. Pues bien, las lesiones bilaterales del PPTg con ácido iboténico bloquean este efecto rebote, a pesar de no alterar el SP normal; y estos efectos correlacionan positivamente con la pérdida de células diaforas-positivas en la región del PPTg (Deurveilher y Hennevin, 2001). Además estas lesiones también inducen algunos cambios a largo plazo, más sutiles, en la potencia de las frecuencias del EEG, particularmente en el rango theta (~5-9 Hz) (Winn, 1998); así como una disminución de las ondas del sueño lento y una elevación de las ondas delta frontales durante el autoacicalamiento ("grooming") del animal (Kleiner y Bringmann, 1996). Esto no es de extrañar si tenemos en cuenta que el PPTg es uno de los lugares más efectivos para la elicitación de ondas theta septohipocampales con carbacol (Vertes y cols., 1993); que, por otra parte, aparecen durante el sueño REM, cuando se está realizando actividad motora voluntaria y mientras tienen lugar procesos cognitivos (por ejemplo durante el olfateo exploratorio); y que la estimulación del pedunculopóntico induce un aumento de la actividad locomotora, olfateo y autoacicalamiento (Kleiner y Bringmann, 1996).

En relación a la privación de sueño, se ha encontrado que ésta afecta a la transmisión colinérgica y que altera la respuesta de las drogas colinérgicas; no obstante, la privación debe ser de 24 h o más para que se observen estos efectos. Por otra parte, los antagonistas muscarínicos administrados tras la privación reducen también el efecto rebote del SP, y los inhibidores de la acetilcolinesterasa tienen el efecto opuesto (Deurveilher y Hennevin, 2001). Finalmente, se ha encontrado un incremento en la expresión de c-fos en las neuronas colinérgicas del LDTg/PPTg asociado al efecto rebote postprivación de SP (Deurveilher y Hennevin, 2001; Maloney y cols., 1999); por lo tanto, las neuronas colinérgicas del PPTg están implicadas en esta reacción de rebote.

2.2.1.2. Interacción entre los sistemas moduladores difusos y control del sueño y la vigilia

Los niveles de disparo de las neuronas del PPTg también se incrementan durante la vigilia, aunque no tanto como en el SP (Reese y cols., 1995b; Winn y cols., 1997). Las células colinérgicas pontomesencefálicas se hallan tónicamente activas durante este estado y, de este modo, provocan la despolarización de sus neuronas diana del tálamo, la SN-pc, el prosencéfalo basal y otras regiones (Inglis y Winn, 1995; Steckler y cols., 1994a). Es decir, el aumento de actividad del PPTg da lugar a dos condiciones tan diferentes como la vigilia y el sueño REM. Que el efecto de la activación de las neuronas del PPTg sea uno u otro parece depender de la interacción que establecen entre sí las neuronas de los sistemas moduladores difusos del tronco del encéfalo: el sistema colinérgico pontomesencefálico, el sistema noradrenérgico del LC y el sistema serotoninérgico del rafe. Asimismo, como veremos más adelante, el sistema histaminérgico hipotalámico también parece interactuar con los anteriores en el control del sueño y la vigilia.

Las aferencias colinérgicas del LC son excitatorias, las aferencias noradrenérgicas al PPTg y al LDTg son inhibitorias, y probablemente mediadas por el receptor α_2 , y los inputs serotoninérgicos provenientes de los núcleos del rafe reducen la actividad de las neuronas del complejo PPTg/LDTg y del LC. Las neuronas del LC y del rafe disminuyen su tasa de descarga antes del sueño REM y prácticamente se mantienen silenciosas durante el mismo. En cambio, la actividad de estas mismas neuronas aumenta durante la vigilia. Varios autores han postulado que esta falta de activación monoaminérgica durante el sueño REM podría desinhibir directa o indirectamente a las neuronas colinérgicas, y se ha demostrado que tanto la 5-HT como la NA podrían inhibir el disparo de las neuronas colinérgicas (Inglis y Winn, 1995; Leonard y Llinás, 1994; Luebke y cols., 1992; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Williams y Reiner, 1993; Winn y cols., 1997). Además, la administración periférica del agente anticolinesterásico eserina induce un estado de vigilia en el animal; no obstante, si previamente se ha provocado una disminución del nivel de NA y 5-HT, la administración de eserina produce SP. Asimismo, la inactivación temporal del rafe dorsal o del LC inducida por criolesión cuando el sujeto está despierto da lugar a episodios reversibles y repetidos de ondas PGO y sueño REM (Reese y cols., 1995b).

A continuación se presenta un diagrama en donde aparecen representadas las posibles interacciones entre el complejo PPTg/LDTg, el LC, y el núcleo del rafe.

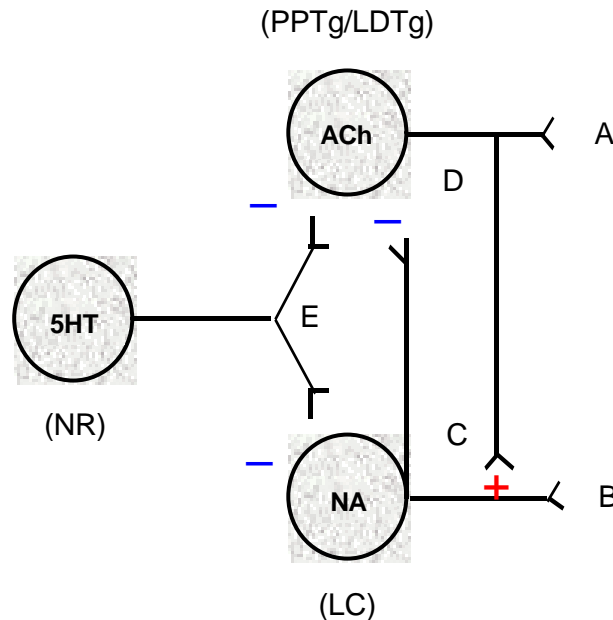


Fig. 4. Diagrama de los circuitos de los elementos básicos del SRAA. Las neuronas colinérgicas del PPTg y del LDTg proyectan a través de la vía A a estructuras ascendentes y descendentes. Las células noradrenérgicas del LC proyectan mediante su eferencia B a dianas ascendentes y descendentes. Los inputs colinérgicos a las neuronas noradrenérgicas son excitatorios (C), mientras los inputs noradrenérgicos inhiben las neuronas colinérgicas (D). Las neuronas serotoninérgicas de los núcleos del rafe (NR) envían sus inputs inhibitorios al PPTg/LDTg y al LC (E) (de Reese y cols., 1995b).

Por su parte, Peter Reiner y sus colaboradores (Inglis y Winn, 1995; Kamondi y cols., 1992) propusieron una hipótesis basándose en el examen de las neuronas colinérgicas del LDTg. Esta hipótesis enfatiza la posición privilegiada de estas neuronas para integrar la actividad del sistema reticular activador con el flujo de salida de los ganglios basales, e influir, así, de una manera fásica en el estado talámico. Estos autores destacan que los sistemas que usan NA, 5-HT e histamina liberan estos neurotransmisores tónicamente durante la vigilia, despolarizando a las neuronas talámicas y manteniendo un EEG desincronizado. Estos mismos sistemas de neurotransmisión también hiperpolarizan a las neuronas colinérgicas del LDTg y el PPTg, de tal manera que éstas últimas, durante la vigilia, no pueden enviar un input tónico al tálamo, pero sí que pueden ser capaces de disparar ráfagas cortas de potenciales de acción. Reiner y sus colaboradores también

remarcaron que durante el sueño REM esta situación se revierte y las neuronas noradrenérgicas del LC y serotoninérgicas del rafe se muestran silenciosas, permitiendo que las células colinérgicas muestren una activación tónica capaz de inducir una despolarización sostenida del tálamo y una desincronía cortical (Inglis y Winn, 1995; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Steckler y cols., 1994a; Winn, 1998 y Winn y cols., 1997).

Por otra parte, Koyama y cols. (1994) han encontrado que las neuronas del LDTg que presentan espigas amplias ("broad-spike") (supuestamente colinérgicas) son heterogéneas en cuanto a sus propiedades de respuesta a la estimulación sensorial (somatosensorial, visual o/y auditiva) y por lo que se refiere a su comportamiento durante el ciclo sueño-vigilia; un grupo de ellas está muy activo durante el SP e inactivo durante la vigilia, y otro grupo dispara sobretodo durante el SP y la vigilia, y no tanto durante el SOL; además, aproximadamente una cuarta parte de ellas aumentan o disminuyen su tasa de respuesta tónica ante la estimulación sensorial como un reflejo de la elevación del nivel de vigilancia inducida por la estimulación, mientras que dos tercios de las células responden fásicamente, pero difieren en función de su atenuación ante la repetición de un estímulo. Estas células colinérgicas conjuntamente con las neuronas noradrenérgicas del LC y serotoninérgicas del rafe contribuirían a mantener y regular el "arousal"; ya hemos dicho que las células del LC y del rafe se mantienen activas durante la vigilia y silentes durante el SP, pero además el LC tiene respuestas fásicas (más lentas que las colinérgicas) que tienden a adaptarse ante la repetición de los estímulos. Por otra parte, la mayoría de las neuronas del LC y también muchas colinérgicas del LDTg incrementan su disparo dependiendo del estado de activación del animal; por ejemplo, aumentan su actividad ante un input sensorial visceral si se observan ondas lentas en el EEG, y no cuando la actividad cortical está menos deprimida (Kayama y Koyama, 1998). En conjunto, el LDTg parece tener un papel importante en la inducción y mantenimiento del sueño REM, y en la producción rápida y transitoria de una elevación en la vigilancia en respuesta a un estímulo nuevo, no familiar, o importante para la supervivencia o adaptación del individuo, para afrontar una situación inusual aguda. Quizás las neuronas del PPTg, que establecen un contacto íntimo con el LDTg, que reciben múltiples inputs sensoriales, que conectan recíprocamente con el LC y el rafe, y que también se diferencian en función de sus propiedades de respuesta, podrían actuar de manera similar.

De hecho, algunos trabajos electrofisiológicos sugieren que las neuronas del PPTg también se pueden dividir en neuronas que descargan preferentemente durante el sueño REM ("REM-on neurons") y otras que lo hacen tanto durante la vigilia como en el SP ("Wake/REM-on neurons") (Kayama y Koyama, 1998; Thakkar y cols., 1998). Estos mismos autores han estudiado la respuesta de estas células a la perfusión por microdiálisis de un agonista selectivo 5-HT_{1a}, y han hallado que este fármaco suprime selectivamente la actividad de las "REM-on neurons" y no tiene apenas efecto sobre el otro tipo de neuronas.

Por otro lado, se piensa que la hiperpolarización de las neuronas tónicamente activas del PPTg/LDTg inhibiría el "arousal" cortical, mientras que la hiperpolarización de la población de neuronas que presentan espigas de calcio de bajo-umbral contribuiría al modo de disparo en ráfagas y a las ondas PGO típicas del SP. Estas respuestas parecen estar mediadas por la 5-HT, el GABA, la ACh, los opiáceos, la adenosina, y la NA (Rye, 1997); y podrían provenir del rafe, del LC, de la amígdala, del hipotálamo, del pálido, etc. La histamina y el glutamato, en cambio, han sido propuestos como neurotransmisores excitatorios de esta zona pontina. No obstante, se conoce muy poco la fuente nuclear de estos transmisores y los tipos celulares específicos de la región del PPTg con los que éstos están en contacto sináptico (colinérgico versus no colinérgico, tónicamente activo versus rafagado) (Rye, 1997). Pero, como hemos comentado en el apartado 2.1.2., las aferencias glutamatérgicas podrían proceder del PPTg contralateral, del LDTg, del STn, del núcleo dentado, y quizás también de córtex frontal; mientras que las histaminérgicas es posible que tengan su origen en el hipotálamo posterior. Lin y cols. (1996) han postulado que las aferencias descendentes histaminérgicas provenientes del hipotálamo posterior promoverían la desincronización y la vigilia, al menos parcialmente, mediante la activación de los receptores H₁ situados en las neuronas colinérgicas de varios núcleos del tegmento mesopontino.

En resumen, la supresión de eventos relacionados con el SP, tales como las ondas PGO y la atonía muscular durante la vigilia, podría ser resultado de la influencia monoaminérgica sobre las neuronas mesopontinas colinérgicas. La falta de actividad en tales sistemas monoaminérgicos durante el SP podría permitir la desinhibición de las neuronas colinérgicas responsables de la mediación de estos sucesos. Además, el PPTg, el núcleo del rafe y el LC, podrían actuar conjuntamente para controlar la activación cortical durante la vigilia (Inglis y Winn, 1995; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Steckler y cols.,

1994a; Winn, 1998; y Winn y cols., 1997); la NA del LC a través de su influencia excitatoria sobre el tálamo activaría el nivel de vigilancia con respuestas sensoriales fásicas pero más lentas y duraderas que las colinérgicas, como un sistema activador tónico; las proyecciones serotoninérgicas tendrían efectos inhibitorios sobre el tálamo, quizás filtrando determinados estímulos; y las aferencias colinérgicas se comportarían como un sistema activador más bien fásico y rápido, que elevaría el "arousal" en respuesta a la estimulación sensorial, posiblemente bajo determinados estados internos del sujeto. No obstante, no se pueden obviar los efectos que tienen otras sustancias neuroactivas en el PPTg y/o sobre otros componentes del SRAA en el control de la activación cerebral.

Aún así, quedan muchas preguntas por contestar: ¿la inhibición de las neuronas colinérgicas por el input aminérgico es tónica o fásica?, ¿qué papel juegan los inputs estriatales en determinar los patrones de descarga de las neuronas del PPTg?, ¿el flujo colinérgico está modulado durante el estado de vigilia por condiciones psicológicas y/o conductuales?, si es así, ¿cómo y bajo qué condiciones en concreto se realiza esta modulación?.

2.2.1.3. La respuesta de alarma

El PPTg está implicado en la respuesta de alarma que se produce ante situaciones inesperadas. Esta respuesta consiste en una serie de movimientos musculares de corta latencia (aprox. 5 mseg. cuando se registran desde la musculatura dorsal del cuello y 8 mseg. desde las patas, en mamíferos), que son elicitados por un estímulo súbito e intenso. La estimulación sensorial más efectiva en mamíferos es la auditiva y en muchas especies de pájaros la visual. Existe una amplia literatura sobre los mecanismos neurales de este tipo de respuesta, así como su adecuación como una medida de habituación, inhibición prepulso, sensibilización u otras formas de plasticidad neural.

Básicamente, el circuito primario de la alarma acústica consiste, según el orden de activación, en el núcleo coclear posteroventral, los núcleos dorsal y ventral del lemnisco lateral, el núcleo reticularis pontis caudalis, las fibras reticuloespinales y las motoneuronas de la médula espinal (Davis y cols., 1982; citados en Koch y Schnitzler, 1997 y en Reese y cols., 1995b). No obstante, otras regiones más superiores también estarían implicadas en la modulación de este circuito (Koch y Schnitzler, 1997).

Se han registrado ondas PGO (supuestamente generadas por el PPTg) elicítadas por estímulos auditivos de alarma tanto durante el sueño sincronizado como durante el SP, en gatos. Se ha postulado que las ondas PGO podrían constituir respuestas neurales a estímulos internos alarmantes o activadores durante el sueño, indicando que la misma red neural implicada en producir la respuesta de alarma estaba siendo activada en la producción de ondas PGO (Reese y cols., 1995b). Por otra parte, las lesiones electrolíticas del tegmento pontino dorsolateral inducen un estado de SP sin atonía muscular. En estas condiciones, los estímulos fueron capaces de inducir la respuesta de alarma en todos los estados de sueño-vigilia, incluido el SP; por lo tanto, estas manipulaciones desinhiben esta respuesta durante el sueño REM; lo cual sugiere que las conexiones troncoencefálicas involucradas en la respuesta de alarma están moduladas por aquellas que median la atonía del SP (Wu y cols., 1990; Reese y cols., 1995b). Por otra parte, Swerdlow y Geyer (1993) han encontrado que la lesión del PPTg aumenta la magnitud de la respuesta de alarma basal.

A pesar de que las estructuras implicadas en el circuito primario de alarma descrito por Davis, específicamente el lemnisco lateral y el núcleo reticularis pontis caudalis, poseen conexiones anatómicas con el PPTg, las relaciones fisiológicas de este núcleo con la vía primaria acústica de alarma permanecen oscuras. No obstante, hay datos que sugieren que el PPTg está relacionado con la habituación de esta respuesta.

La reacción de alarma puede ser atenuada mediante la presentación previa de un estímulo débil advertidor. Este fenómeno, denominado “inhibición prepulso”, no puede estar mediado conscientemente porque el intervalo entre el prepulso o estímulo advertidor y la alarma es demasiado corto (30-500 mseg.) (Inglis y Winn, 1995), por lo tanto, las estructuras responsables habrán de ser subcorticales. De hecho, la estimulación de áreas mesencefálicas antes de la presentación del estímulo inhiben este reflejo de alarma (Li y cols., 1998; Fendt y cols., 2001).

La existencia de una relación entre la respuesta de alarma, su modulación y el PPTg está basada en diversas evidencias. Primero, en el PPTg se han registrado potenciales evocados auditivos que ocurren en conjunción con la respuesta de alarma provocada por estímulos acústicos (Ebert y Ostwald, 1991). Segundo, los datos electrofisiológicos sugieren que este núcleo puede estar directamente implicado en la inhibición muscular del reflejo después del prepulso (Kelland y Asdourian, 1989); y tercero, tanto las lesiones de la

formación reticular pontina como del PPTg, salvo en algunos trabajos (Wu y cols., 1990), atenúan o abolen la inhibición prepulso (Fendt y Koch, 1999; Inglis y Winn, 1995; Koch y cols., 1993; Koch y Schnitzler, 1997; Kodosi y Swerdlow, 1997; Leitner y cols., 1981; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997; Swerdlow y Geyer, 1993; Winn, 1998), y sugieren que el efecto de las lesiones del PPTg sobre la inhibición prepulso estaría mediado por la desaparición de las fibras colinérgicas descendentes del PPTg que viajan a la porción caudal del núcleo reticular pontino y estimulan los receptores muscarínicos de esta región, aunque la falta de selectividad neuroquímica de las lesiones no permite concluir que no haya también participación de neuronas no colinérgicas (Leumann y cols., 2001).

Cabe destacar que las manipulaciones de otras estructuras cerebrales (incluso corticales); como el córtex prefrontal medial, el estriado caudodorsal, el ATV, el área septal medial, el hipocampo, la amígdala, el núcleo accumbens, el pálido ventral, los colículos, el núcleo geniculado medial y el núcleo coclear; que también se ha observado que afectan la inhibición prepulso, podrían influir directa o indirectamente en el PPTg, que parece ser un punto final común de output para este tipo de fenómeno, lo que permitiría explicar sus efectos (Koch y Schnitzler, 1997). Por tanto, en general se considera que el PPTg no estaría implicado en la respuesta de alarma en sí, sino en su modulación.

2.2.1.4. El potencial P1

Otro evento electrofisiológico relacionado con la actividad de las neuronas del PPTg es el potencial P1. En 1938 se describió una respuesta eléctrica, posteriormente llamada por Davis (1939), citado en Reese y cols. (1995b), el “efecto-on”, que se registra principalmente desde electrodos situados en el vértex del cuero cabelludo en humanos y que aparece durante la vigilia en respuesta a la estimulación auditiva. Ese mismo año fue registrada una respuesta evocada auditiva similar, pero que se daba durante el SP, y que se denominó complejo-K. El “efecto-on” y el complejo-K muestran una latencia similar a la respuesta evocada auditiva P1 registrada por Buchwald y cols. (1986), citados en Reese y cols. (1995b). Esta última respuesta muestra una reducción en su amplitud, y finalmente desaparece, tras las inyecciones endovenosas del antagonista colinérgico escopolamina; efectos que se revierten con la inyección del agonista colinérgico fisostigmina (Buchwald y cols., 1991; Reese y cols., 1995b). Este P1 se han comparado con otros potenciales evocados auditivos registrados en una variedad de especies animales como el mono, el gato (onda A), la rata (potencial P13), y el cobaya.

Basándose en las características de la respuesta del potencial P1, Buchwald y cols. (1981), han propuesto que esta respuesta, así como sus correlatos animales, se genera en el SRAA. Se ha encontrado correlación entre la amplitud de la onda A y la pérdida de células colinérgicas del PPTg, pero no del LDTg (Harrison y cols., 1990; Reese y cols., 1995b). Además, los experimentos con gatos y ratas descerebrados (una preparación que permite eliminar las influencias corticales, estriatales, talámicas e hipocampales) mostraron la presencia en y alrededor del PPTg de un potencial evocado auditivo parecido al P1. También se registró en el PPTg un potencial evocado somatosensorial de latencia similar al auditivo (Reese y cols., 1995b). Además, se han hallado numerosas neuronas colinérgicas del PPTg que responden a la estimulación auditiva (Reese y cols., 1995a).

Cabe mencionar, por último, que Bringmann (1995b) ha encontrado que las lesiones del PPTg unilaterales, en ratas, acortan la latencia del potencial evocado visual del lado lesionado, al igual que lo hace la fisostigmina, y que este efecto se observa cuando el animal está realizando comportamientos que implican un cierto grado de activación o "arousal", sobretodo cuando el animal está olfateando de manera exploratoria, pero no aparece cuando el animal está en estado de SOL u otros estados de baja excitación cortical; ello indica la existencia de un mecanismo muscarínico en el pedunculopónico tegmental que ipsilateralmente retrasaría la latencia de esta respuesta electrofisiológica evocada visualmente en estados de "arousal" altos y moderados. Además, Miyazato y cols. (1999) han demostrado que el potencial evocado visual P13 y su habituación pueden ser modulados por la activación de conocidas sinapsis inhibitorias, GABAérgicas y noradrenérgicas, a nivel del PPTg.

Estos resultados sugieren que las neuronas del PPTg participan en el procesamiento de la información sensorial presumiblemente relacionada con el "arousal", y que contribuyen a la manifestación y modulación de los potenciales evocados elicitados por determinados estímulos auditivos, visuales, y probablemente también somestésicos.

2.2.2. Motricidad

El PPTg también se ha implicado anatómica y funcionalmente en el control motor. Diversos autores postulan que este núcleo forma parte de la *región mesencefálica locomotora (RML)*; una área cerebral funcionalmente definida, localizada en el

mesencéfalo posterior, y cuya estimulación elicitada en animales descerebrados (gatos, ratas, y monos) locomoción coordinada controladamente, es decir un tipo de marcha en la que el progresivo incremento en la frecuencia de estimulación aumenta la frecuencia de la respuesta locomotora: deambulación lenta, trote y galope (Eidelberg y cols., 1981; García-Rill, 1991; García-Rill y Skinner, 1987a,b; Inglis y Winn, 1995; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b; Skinner y García-Rill, 1984; Steckler y cols., 1994a).

De todos modos, la localización exacta de la RML no está nada clara. Skinner y García-Rill (1984) situaron esta región, en la rata, en la parte lateral del CnF y en las porciones anterior y lateral del PPTg; y señalaron que la estimulación de estas mismas zonas en el gato, con excepción de la parte anterior del PPTg, también induce locomoción. Las reconstrucciones histológicas de investigaciones posteriores revelaron que los lugares inductores de locomoción óptimos se encontraban dentro de la masa neuronal colinérgica del PPTg-pc (García-Rill y cols., 1990; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b). No obstante, algunos autores (Inglis y Winn, 1995; Rye, 1997) han indicado que las neuronas no colinérgicas de la “pars dissipata” del PPTg (que constituirían también el AME, ver punto 2.1.1.) podrían ser uno de sus componentes, al menos en la rata; ya que la RML y esta zona del PPTg están localizados en la misma región general pontina, ambos lugares tienen proyecciones descendentes hacia la médula espinal, y el PPTg-pd constituye un foco de conectividad extrapiramidal. Pero, además, diversos datos electrofisiológicos, anatómicos y de inducción de c-fos, han sugerido que la RML podría estar localizada en el CnF más que en el propio PPTg (Inglis y Winn, 1995; Steckler y cols., 1994a). Sin embargo, ni la lesión bilateral excitotóxica del PPTg ni del CnF parecen alterar la locomoción espontánea ni la inducida por la estimulación con d-anfetamina intraccumbens (Allen y cols., 1996).

Por otro lado, la estimulación química mediante inyecciones de varias sustancias neuroactivas (por ejemplo, antagonistas GABA y NMDA) en el PPTg induce marcha en animales descerebrados (Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b;), mientras que la aplicación intracerebral en este núcleo de agonistas colinérgicos y gabaérgicos disminuyen la locomoción (Pahapill y Lozano, 2000). Es importante señalar también, que la estimulación de este núcleo además de producir locomoción, incrementa el olfateo y el autoacicalamiento (Kleiner y Bringmann, 1996), y da lugar a una activación

cardiorespiratoria (Thornton y cols., 2002); lo que sugiere la implicación del PPTg en un mecanismo de respuesta motora y autonómica unificado.

Milner y Mogenson (1988) localizaron 43 zonas de la región mesopontina cuya estimulación eléctrica elicita locomoción. Veintiséis de estas zonas se localizaban en el CnF o las porciones adyacentes dorsales o mediales del PPTg posterior, mientras que las restantes 17 correspondían a regiones del DpMe. Asimismo, de 26 lugares cuya estimulación química inducía locomoción, dieciséis estaban localizados en el CnF o inmediatamente adyacentes al PPTg, siete fueron localizados en el DpMe y tres en el colículo superior. Por otro lado, la estimulación eléctrica utilizada en este estudio se produjo por corrientes relativamente altas ($107 \pm 9 \mu\text{A}$) y las actividades locomotoras observadas incluían saltos, levantamientos, locomoción hacia atrás y elementos de conducta defensiva. Estas observaciones sugieren que la estimulación no afectó a la locomoción normal “per se”, sino a un complejo de conductas. A favor de esta conclusión, está también el hecho de que la estimulación directa del CnF con 50 mM de glutamato genera conductas defensivas como congelación, lanzamiento y corrida rápida; y que las manipulaciones agudas para valorar el papel del PPTg en la locomoción pueden afectar a este núcleo. Además, para que se produzca locomoción después de la estimulación del PPTg o de otros lugares cercanos se requiere la aplicación de una estimulación continua de una frecuencia del orden de 20-60 Hz. Es decir, la locomoción no está producida por un estímulo simple, sino más bien por centenares de estímulos aplicados a lo largo de varios segundos. Parece ser, pues, que para que la estimulación del PPTg elicit locomoción ha de producir la activación concomitante de otras zonas posiblemente medulares y del tronco del encéfalo (Inglis y Winn, 1995; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b).

Por otro lado, cabe resaltar que existen otras regiones troncoencefálicas que tras ser estimuladas pueden dar lugar a actividad locomotora (Allen y cols., 1996; Reese y cols., 1995b). Sin embargo, ninguna de estas áreas pueden ser consideradas como específicas para la locomoción, ni individualmente imprescindibles para este tipo de conducta (Inglis y Winn, 1995; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b).

En definitiva, parece que existiría un sistema ampliamente distribuido que participa en la locomoción, aunque ciertas regiones estarían más implicadas en algunos aspectos de la modulación de este tipo de conducta. Cabe destacar que el CnF, adyacente al PPTg, podría haberse afectado en muchos de los estudios que manipulan el PPTg, y por lo tanto,

puede ser también responsable de los resultados encontrados en dichos experimentos; aunque esta posibilidad todavía resulta muy controvertida y autores como Rye o Pahapill y Lozano continúan incluyendo una parte del PPTg como un importante componente de la RML (Pahapill y Lozano, 2000; Rye, 1997). Lo que sí parece más claro es que tanto el PPTg como otras áreas capaces de inducir locomoción al ser estimuladas parecen ejercer un papel regulador sobre algunas funciones motoras.

Hemos de señalar también que la influencia moduladora del PPTg en la locomoción parece estar mediada por la activación de las vías reticuloespinales. García-Rill y Skinner (1987a,b) aportaron evidencias electrofisiológicas que muestran que aproximadamente la mitad de las neuronas del bulbo ventromedial reciben inputs del PPTg y una tercera parte de éstas últimas proyectan a la médula espinal. Estos autores también propusieron que la proyección descendente colinérgica hacia el bulbo ventromedial “disparaba” la locomoción, pero no necesariamente la mantenía.

Los registros extracelulares del PPTg antes, durante y después de episodios de locomoción ficticia en el gato descerebrado revelaron la presencia de tres poblaciones separadas de neuronas que manifestaban actividad rítmica relacionados con estos periodos motores en el animal (García-Rill y Skinner, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b). Una primera población de neuronas presentaba un patrón tónico de disparo durante los periodos de locomoción ficticia que disminuía en frecuencia o se detenía completamente cuando la marcha cesaba; estas neuronas fueron llamadas células “on”. Un segundo grupo de neuronas presentaba una descarga tónica cuyo ritmo se reducía a medida que aumentaban la frecuencia y amplitud de los pasos, y, en cambio, se incrementaba antes de finalizar éstos; éstas se denominaron células “off”. Finalmente, se identificó un conjunto de neuronas que presentaba un patrón de disparo en ráfagas durante estos periodos de deambulación y a las que se puso el nombre de neuronas “rafagadoras” o “bursters”. Se hipotetizó que las células “on” y “off” modulaban la duración del episodio de marcha, mientras las neuronas “rafagadoras” estarían implicadas en el control de la frecuencia de ésta (y posiblemente en su iniciación) (Reese y cols., 1995b). También se sugirió que el PPTg es una región ritmogénica y que está implicada en diferentes funciones que tienen la ritmicidad en común (Reese y cols., 1995b).

La mayoría de las neuronas “rafagadoras”, que podrían corresponderse con las neuronas no colinérgicas de tipo I descritas en el apartado 2.1.3., se localizan en áreas

dorsales y ventrales al PPTg; mientras que las células “on” y “off” tienen una localización dispersa dentro del PPTg y es posible que representen diferentes subtipos de las neuronas colinérgicas tipo II. Esto sugiere, otra vez, la existencia de un sistema distribuido regulador de la motricidad (Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b).

A pesar de que no se conoce el papel preciso de estas células, Pahapill y Lozano (2000) han especulado que las neuronas glutamatérgicas “rafagadoras” del PPTg-pd, que están sobretodo innervadas por neuronas GABAérgicas del GPi (y probablemente de la SN-pr) y que ofrecen los principales outputs del PPTg a la médula espinal, podrían ser importantes para la iniciación de movimientos programados; en cambio, las neuronas no rafagadoras, posiblemente colinérgicas del PPTg-pc, que releven información sensorial desde la médula espinal y proveen los principales inputs de vuelta al tálamo y a la SN-pc, podrían ser relevantes para el mantenimiento de la marcha.

Además de modular la locomoción, y, como se ha indicado en el apartado anterior, de mediar la atonía muscular durante el SP, el PPTg también juega un papel en la regulación del tono muscular postural (Inglis y Winn, 1995; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b; Steckler y cols., 1994a). La estimulación de alta frecuencia (>100 Hz) de este núcleo induce, en términos generales, una disminución del tono muscular, mientras que la estimulación de baja-media frecuencia (20-60 Hz) induce locomoción y aumenta el tono muscular (Lai y Siegel, 1990; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a); no obstante, igual que ocurre con la locomoción, la activación artificial de otras regiones mesencefálicas y pontinas también tiene efectos en el tono muscular. Por otro lado, la destrucción del PPTg provoca un aumento del tono muscular, mediado probablemente por una desinhibición tónica o fásica de la musculatura (Kelland y Asdourian, 1989; Steckler y cols., 1994a). Sin embargo, Kelland y Asdourian (1989) sólo observaron este último efecto cuando utilizaron ácido iboténico para inducir la lesión pero no con el uso de ácido quinolénico, que es más específico para las neuronas colinérgicas.

Por lo que se refiere a estudios con humanos, se ha publicado un caso en donde se describe la incapacidad para estar de pie y generar pasos después de una hemorragia en el tegmento mesencefálico posterior, y los autores indican que la causa de estos trastornos probablemente radique en la afectación del PPTg (Masdeu y cols., 1994).

2.2.2.1. Manipulaciones agudas del PPTg y conducta motora

Como hemos comentado, la estimulación eléctrica de baja-media frecuencia del PPTg elicit locomoción (García-Rill y cols., 1990; Inglis y Winn, 1995; Lai y Siegel, 1990; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b; Steckler y cols., 1994a); además, la estimulación química de este núcleo con NMDA (García-Rill y cols., 1990; Inglis y Winn, 1995; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Reese y cols., 1995b), glutamato (Brudzynski y cols., 1986) o kainato (Inglis y Winn, 1995; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a), sustancia P (García-Rill y cols., 1990; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a), o antagonistas del GABA (Brudzynski y cols., 1986; Inglis y Winn, 1995; Milner y Mogenson, 1988, Mogenson y Wu, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a) produce el mismo efecto. Sin embargo, algunos autores han encontrado que la administración de agonistas de los receptores no-NMDA provoca atonía muscular (Lai y cols., 1993; Reese y cols., 1995b). En cambio, la estimulación de alta frecuencia del PPTg induce una disminución del tono muscular (Lai y Siegel, 1990; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a).

La aplicación de agonistas colinérgicos o GABAérgicos en el PPTg suele producir una disminución en la conducta locomotora (Pahapill y Lozano, 2000); e incluso puede bloquear la locomoción inducida por NMDA o por la inyección de anfetamina intra-accumbens (Brudzynski y cols., 1986; García-Rill y cols., 1990; Pahapill y Lozano, 2000). Además, se ha encontrado que la infusión de ACh en esta región produce atonía muscular (Lai y cols., 1993; Reese y cols., 1995b). No obstante, la administración de carbacol puede inducir hipo o hiperactividad, dependiendo del lugar exacto de la inyección (Brudzynski y cols., 1988; García-Rill y cols., 1990; Mathur y cols., 1997; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a); y en el caso que disminuya la motricidad, el efecto puede ser bloqueado por agentes antimuscarínicos (atropina o escopolamina) pero no por antinicotínicos, lo que indica que el efecto de hipoactividad debida al carbacol se debe a los receptores muscarínicos (Pahapill y Lozano, 2000). Por otro lado, la administración de muscimol, un agonista del GABA, en el PPTg, inhibe la locomoción en ratas normales (García-Rill y cols., 1990; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000), y previene las estereotipias inducidas por apomorfina sistémica

(García-Rill y cols., 1990; Milner y Mogenson, 1988; Pahapill y Lozano, 2000; Steckler y cols., 1994a).

Por otra parte, la inactivación funcional del PPTg con procaína da lugar a una disminución de la actividad motora estimulada desde el núcleo accumbens con anfetamina o desde la región subpalidal por la inyección de picrotoxina; cabe destacar pero, que esta sustancia afecta además de las neuronas del PPTg a las fibras que pasan por éste (Inglis y Winn, 1995; Mogenson y cols., 1989; Mogenson y Wu, 1988; Steckler y cols., 1994a; Winn, 1998). Otros autores, como Condé y cols. (1998) han encontrado que la inactivación reversible farmacológica del PPTg, con microinyecciones unilaterales intracelulares de lidocaína o de un agonista del GABA en monos, producen un retraso en la detención de la ejecución de una tarea motora condicionada, sin que se dé un déficit puramente motor, sugiriendo una alteración en el proceso de selección del programa motor apropiado.

En referencia a las manipulaciones unilaterales del PPTg en animales normales, cabe decir, que éstas producen asimetrías motoras, asociadas con conducta de rotación y hemiparkinsonismo (Steckler y cols., 1994a). Así, las inyecciones unilaterales de agonistas del GABA en este núcleo inducen rotación contralateral y asimetría contraversiva postural, y la administración de antagonistas GABAérgicos tiene el efecto contrario (Childs y Gale, 1984; Steckler y cols., 1994a). La excitación del pedunculopónico tegmental mediante pequeñas cantidades de ácido kaínico produce rotación ipsiversiva, que se bloquea con haloperidol y α -metil-tirosina (un bloqueador de la tirosina hidroxilasa), apuntando a una interacción entre el PPTg y los sistemas dopaminérgicos.

2.2.2.2. Lesión del PPTg y motricidad espontánea

Las lesiones bilaterales del PPTg en ratas no parecen producir déficits importantes en la actividad locomotora espontánea. La afectación bilateral con ácido iboténico no altera de manera significativa la actividad espontánea de los animales en campo abierto (Fujimoto y cols., 1990; Kessler y cols., 1986; Podhorna y Franklin, 1998, 2000), corredor circular (Dellu y cols., 1991) o jaulas dotadas de fotocélulas (Homs-Ormo, comunicación personal; Inglis y cols., 1994a, 1994b), no hallándose tampoco déficits motores en una batería neurológica (Kessler y cols., 1986).

Sin embargo, algunos autores han encontrado sutiles anomalías motoras (aumento del tono muscular y alteraciones en la extensión de las patas y en reflejos de

enderezamiento postural) en animales lesionados con NMDA, anomalías que podrían ser reflejo de la afectación de las conexiones vestibulares del pedúnculo cerebeloso superior adyacente al PPTg, ya que las excitotoxinas pueden producir desmielinización (Olmstead y Franklin, 1994). Estos déficits en los movimientos extensores de las patas también se han detectado tras la lesión unilateral con ácido quinolénico, pero no con ácido iboténico; los animales tenían dificultades para ejecutar este tipo de movimientos con el objetivo de alcanzar un objeto, pero no para agarrarlo (movimiento de prensión) (Dunbar y cols., 1992; Steckler y cols., 1994a).

Y Buscher y cols. (1989) han observado que la destrucción unilateral por radiofrecuencia del PPTg da lugar, inmediatamente después de la recuperación de la anestesia, a anomalías en los reflejos de flexión y enderezamiento, así como a alteraciones en el tono muscular extensor de las extremidades; efecto que no se vio tras la lesión unilateral con NMDA cuando los animales se despertaron de la intervención.

En un trabajo realizado en nuestro laboratorio (Homs-Ormo, 2000) las lesiones bilaterales del PPTg, tanto electrolíticas como realizadas con ácido iboténico, no afectaron sustancialmente a la motricidad espontánea (entradas en brazos cerrados de un laberinto elevado en cruz, y deambulación en campo abierto) de los animales valorada 14 días después de la lesión. Y Alderson y cols. (2000) tampoco han encontrado diferencias en cuanto a entradas en los brazos cerrados del laberinto elevado en cruz (EPM) entre ratas "sham" y ratas con afectaciones bilaterales excitotóxicas en el pedunculopontico.

Además, se ha descrito que los animales con lesiones en el PPTg no manifiestan alteraciones en el consumo de comida y agua (Inglis y cols., 1994a; Inglis y Winn, 1995; Steckler y cols., 1994a; Winn, 1998); no se caen más que los controles y se acicalan con normalidad (Inglis y cols., 1994b; Inglis y Winn, 1995; Olmstead y cols., 1998; Winn, 1998), lo que sugiere que estos animales no presentan déficits motores significativos.

Müller y Klingberg (1986) hallaron un aumento en diversas medidas de actividad motora en el campo abierto, pero sin alteraciones concomitantes en respuestas reflejas ni en otros tests neurológicos. Los autores sugirieron que ello podía apuntar a un papel del PPTg en la inhibición y la habituación.

Cabe mencionar, pero, que las lesiones unilaterales y bilaterales del PPTg en monos, a diferencia de lo que ocurre en ratas, sí parecen tener efectos motores relevantes, como

bradicinesia (Aziz y cols., 1998; Munro-Davies y cols., 2001; Pahapill y Lozano, 2000) y hemiparkinsonismo (Kojima y cols., 1997). Sin embargo, estos trabajos han utilizado lesiones de radiofrecuencia, que destruyen las vías de paso, o lesiones con ácido kaínico, que suele inducir lesiones muy extensas, por lo que no puede descartarse que estos efectos sean atribuibles a la inespecificidad y extensión del daño neuronal. De todos modos, no puede descartarse que haya diferencias entre especies que explicaran las discrepancias entre los estudios con roedores y los resultados hallados en monos; así como diferencias entre experimentos en referencia al tiempo que pasa desde que se realiza la lesión y se valora sus efectos.

2.2.2.3. Efectos de las lesiones del PPTg sobre la motricidad condicionada y sobre la conducta motora inducida por drogas

Como hemos visto, la lesión del PPTg no tiene efectos relevantes sobre la motricidad espontánea de los animales. En cambio, las manipulaciones agudas en el neocórtex o la administración de determinados fármacos sí que suelen acompañarse de efectos motores en animales con el PPTg lesionado.

Así, la administración en el caudado-putamen de dosis moderadas de d-anfetamina o de otros agonistas dopaminérgicos provoca estereotipias en animales de control. Estos efectos se ven potenciados por la lesión bilateral del PPTg (Allen y Winn, 1995; Inglis y Winn, 1995; Winn, 1998; Winn y cols., 1997). Además, la administración sistémica de esta droga, que no provoca estos efectos conductuales en animales normales, sí los tiene en ratas con lesiones bilaterales de ácido iboténico en el PPTg a dosis de 3-5 mg/Kg (Inglis y cols., 1994a; Inglis y Winn, 1995).

Sin embargo, algunos estudios han encontrado que la lesión unilateral del PPTg por kainato bloquea la locomoción inducida por d-anfetamina intra-accumbens ipsilateral (Brudzynski y Mogenson, 1985; Inglis y Winn, 1995), y que la lesión bilateral con ácido iboténico también tiene el mismo efecto sobre la motricidad inducida por anfetamina subcutánea (Bechara y van der Kooy, 1992c; Inglis y Winn, 1995). Sin embargo, estos resultados, que no se han confirmado en estudios posteriores (Inglis y cols., 1994a; Inglis y Winn, 1995; Olmstead y Franklin, 1994), podrían ser cuestionables por cuestiones metodológicas (insuficiente recuperación de los animales, uso de periodos de observación demasiado cortos, etc.). Por otra parte, el efecto de la administración de anfetamina en

animales con lesión unilateral del PPTg varía en función del tipo de excitotoxina utilizada (Dunbar y cols., 1992; Steckler y cols., 1994a).

La administración de apomorfinas sistémicas induce rotación lenta contralateral a la lesión en animales con lesión unilateral del PPTg (García-Muñoz y cols., 1982; Steckler y cols., 1994a), pero en cambio, no bloquea la marcha en animales con lesión bilateral (Inglis y cols., 1994a). Por otro lado, la respuesta hipersensible a la apomorfinas en ratas con el accumbens lesionado por 6-OHDA no se afecta por la lesión del PPTg, pero sí por la destrucción del tálamo dorsomedial (Swerdlow y Koob, 1987; Winn y cols., 1997).

La locomoción condicionada también se ve afectada por la lesión del PPTg. Así, en un estudio de Bechara y van der Kooy (1992c) se midió en ratas la locomoción en los 2 min. previos a una inyección de morfina durante varios días consecutivos, y se observaron incrementos de la actividad locomotora en la primera sesión de condicionamiento en animales controles “sham” que fueron bloqueados en animales con lesiones pre-entrenamiento del PPTg con ácido iboténico.

2.2.2.4. Conclusión

Parece pues, que el núcleo PPTg conjuntamente con otras estructuras actuaría como un modulador de la conducta motora y del tono muscular, tal y como indican las manipulaciones agudas de este núcleo y los registros electrofisiológicos. En el PPTg hay una compleja interacción de influencias y sistemas de neurotransmisión; los inputs GABAérgicos podrían normalmente inhibir la locomoción, mientras que los efectos observados con la administración de excitotoxinas o procaína probablemente ocurren en los outputs excitatorios de esta misma zona del PPTg (Inglis y Winn, 1995).

Las manipulaciones unilaterales del PPTg producen asimetrías motoras, rotación y hemiparkinsonismo, apuntando a una posible interacción entre el PPTg y los sistemas dopaminérgicos. Las lesiones unilaterales del PPTg dan lugar a cambios neuroquímicos en núcleos talámicos motores, y también, aunque transitoriamente, en la actividad dopaminérgica del caudado-putamen pero no del núcleo accumbens (Jenkins y cols., 2002). No obstante, el PPTg no parece ser una estructura indispensable para el funcionamiento motor, al menos en ratas. Las lesiones bilaterales y unilaterales del PPTg no producen déficits importantes en la conducta motora espontánea ni parecen afectar la capacidad para presionar una palanca en tareas operantes o para realizar otras conductas motoras en

pruebas comportamentales, únicamente se han observado efectos sutiles como un aumento del tono muscular y problemas para ejecutar movimientos de extensión de las patas; por lo tanto, es poco probable que estas anomalías afecten el rendimiento en pruebas que no dependen de un control motor fino (Olmstead y Franklin, 1994).

Las discrepancias entre los resultados obtenidos en los estudios que manipulan agudamente el PPTg y los que lo lesionan podrían explicarse por la existencia de fenómenos de recuperación funcional que actuarían tras la lesión pero no tendrían tiempo de manifestarse en las intervenciones agudas (Inglis y Winn, 1995; Steckler y cols., 1994a; Winn y cols., 1997). Otro posible argumento sería, que debido a que en muchos de los trabajos las manipulaciones agudas se han llevado a cabo mediante inyecciones o estimulación eléctrica de la parte más posterior del PPTg (la más densamente poblada de neuronas), éstas operaciones podrían haber afectado al adyacente CnF, donde muchos estudios sitúan la RML (Inglis y Winn, 1995).

A diferencia de lo que ocurre en roedores, la lesión bilateral del PPTg sí da lugar a patología motora relevante en monos, aunque no está claro si estas discrepancias se deben a diferencias entre especies, al uso en primates de toxinas que inducen lesiones más extensas que las normalmente utilizadas en ratas, o a diferencias en el tiempo entre la lesión y la evaluación de sus consecuencias utilizado en los estudios.

Las lesiones del PPTg en combinación con manipulaciones del caudado-putamen o con la administración de Anfetamina o Apomorfina, producen alteraciones motoras, como estereotipias en el caso de lesión bilateral, y conducta de rotación u otras asimetrías cuando hay daño unilateral de este núcleo; pero en cambio, en general, no impiden la locomoción inducida por la administración de estas sustancias. El PPTg sí parece importante, en cambio, para inhibir estereotipias motoras orales. Finalmente, se han observado alteraciones importantes en tareas motoras condicionadas tras las lesiones bilaterales y la inactivación funcional unilateral de este núcleo. En general, el papel modulador del PPTg sobre la conducta motora parece estar mediado por las relaciones que establece este núcleo con los sistemas estriatales.

2.2.3. Motivación y recompensa

A partir de consideraciones anatómicas, el PPTg se ha relacionado también con la motivación y la recompensa. Así, este núcleo envía eferencias a regiones relacionadas con el sustrato neural del refuerzo y las emociones: hipotálamo lateral, SN, amígdala, área septal, NBM, determinados núcleos del tálamo, zona incerta, núcleo accumbens (el principal elemento del complejo estriatal ventral) y ATV. Además, recibe inputs desde muchas de estas regiones, como el núcleo accumbens, el hipotálamo lateral, el ATV, la amígdala, la zona incerta y la SN, así como también del pálido ventral, el núcleo del lecho de la stria terminalis, el núcleo del tracto solitario y el LDTg.

Es bien sabido que la depleción dopaminérgica de diferentes regiones prosencefálicas altera tanto las conductas consumatorias como las apetitivas dirigidas a la obtención de recompensas. Se ha observado que las neuronas del PPTg ejercen efectos excitatorios sobre las células dopaminérgicas de diferentes regiones cerebrales, y además, las lesiones de este núcleo parecen alterar estas conductas dopaminodependientes.

Como hemos indicado antes, el PPTg envía eferencias a la SN, y también al ATV. Los estudios de trazado indican, pero, que la SN-pc recibe principalmente inervación colinérgica de las células del grupo Ch5, mientras que la inervación colinérgica del ATV parece originarse principalmente en el grupo colinérgico Ch6 (LDTg) (Winn y cols., 1997).

Estos datos anatómicos son coherentes con los estudios funcionales. Así, la estimulación eléctrica del PPTg en ratas anestesiadas excita la SN-pc mediante una vía directa, probablemente colinérgica, activada ortodrómicamente, y también a través de una posible vía polisináptica corta en la que intervendría el STn y que produciría una excitación menos pronunciada y difusa, que posiblemente implica a neuronas no colinérgicas (Di Loreto y cols., 1992; Pahapill y Lozano, 2000; Scarnati y cols., 1984). Por otra parte, el aumento del flujo de DA en el estriado ventral (núcleo accumbens) inducido por la inyección de neostigmina, un agente anticolinesterásico, en el ATV, se atenúa considerablemente tras la lesión del LDTg, pero no tras la lesión del PPTg (Blaha y cols., 1996; Winn y cols., 1997); en cambio, las lesiones del PPTg reducen el flujo dopaminérgico en el caudado-putamen estimulado por inyecciones de neostigmina

administrada en la SN-pc (Blaha y cols., 1996; Winn y cols., 1997) y aumentan la respuesta a la inyección intranigral de nicotina, lo que supuestamente se debe al desarrollo de hipersensibilidad en los receptores postsinápticos de la "pars compacta" de la SN (Blaha y Winn, 1993; Winn y cols., 1997).

Aún así, no se debe minusvalorar la posible influencia del PPTg sobre el ATV; ya que parece ser que las neuronas colinérgicas de la parte caudal (zona compacta) del pedunculopónico proyectan bilateralmente hacia el ATV, mientras que las neuronas colinérgicas de la parte más rostral lo hacen principalmente hacia la SN (Lança y cols., 2000a; Oakman y cols., 1995). No obstante, Yeomans y cols. (1993), basándose en los trabajos de Jackson y Crossman (1983) y Woolf y cols. (1990), indican que la parte lateral (que incluye la "pars compacta") del PPTg es la que envía proyecciones unilaterales hacia la SN y la zona medial de este núcleo sería la que inerva el ATV.

Además, se ha comprobado que las neuronas del mesoaccumbens se excitan por las eferencias colinérgicas del PPTg, que actúan a través de la activación de receptores muscarínicos (Kelland y cols., 1993). Las neuronas dopaminérgicas de la SN y el ATV también se activan por las aferencias glutamatérgicas que se originan en este núcleo pontino y en el STn (Meltzer y cols., 1997; Lokwan y cols., 1999), e indirectamente, mediante la acción sobre estos dos núcleos anteriores, del córtex prefrontal medial (Lokwan y cols., 1999). Además, al menos en primates, las eferencias GABAérgicas desde el pedunculopónico podrían proporcionar un input inhibitorio a las neuronas de la SN, como se ha indicado en el apartado 2.1.4.2..

En cuanto al núcleo accumbens, diana de las proyecciones de la SN y el ATV, se sabe que 1) recibe directa e indirectamente mediante estas dos estructuras anteriores, información del PPTg; que, 2) ya sea a través del pálido ventral o directamente, envía eferencias al pedunculopónico tegmental; y 3) que incrementa su liberación de DA tras la activación de las neuronas del PPTg (Groenewegen y cols., 1996; Klitenick y Kalivas, 1994; Olmstead y cols., 1998).

Por otro lado, la amígdala y el hipocampo podrían ejercer un efecto indirecto, a su vez, sobre este núcleo troncoencefálico mediante su acción sobre el pálido ventral (Olmstead y cols., 1998; Tsai y cols., 1989); aunque la amígdala, además, puede hacerlo directamente, ya que tiene eferencias hacia el PPTg.

La conexión desde el PPTg al hipotálamo lateral también parece ser importante para la elicitación de conductas motivadas, y las lesiones del PPTg, en general, como se desarrollará más adelante, alteran comportamientos producidos por la estimulación del hipotálamo lateral, como la ingesta elicitada artificialmente por dicha estimulación y la autoestimulación eléctrica intracraneal.

Por otra parte, el PPTg también envía proyecciones al núcleo basal magno celular (NBM), el cual, aunque se ha relacionado principalmente con aspectos cognitivos, podría ser importante también para el procesamiento motivacional (Steckler y cols., 1994a), y quizás para las respuestas autonómicas que producen las emociones, ya que la proyección colinérgica desde el PPTg al NBM participa en la regulación cardiovascular (Lai y cols., 1999).

Dormont y colaboradores (1998) han encontrado que las células del PPTg disparan bifásicamente en respuesta a recompensas primarias o a estímulos condicionados predictores de éstas, o a ambas cosas; se activan rápidamente justo después del estímulo condicionado (EC) (un sonido), cuando los animales detectan por el ruido del aparato que va a caer el reforzador a través del dispensador de comida, y tras la entrega de la recompensa; pero esta excitación rápida es inhibida cuando la tarea es demorada, es decir, cuando se debe esperar un tiempo tras el EC para que la respuesta sea recompensada. Todo ello sugiere que el PPTg tiene un importante papel en la recompensa y en la expectativa de que ésta se dé, como la SN y el estriado ventral.

En general, el patrón de inervación ascendente del PPTg hacia el mesencéfalo y el prosencéfalo, así como los estudios electrofisiológicos, son consistentes con la noción de que estas neuronas están implicadas en la regulación de los procesos de “arousal” y activación, y que no únicamente lo hacen controlando la actividad talámica y cortical; sino también controlando la actividad de las neuronas que contienen DA y que proyectan al estriado, que además se han implicado en los aspectos cognitivos, emocionales, y conductuales, que subyacen al reforzamiento, la motivación y la recompensa tanto de reforzadores naturales como artificiales o condicionados.

2.2.3.1. Autoadministración de drogas y reforzadores positivos

A pesar de la relación del PPTg con el sustrato neural de la motivación y la recompensa, las lesiones de este núcleo con ácido quinolénico o ácido iboténico no afectan

la ingesta de comida de laboratorio ni la bebida de agua en condiciones normales (Dunbar y cols., 1992; Inglis y cols., 1994a; Inglis y Winn, 1995; Olmstead y cols., 1999; Steckler y cols., 1994a; Winn, 1998). Sin embargo, las neuronas colinérgicas del PPTg parecen afectar la conducta motivada a través de su acción en la SN, donde las fibras colinérgicas hacen contactos sinápticos con las dendritas de las neuronas dopaminérgicas; facilitando determinados comportamientos relacionados con la obtención de recompensas.

Se ha observado, en gatos, actividad relacionada con el reforzamiento, en algunas neuronas (supuestamente colinérgicas) del PPTg que presentan amplias espigas, y se ha especulado que esta actividad podría estar asociada con la proyección colinérgica de este núcleo hacia la SN-pc (Dormont y cols., 1998; Pahapill y Lozano, 2000). Las aferencias colinérgicas hacia la SN parecen ser importantes para elicitarse conductas motivadas por incentivos especialmente intensos. Por ejemplo, Winn y Redgrave (1979, 1981) y Winn (1991), inyectaron agonistas colinérgicos en la SN y observaron que estos tratamientos aumentaban el consumo de comida especialmente apetitosa (pero no de comida de laboratorio) y de soluciones edulcoradas (pero no de agua del grifo), así como la conducta sexual.

Las lesiones del PPTg parecen producir el mismo efecto que la inyección de agonistas colinérgicos en la SN si se les ofrece a los animales comida apetitosa o soluciones dulces; si además tenemos en cuenta que las lesiones del PPTg aumentan la respuesta a la inyección intranigral de nicotina, como hemos comentado anteriormente, todo ello sugiere que estos efectos conductuales podrían ser debidos al desarrollo de hipersensibilidad en los receptores postsinápticos de la SN-pc producida tras la lesión del PPTg.

Así, Keating y Winn (1996) hallaron que las ratas lesionadas en el PPTg sobreconsumen disoluciones de sucrosa en concentraciones altas cuando se les da oportunidad para ello. Olmstead y cols. (1999) hallaron resultados similares; no obstante, estos autores destacan que dichos efectos únicamente se producen cuando los animales lesionados están sometidos a restricción de comida y no cuando tienen libre acceso a ella. Por lo que se refiere al consumo de comida, Alderson y cols. (2000) han observado que las lesiones aumentaron el tiempo que los animales pasaban comiendo queso, que era una comida nueva para ellos, y disminuyeron el rato que invertían en ingerir comida de laboratorio, familiar para estos sujetos, sin que se alterara la latencia de inicio de la ingesta.

Sin embargo, Olmstead y cols. (1999) han encontrado que los animales lesionados tardaron más en acercarse a una botella que contenía una solución de sacarosa. Por otra parte, igual que se ha hallado una exagerada ingesta de concentraciones altas de sacarosa bajo condiciones de privación de comida, se ha demostrado como las preferencias condicionadas de lugar generadas usando varias disoluciones de diferentes concentraciones de sucrosa como un reforzador positivo no se afectan por las lesiones del PPTg (Alderson y cols., 2001; Keating y Winn, 1996; Winn, 1998). Además, Olmstead y cols. (1999) llegaron a la conclusión que la lesión excitotóxica del PPTg no afecta a la capacidad para discriminar la magnitud de la recompensa ni para autorregular la ingesta según el estado motivacional interno.

Por otro lado, la lesión electrolítica unilateral del PPTg facilita la ingesta de comida de laboratorio ("pellets") elicitada por la estimulación eléctrica del sistema mesolímbico a nivel del hipotálamo lateral/ATV, mientras que las lesiones bilaterales provocan o bien una disrupción o un aumento del consumo de alimento estimulado artificialmente de esta misma manera en función de la localización específica de la lesión (Trojniar y Staszewska, 1995). Ello sugiere que esta estructura troncoencefálica pertenece a un circuito que contiene elementos activadores e inhibidores que controlarían la conducta alimentaria y que podrían estar dirigidos por el ATV.

La inyección de carbacol en el PPTg, que tiene un efecto inhibitorio sobre la actividad colinérgica de este núcleo, disminuye el consumo de etanol y de una solución de sacarina de forma dosis-dependiente, en ratas seleccionadas genéticamente por su preferencia por el alcohol (lo que, en principio, es consistente con la hipótesis de que la actividad del PPTg es importante para que se mantenga la conducta consumatoria). No obstante, la administración de escopolamina, que estimula la actividad colinérgica del PPTg, también disminuye la ingesta de alcohol de manera dosis-dependiente sin reducir el consumo de la solución de sacarina, que incluso aumentó (Katner y cols., 1997) Además, la aplicación intra-ATV de metilescopolamina, un antagonista muscarínico, reduce la ingesta de alcohol y sacarina, mientras que la aplicación local de carbacol reduce el consumo de alcohol, pero aumenta el de la solución de sacarina, lo cual indica que el papel de las conexiones entre el PPTg y el ATV en la regulación de las conductas consumatorias puede variar en función del reforzador utilizado.

Por lo que se refiere a la autoadministración de drogas en jaulas operantes los resultados no son del todo consistentes; a veces la lesión incrementa esta conducta, en otros casos la disminuye, y en algunos estudios no la altera. Las manipulaciones farmacológicas del PPTg también presentan inconsistencias cuando se evalúan en estas tareas. Por ejemplo, Keating y cols. (1997) observaron que las ratas lesionadas muestran una conducta de autoadministración de d-anfetamina intravenosa más vigorosa que los animales de control. En cambio, Olmstead y cols. (1998) no observaron ningún efecto debido a la lesión del PPTg sobre la autoadministración de heroína en un programa de razón fija 1 en algunas de las ratas lesionadas con NMDA, mientras que otras ratas con lesiones idénticas no aprendieron a autoadministrarse la droga. Por otro lado, las ratas que sí respondieron a la heroína en programas de razón fija 1 mostraban un punto de corte (“breaking point”) más bajo cuando se incrementaba progresivamente la ratio de respuesta. Es decir, dejaban de responder en programas de razón más bajos que los animales control. Por otro lado, Robertson (1994), citado en Winn (1998), puso de manifiesto que las lesiones excitotóxicas bilaterales del PPTg reducían el punto de corte en un programa de razón progresiva en que se utilizaba comida como recompensa. A pesar de ello, las ratas lesionadas mostraban estar motivadas por la comida; fueron tan rápidas como los controles en recoger los “pellets” de comida ganados y en reanudar la presión de la palanca después de recoger la comida, y además, continuaron respondiendo (aunque inadecuadamente, ya que apretaban la palanca no reforzada) a medida que se iba incrementando el programa de reforzamiento. Y más adelante, Alderson y cols. (2002) han encontrado resultados similares después de lesionar el PPTg con ácido iboténico en ratas pre-entrenadas en una tarea de reforzamiento operante de razón progresiva; no obstante, en este caso las ratas lesionadas presentaron pausas postreforzamiento significativamente más largas que los sujetos controles.

Lança y cols. (2000a) hallaron una disminución de la autoadministración operante de nicotina tras la lesión bilateral del PPTg con AF64A y tras la inyección local de un antagonista nicotínico. En cambio, en otro trabajo no se ha hallado ningún efecto del mismo antagonista nicotínico sobre la autoadministración de cocaína (Corrigall y cols., 1999).

Mediante la técnica que mide la expresión de c-fos, se ha observado que la administración de nicotina activa primariamente a las neuronas GABAérgicas y

glutamatérgicas del PPTg (Lança y cols., 2000b). Corrigall y cols. (2001) hallaron que la microinyección intra-PPTg de agonistas gabaérgicos, como el muscimol o el baclofen, reducía la autoadministración de nicotina, pero no de cocaína, en ratas pre-entrenadas, lo que sugiere que los mecanismos GABAérgicos del PPTg podrían influir selectivamente en ciertos aspectos de la autoadministración de nicotina. En un estudio posterior, Corrigall y cols. (2002) observaron que las inyecciones intra-PPTg de agonistas colinérgicos (carbacol y neostigmina), y del agonista opioide μ DAMGO, que tienen efectos inhibitorios sobre el PPTg, así como la inactivación funcional con tetrodotoxina, reducen la autoadministración tanto de nicotina, como de cocaína, y este efecto se observa tanto en programas de razón fija como en programas de razón progresiva.

En cuanto a la autoadministración de alcohol, las microinyecciones de una dosis de muscimol de 300 ngr. en el PPTg antes de la autoadministración operante de etanol provocaron una interrupción de esta conducta (Samson y Chappell, 2001).

2.2.3.2. Condicionamiento de preferencia por un lugar

Antoine Bechara y Derek van der Kooy, basándose en sus estudios de preferencia condicionada por un lugar, que presentaremos a continuación, han hipotetizado que el PPTg constituye una región crítica para los efectos recompensantes tanto de drogas (sobre todo opiáceos y estimulantes) como de reforzadores naturales (por ej. comida o actividad sexual), especialmente en animales que no han estado en contacto previo con el reforzador (sujetos “naive”) y en situaciones de no-privación o no-abstinencia. El procedimiento estándar de este tipo de condicionamiento se lleva a cabo en un aparato compuesto por dos cajas, que difieren en color, textura, y olor, separadas por un compartimento estrecho gris; y consiste en aparear una de las cajas con una droga o recompensa natural y la otra con la ausencia de la recompensa o con una solución salina, contrabalanceando dentro de cada grupo de sujetos el lugar que será asociado al reforzador y el orden en que se realizan los ensayos de apareamiento del reforzador o del no-reforzador con la caja que corresponda; cuando se ha terminado el entrenamiento se deja que el animal deambule libremente por el aparato durante unos minutos y se mide el tiempo que invierte en cada una de las cajas.

Utilizando este procedimiento, Bechara y van der Kooy (1989), encontraron que las lesiones bilaterales excitotóxicas (ácido iboténico) pre-entrenamiento del PPTg bloquearon

la preferencia por un lugar inducida por morfina, anfetamina, y comida, en ratas "naive", pero no en ratas abstinentes de estas drogas o privadas de comida. No obstante, las lesiones post-condicionamiento (inducido por morfina) no afectaron a la retención. Además, se observó que las ratas lesionadas fueron todavía capaces de adquirir una preferencia por un ambiente apareado con el antagonista periférico opiáceo metilnaltrexona. En otro trabajo observaron que la preferencia por el lugar asociado con morfina desaparecía también en ratas dependientes de dicha droga y con lesión en el PPTg, mediante la administración de una sustancia que aliviaba el síndrome de abstinencia. En cambio, si los animales que habían tenido experiencia previa con la morfina se hallaban en síndrome de abstinencia, la lesión del PPTg no afectaba a la preferencia por un lugar (Bechara y van der Kooy, 1992b).

Como en estos primeros experimentos el procedimiento de preferencia por un lugar no permitía diferenciar si los animales iban al compartimento apareado con el reforzador por la capacidad incentivadora de éste o para evitar la otra caja asociada a la no-recompensa, en algunos estudios posteriores unos animales se condicionaron de esta forma tradicional pero otros fueron sometidos a un procedimiento distinto que permitía separar estos dos tipos de motivación. En este último caso, un grupo de sujetos se exponían únicamente a ensayos de apareamiento recompensa-caja, y otras ratas se entrenaban a asociar sólo privación/abstinencia-caja; posteriormente, se realizaba la fase de test, que consistía en dejar que los animales libremente escogieran estar más o menos tiempo en el compartimento anterior (emparejado a la recompensa o a la abstinencia/privación) y en una caja nueva para ellos (para la cual las ratas no presentaban una predilección de antemano). La lesión del PPTg causó una disrupción en la predisposición de los animales para pasar más tiempo en el lugar recompensado con comida o morfina (Bechara y van der Kooy, 1992a, Olmstead y Franklin, 1993), así como con heroína, que en el ambiente nuevo; pero únicamente se observó este efecto en los animales "naive" y en los saciados de comida, y no en los que eran dependientes o estaban privados de alimento, no viéndose afectada la evitación del lugar apareado con estímulos aversivos como la abstinencia o el hambre.

Bechara y van der Kooy (1992a) hallaron que los neurolépticos bloquean las preferencias por ambientes apareados con comida y morfina solamente cuando los animales se entrenaban en estado de privación o abstinencia para estas sustancias. Y en otro experimento el pretratamiento con antagonistas dopaminérgicos no deterioró las predilecciones creadas con una dosis de heroína que no producía abstinencia, y sí las

formadas con una cantidad de droga inductora de este estado aversivo tanto en animales controles como lesionados en el PPTg (Nader y cols., 1994). Por otra parte, Nader y van der Kooy (1994) entrenaron ratas "naive" para la morfina a asociar una caja con privación de comida y otro compartimento con privación + morfina, en el día del test los animales presentaron una preferencia para el lugar apareado con el hambre y la morfina; las lesiones del núcleo pedunculopónico tegmental no afectaron este tipo de condicionamiento, pero si lo hizo el pretratamiento con alfa-flupentixol, un neuroléptico. Estos resultados según los autores indican que la morfina puede sustituir los efectos motivacionales dopaminodependientes de la comida en animales privados de ésta. Asimismo, las lesiones del PPTg alteraron la adquisición de preferencias condicionadas para ambientes apareados con microinyecciones de morfina en la ATV en animales "naive" y asociados con morfina en animales recuperados de la dependencia, pero no en ratas abstinentes para esta droga; la administración de alfa-flupentixol tuvo el efecto opuesto a este patrón (Nader y van der Kooy, 1997). Además, las lesiones del PPTg no bloquearon los efectos aversivos de la naloxona en ratas "naive" a la morfina; y los neurolépticos impidieron la aversión condicionada de lugar producida por la naloxona y la abstinencia espontánea en ratas dependientes de morfina, pero no en animales "naive", sin atenuar el síndrome de abstinencia somático debido a la naloxona en ratas dependientes. Lo que sugirió que la aversión de la abstinencia de opioides endógenos en ratas "naive" estaba mediada por un sustrato neural diferente que los efectos desagradables de la abstinencia por opioides exógenos en ratas dependientes (Bechara y cols., 1995).

En base a estos resultados, Bechara y cols. (1998) y Bechara y van der Kooy (1992 a,b) sugirieron que podría haber dos corrientes de salida motivacionales paralelas pero separadas: una, que se haría evidente en ausencia de privación, y que depende de una ruta a través del PPTg, y otra, que se manifestaría en estado de privación y que sería independiente de este núcleo.

Sin embargo, en el laboratorio de Bechara y van der Kooy también se han encontrado datos que no apoyan esta teoría. Así, Por ejemplo, Stefurak y van der Kooy (1994) observaron que las lesiones del PPTg impedían la formación de las preferencias por el lugar asociado a una solución de sacarina, independientemente del estado de privación de los sujetos. Por otro lado, Parker y van der Kooy (1995) no hallaron disrupción de la preferencia por un lugar asociado a la cocaína sistémica, pero sí al asociado con morfina.

Asimismo, Keating y Winn (1996) hallaron que la lesión bilateral del PPTg no impedía la formación de preferencia por el lugar asociado con sucrosa, independientemente del estado de privación del animal. Los animales lesionados y privados de comida tendían a consumir más cantidad de la disolución de sucrosa cuando ésta estaba muy concentrada; no obstante, estos autores consideran que la lesión del PPTg no afecta a la percepción del valor hedónico de los reforzadores, sino que induce alteraciones en el control de las respuestas del animal cuando éste se halla en un estado de alta motivación, en base a que las preferencias condicionadas de lugar generadas usando varias disoluciones de diferentes concentraciones de sucrosa como un reforzador positivo no se afectan por las lesiones del PPTg.

Además, Inglis y Winn (1995) consideran que los resultados obtenidos por el grupo de Bechara y colaboradores (indicados más arriba) son susceptibles de interpretaciones alternativas. Por ejemplo, las preferencias en ratas privadas y no privadas pueden haberse formado por razones opuestas; los sujetos "naive" y no privados formarían preferencias por el significado recompensante o novedoso de la droga o la comida, mientras los drogodependientes o privados de comida podrían crearlas por el significado que lleva el alivio de la abstinencia o el hambre. Por otro lado, la incapacidad para desarrollar una preferencia condicionada de lugar podría ser atribuible, no a aspectos motivacionales, sino a dificultades para formar asociaciones aprendidas clásicamente entre la droga (o sus efectos internos) y el ambiente, para condicionar una determinada respuesta con unas consecuencias, o para relacionar un estímulo con la probabilidad de que ocurra una determinada recompensa o alivio si se realiza una respuesta.

2.2.3.3. Autoestimulación eléctrica intracraneal

Se ha observado que la lesión excitotóxica del PPTg deteriora la conducta de autoestimulación eléctrica intracraneal (AEIC) en zonas relacionadas con el fascículo prosencefálico medial (Winn, 1998; Winn y cols., 1997). Buscher y cols. (1989) hallaron una reducción de la tasa de AEIC y un aumento del umbral de estimulación, en el hemisferio contralateral, tras la lesión unilateral por radiofrecuencia del PPTg. En otro estudio, se halló que la lesión electrolítica del PPTg aumentaba la frecuencia de corriente estimulante requerida para mantener la AEIC del hipotálamo lateral o el ATV, lo cual también indica una disminución del poder reforzante de la AEIC (Waraczynski y Shizgal, 1995; citado en Olmstead y cols., 1998). Un efecto parecido se observa tras la

administración de agonistas colinérgicos en el PPTg, que inhiben a los receptores muscarínicos de este núcleo (Kofman y cols., 1990; Kofman y Yeomans, 1989; Yeomans y Baptista, 1995; Yeomans y cols., 1993). En cambio, la administración de antagonistas colinérgicos reduce el umbral de estimulación (Yeomans y cols., 1993). La activación colinérgica de las neuronas dopaminérgicas del ATV desde el grupo Ch5 podría producirse mediante receptores muscarínicos, sería principalmente monosináptica, y resultaría crítica para la AEIC (Yeomans y Baptista, 1995; Yeomans y cols., 1993). No obstante, no puede descartarse que las sustancias inyectadas pudieran haberse difundido al LDTg, y que, por tanto, las neuronas de este núcleo también intervinieran en el efecto hallado.

Lepore y Franklin (1996) mostraron que la lesión bilateral del PPTg interfiere en la adquisición de la conducta de AEIC. Cuando la lesión se realizó después de que los sujetos adquirieran la conducta, ésta se reducía, aunque no se abolía. Estos autores además demostraron que la lesión excitotóxica del RRF, una región que se suele afectar cuando se intenta lesionar específicamente el PPTg, no bloquea la adquisición de la AEIC, pero sí la enlentece; pudiendo contribuir, por lo tanto, a los resultados de este y de otros experimentos que valoran los efectos de la lesión del pedunculopontico en tareas operantes como la AEIC.

En contraposición con los resultados anteriores, Waraczynski y Perkins (1998) no han encontrado ningún déficit significativo en la efectividad recompensante de la conducta de AEIC del hipotálamo lateral y la ATV en ratas con lesiones electrolíticas del PPTg o con el LDTg dañado. Sin embargo, estos investigadores señalan que el PPTg y el LDTg podrían formar parte de un sustrato neural que comprendería varias regiones, cada una de las cuales contribuiría a configurar un único valor de la recompensa; de manera que los dos núcleos anteriores pontomesencefálicos jugarían un papel en la autoestimulación del haz prosencefálico medial, pero su destrucción podría ser compensada por ligeros incrementos en la frecuencia de estimulación.

A pesar de que se ha propuesto que las neuronas colinérgicas del PPTg juegan un papel clave en la AEIC, los resultados de Nakahara y cols. (2001) muestran que la AEIC incrementa la expresión de c-fos principalmente en las células GABAérgicas de esta región y del LDTg ipsilaterales, además de aumentar la cantidad de ACh extracelular del ATV. Es probable, entonces, que durante este tipo de tarea las neuronas colinérgicas del PPTg se

exciten, pero no requieran del mecanismo implicado en la expresión de este marcador de actividad celular para que liberen ACh, al contrario que las GABAérgicas.

En conclusión, tanto las neuronas colinérgicas como las GABAérgicas del PPTg parecen constituir un componente modulador de los mecanismos neuroquímicos subyacentes a la AEIC. Lo que no está claro, sin embargo, es si las neuronas de este núcleo estarían implicadas en el valor recompensante, en el aprendizaje, en la ejecución, o en algún otro de los aspectos que intervienen en la conducta de AEIC.

2.2.3.4. Conclusión

Aunque es posible que este núcleo tenga influencia sobre la motivación, entre otros aspectos; su pérdida, como hemos visto, no parece ocasionar una alteración motivacional "per se", sino más bien produciría una falta de capacidad para responder selectiva, sistemática y adecuadamente a las recompensas, primarias o condicionadas, naturales o artificiales (y probablemente también a los estímulos aversivos).

Las discrepancias entre los distintos estudios presentados en este apartado de motivación y recompensa, tanto de lesiones como de manipulaciones farmacológicas del PPTg, podrían ser consecuencia del tipo de intervención que se realizó a los animales, del tiempo que pasó entre la operación y la evaluación de sus efectos, de las demandas cognitivas que implican las tareas, de las diferentes propiedades psicológicas y/o farmacológicas de los reforzadores que se utilizaron, así como del estado motivacional de los animales.

Es probable que el PPTg lleve a cabo una acción moduladora de los comportamientos motivacionales a través de sus conexiones con los circuitos fronto-estriatales dorsal y ventral (Winn, 1998) y sobretodo afectando en primer lugar a la SN, el ATV, el núcleo accumbens y el tálamo, como sugieren algunos autores (Samson y Chappell, 2001). Así, en el PPTg convergen aferencias desde los ganglios basales y el sistema límbico; este núcleo tiene además conexiones ascendentes recíprocas con estas mismas estructuras, y descendentes con regiones de la protuberancia, el bulbo y la médula espinal relacionados con la regulación de procesos autonómicos y motores. Es decir, tal y como indican Winn y colaboradores (Inglis y Winn, 1995; Pahapill y Lozano, 2000; Winn, 1998; Winn y cols., 1997), el PPTg está muy bien situado para constituir una interface límbico-motora capaz de intervenir en procesos motores a nivel bulbar y medular, así como

en procesos autonómicos, respiratorios, y cardiovasculares asociados con la actividad límbica. Según estos autores, el PPTg podría jugar un papel importante en la integración de informaciones motivacionales, asociaciones procedentes del sistema límbico y el output motor de los ganglios basales, e intervenir, así, en un primer nivel de selección de la actividad más apropiada en función del estado motivacional y de las informaciones límbicas, selección que podría ser modulada posteriormente por los sistemas corticales.

En conjunto, pues, se puede decir que el PPTg es una estructura que está implicada en la modulación de la conducta motivacional, y no únicamente están involucradas en dicha función las neuronas colinérgicas de este núcleo sino también las no colinérgicas.

2.2.4. Respuesta al dolor

El PPTg recibe información de fibras nerviosas procedentes de la médula espinal y de núcleos de la formación reticular implicados en la sensibilidad, y a su vez envía proyecciones ascendentes al tálamo y descendentes hacia diversas zonas troncoencefálicas y espinales. Algunos autores, como Iwamoto (1989, 1991), han indicado que el PPTg podría estar implicado en la nocicepción. En el test del pinzamiento de la cola o "tail-flick test" la administración de nicotina y de agonistas muscarínicos (como el "dioxolane") intra-PPTg produjo antinocicepción no mediada por opiáceos, ya que este efecto no se antagonizó con naloxona sistémica; en cambio, sí se antagonizó con inhibidores de la captación de colina, por antagonistas nicotínicos y muscarínicos, y por lesiones del PPTg con ácido iboténico.

Iwamoto (1989), además ha sugerido que la nicotina intra-PPTg induce antinocicepción a través de un mecanismo presináptico que estimula la liberación de ACh, la cual luego actúa sobre los receptores muscarínicos M_1 de la membrana postsináptica. Este efecto sobre el dolor inducido por la nicotina se cree que estaría mediado por las conexiones colinérgicas entre el PPTg y el rafe, vías que están inhibidas de manera tónica.

Sin embargo, las ratas con lesiones electrolíticas o químicas de este núcleo parecen percibir los estímulos dolorosos con normalidad, ya que el umbral para elicitar vocalizaciones o saltos en respuesta a una descarga eléctrica es similar en estos sujetos que en animales intactos (Fujimoto y cols., 1989, 1992; Inglis y Winn, 1995; Olmstead y Franklin, 1993). Por otra parte, las lesiones excitotóxicas del PPTg (realizadas con ácido

iboténico o NMDA) tampoco alteran las propiedades analgésicas de la morfina (Bechara y van der Kooy, 1992c; Inglis y Winn, 1995; Olmstead y Franklin, 1993). Es probable, pues que el PPTg, más que estar involucrado directamente en la percepción del dolor; intervenga en el control de respuestas no reflejas orientadas a evitar o reducir los estímulos dolorosos.

2.2.5. Reactividad emocional

Diversos trabajos llevados a cabo en el laboratorio de Keith Franklin, en McGill University (Canadá), han puesto de manifiesto un aumento de la ansiedad tras la lesión excitotóxica (Leri y Franklin, 1998) o electrolítica (Podhorna y Franklin, 1998, 1999, 2000) bilateral del PPTg, tanto en el EPM, como en tests de interacción social. Además, estos efectos ansiogénicos parecen ser similares a los inducidos por la administración de betacarbolinas, agonistas inversos de las benzodiazepinas con propiedades altamente ansiogénicas (Podhorna y Franklin, 2000).

Leri y Franklin (2000), además, observaron que las lesiones bilaterales del PPTg con NMDA bloquearon las preferencias de lugar, condicionadas tanto con morfina como con anfetamina, en ratas "naive", y que la administración de diazepam antes de la fase de test, después del entrenamiento, revirtió el efecto disruptor de la afectación del pedunculopóntico en esta tarea en los animales condicionados con morfina pero no en los sujetos que recibieron anfetamina; estos autores sugieren que la destrucción de este núcleo no abole ni los efectos recompensantes-incentivadores ni los reforzantes de la morfina, sino que produce una alteración, probablemente emocional, que enmascara el aprendizaje de los animales y deteriora su ejecución.

En cambio, los datos obtenidos tanto en el laboratorio del profesor Philip Winn (University of Saint Andrews), como en nuestro propio laboratorio (Homs-Ormo, 2000) más bien parecen ir en sentido contrario. Así, Allen (1995), citado en Winn (1998), halló que la lesión bilateral del PPTg parece inducir una leve reducción de la reactividad emocional, indicada por una disminución de la duración de los periodos de congelación o "freezings" después de la presentación de un estímulo súbito. Alderson y cols. (2000), a su vez, hallaron una reducción en las conductas de evaluación de riesgo en el EPM (que correlacionan positivamente con la ansiedad) y una menor neofobia ante la comida.

(Alderson y cols., 2000). Asimismo, en nuestro laboratorio (Homs-Ormo, 2000) hemos encontrado que las lesiones del PPTg (tanto excitotóxicas como electrolíticas) no aumentan los índices de ansiedad ni en el EPM ni el campo abierto. De hecho, los animales lesionados mostraban un ligero sesgo hacia conductas indicadoras de menor ansiedad, como un mayor número de entradas en los brazos abiertos durante la primera sesión del EPM, o un menor número de posturas de estiramiento atento ("stretch-attend postures") y de reentradas en los brazos cerrados en esta misma prueba cuando las lesiones eran excitotóxicas.

Cabe resaltar también que Fujimoto y cols. (1989) hallaron que la ejecución en la tarea de evitación activa de dos sentidos de ratas con lesión del PPTg no se veía influida por el uso de descargas eléctricas de menor intensidad, ni por la administración de diazepam, lo cual sugiere que la ansiedad no afectó a este tipo de aprendizaje en los animales lesionados.

No está claro a qué se deben las discrepancias entre los diversos trabajos expuestos, aunque no se puede descartar que éstas puedan ser atribuibles a posibles diferencias entre el tamaño y la localización exacta de las lesiones. Ahora bien, el PPTg sí que parece jugar un papel importante en la asociación entre estímulos, incluidas las asociaciones necesarias para el condicionamiento del miedo. Así, Campeau y cols. (1997), utilizando procedimientos de condicionamiento de miedo, han encontrado un incremento significativo en la inducción de c-fos en el PPTg después de la presentación de un estímulo asociado con la no-aparición del estímulo aversivo, lo que les hizo concluir que este núcleo podría formar parte de un sistema cerebral que mediaría la reducción del miedo. Sin embargo, estos mismos autores hallaron también un aumento de la inducción de c-fos en el PPTg después de la presentación de los estímulos condicionados inductores de miedo. Tanto estos datos, como el hecho de que la lesión del PPTg deteriora la inhibición prepulso (véase punto 2.2.1.3.) parecen sugerir que el PPTg juega un papel en las asociaciones entre estímulos y en la funcionalidad de los mecanismos de filtro de los estímulos sensoriales (Swerdlow y Geyer, 1993; Reese y cols., 1995b; Rye, 1997).

Por otra parte, Reese y cols. (1995b) han sugerido que algunos trastornos de ansiedad podrían ser causados por la lesión del LC, la cual, a su vez, ocasionaría un aumento de la actividad de las vías eferentes del PPTg (por la desaparición de las aferencias inhibitorias

desde el LC). Es decir, la ansiedad sería consecuencia de la sobreactivación del PPTg, y no de su lesión.

2.2.6. Aspectos cognitivos

Debido a sus conexiones (tálamo, sistema estriatal, NBM, estructuras del sistema nervioso del refuerzo), a su papel en el SRAA, a los datos obtenidos en diferentes estudios experimentales, y a las investigaciones realizadas en humanos con alteraciones neuropsicológicas, se ha implicado al PPTg, sobretodo en estos últimos años, en funciones cognitivas tales como la atención, el aprendizaje, la memoria a corto plazo y las funciones ejecutivas.

Cabe destacar que actualmente el estudio del PPTg está recibiendo una atención especial por el hecho de que existen muchos datos que relacionan la disfunción de éste con diversos trastornos humanos. Se ha demostrado una disminución del número de neuronas de esta estructura troncoencefálica en enfermedades neuropsicológicas que cursan con alteraciones cognitivas, tales como la demencia tipo Alzheimer (SDAT), la enfermedad de Parkinson, la parálisis supranuclear progresiva y la demencia senil tipo cuerpos de Lewy. En cambio, se han descrito aumentos en el número de neuronas pontomesencefálicas en la esquizofrenia. Un factor común en estas condiciones es el déficit atencional, que quizás podría ser parcialmente atribuible a la disfunción del PPTg (Steckler y cols., 1994a).

En los siguientes apartados se describirán los trabajos concretos que permiten relacionar el PPTg con diversos procesos y trastornos cognitivos.

2.2.6.1. Atención

García-Rill (1991), considera que el PPTg interviene en los procesos de atención. Este autor parte de la asunción que el LC, la SN y el PPTg forman parte de un complejo oscilador del tronco del encéfalo; el trabajo conjunto de estos núcleos y un feedback cortical hacia ellos podría aumentar la atención, mientras que la activación de un feedback estriatal podría resultar en un decremento de la atención.

A pesar de la presunta relación teórica entre el PPTg y la atención, son todavía escasos los trabajos que han estudiado experimentalmente dicha relación. Concretamente, Inglis y cols. (2001) examinaron los efectos que podría tener la lesión excitotóxica con

ácido iboténico del PPTg sobre la ejecución de ratas en un test de tiempo de reacción serial y de atención sostenida espacial de 5 alternativas ("5-choice serial reaction time test"). Éste se llevó a cabo en un aparato que consistía en 8 cajas con 9 agujeros (los números 2, 4, 6 y 8 estaban tapados), insonorizadas, cada una de ellas con una luz en el medio, y con un altavoz que emitía sonido blanco situado en el centro del techo; el acceso a cada una de las cámaras se realizaba a través de una puerta situada en la porción superior de la pared frontal, y la comida se liberaba a un depósito que estaba localizado en la parte inferior de esta misma pared, debajo de la puerta y de un panel que había entre ésta y el recipiente. Los animales tenían que detectar un breve (0.5 seg.) estímulo visual presentado aleatoriamente en uno de los cinco agujeros abiertos; la respuesta correcta consistía en poner el hocico en el agujero iluminado, lo que producía la emisión de una recompensa en el dispensador que quedaba detrás del animal. Las respuestas incorrectas, las omisiones, las anticipaciones, y las perseveraciones, desencadenaban un periodo de "timeout" durante el cual la luz de la cámara se apagaba; el nuevo ensayo comenzaba cuando el sujeto presionaba el panel una vez la luz se encendía. En este trabajo se observó que la afectación del PPTg reducía la precisión de la ejecución (porcentaje de aciertos), incrementaba los errores de omisión, y aumentaba la latencia de las respuestas correctas; déficits que fueron más severos en los sujetos que tenían la lesión bilateral y concentrada en la porción posterior del núcleo. Las ratas que tenían daño unilateral o bilateral limitado a la parte anterior del PPTg, presentaron menos alteraciones en la tarea estándar; no obstante, cuando se incrementaron las demandas atencionales de la prueba reduciendo la duración o el brillo del estímulo, o el intervalo interensayo, o introduciendo aleatoriamente ráfagas de sonido blanco, la ejecución, tal como era de esperar, empeoraba en todos los grupos, pero de manera más marcada en los animales con lesión tanto unilateral como bilateral. Por otra parte, la reducción de las exigencias del test alivió parcialmente los déficits causados por la lesión. Estos datos sugieren que la lesión del PPTg produce un déficit global en la atención sostenida y/o en los mecanismos ejecutivos de secuenciación y ordenamiento de respuestas.

Asimismo, Steckler (1993) puso de manifiesto que las lesiones del PPTg con ácido quinolénico o iboténico, ocasionaban trastornos atencionales en una tarea operante diseñada para medir atención sostenida en la que las ratas tenían que apretar una palanca para obtener comida sólo cuando aparecía un breve y débil estímulo visual, impredecible, que podía aparecer encima de dos palancas diferentes e ir precedido de un distractor. No

obstante, los animales se recuperaron rápidamente, y no se encontraron diferencias significativas entre grupos en un retest a los 5 días (Steckler y cols., 1994).

2.2.6.2. Aprendizaje y memoria

Evitación activa y pasiva

Las lesiones bilaterales del PPTg deterioran la adquisición de la evitación activa y pasiva; sin embargo, no parecen alterar la ejecución de la retención de estas mismas pruebas si se realizan post-entrenamiento. Así, Kessler y cols. (1986) observaron que la lesión del PPTg con ácido iboténico producía un grave deterioro de la adquisición de una tarea de evitación activa de dos sentidos distribuida (20 ensayos por sesión, 5 o 6 sesiones diarias por semana, hasta alcanzar el criterio de 17 evitaciones seguidas en tres sesiones consecutivas) en la que el EC consistía en una luz de 7 segundos de duración. En cambio, los animales lesionados no mostraban anomalías sensoriomotoras detectables en tests neurológicos y pruebas de campo abierto.

Fujimoto y cols. (1989) encontraron que la inyección bilateral de ácido kaínico en el PPTg de ratas dio lugar a una abolición completa de la adquisición de evitación activa y a una significativa disminución de la actividad de la colina acetiltransferasa en el tálamo medial y la SN. Ni el uso de una descarga eléctrica de menor intensidad, ni la administración subcutánea de diazepam modificaban la ejecución de los animales, lo cual sugiere que estos datos no pueden ser atribuibles a un aumento de la ansiedad. Posteriormente, Fujimoto y cols. (1990) realizaron otro experimento en el que lesionaron bilateralmente el PPTg con ácido iboténico (toxina que permite obtener lesiones más restringidas en esta área cerebral), y, en otros animales, provocaron una lesión del tálamo medial con AF64A (excitotoxina que presumiblemente daña los terminales colinérgicos). Los resultados indicaron que ambas lesiones inducían un grave deterioro tanto en una tarea de evitación pasiva, como en un condicionamiento de evitación activa de dos sentidos. En esta última tarea (en la que el entrenamiento constaba de 120 ensayos diarios durante cinco días consecutivos), los sujetos lesionados parecían mostrar una ligera tendencia a mejorar su ejecución a lo largo de una misma sesión, pero esta mejora desaparecía en sesiones consecutivas. Los análisis histológicos confirmaron la pérdida de neuronas colinérgicas del grupo CH5 y una reducción del 20% en la actividad de la ChAT del tálamo medial tras la destrucción parcial del PPTg y del 60% después de la lesión del tálamo medial. Los autores

concluyeron que parte de los déficits de aprendizaje ocasionados tras la lesión del PPTg se debían a la interrupción de la vía colinérgica entre este núcleo y el tálamo medial.

Finalmente, Fujimoto y cols. (1992) volvieron a confirmar el efecto deteriorante de las lesiones pre-entrenamiento del PPTg sobre la adquisición de la evitación activa y pasiva, pero también hallaron que si la lesión se realizaba post-entrenamiento no se observaba ningún deterioro en la retención de la evitación activa de dos sentidos, y si se lesionaba el PPTg después de la primera fase de la evitación pasiva no se afectaba la sesión de retención o segunda fase de esta tarea.

Müller y Klingberg (1986) también hallaron efectos disruptivos sobre la adquisición de una tarea de evitación activa de un sentido (consistente en colgarse de una vara para evitar o huir de una descarga eléctrica) tras la lesión por electrocoagulación de la región mesencefálica del PPTg. Sin embargo, estos mismos animales mostraban una buena retención de tres versiones diferentes de una tarea de evitación en laberinto en Y adquiridas con anterioridad a la lesión. Estas tareas consistían, sucesivamente, en ir 1) siempre al brazo de la derecha, 2) siempre al brazo izquierdo, y 3) alternar entre los dos brazos en los ensayos consecutivos. En las tres tareas, el EC consistía en un tono de 5 segundos de duración, y asimismo se administraba una pista visual que indicaba el compartimento donde tenían que ir los animales para ejecutar la respuesta correcta. El único déficit observado en las pruebas de retención consistía en que los animales lesionados tardaban más en llegar a la meta, a pesar de que, por otro lado, mostraban una reducción en el tiempo de reacción al EC.

Condicionamiento operante

Las lesiones del PPTg no parecen alterar la ejecución de tareas operantes simples. Sin embargo, cuando las condiciones en que se ejecuta la tarea requieren una conducta motora más complicada que la simple presión de una palanca, o cuando se aumenta la ratio del programa de reforzamiento, entonces la conducta de los animales con lesiones del PPTg muestra una serie de déficits.

Así, Florio y cols. (1999) entrenaron a un grupo de ratas en una tarea que consistía en apretar una palanca ante la aparición de un estímulo combinado visual y auditivo (estímulo señal). Luego los animales tenían que mantener la palanca apretada hasta la aparición de otro estímulo (estímulo desencadenante) que tenía lugar tras un intervalo variable de entre

2 y 4 segundos. La aparición del estímulo desencadenante señalaba el momento en que el animal tenía que liberar la primera palanca y presionar una segunda palanca para obtener el reforzador (comida). Una vez se alcanzaba un nivel estable de ejecución, los animales eran sometidos a lesión unilateral o bilateral del PPTg. Las lesiones tanto unilaterales como bilaterales del PPTg aumentaban el tiempo que tardaban los animales en apretar la primera palanca, e incluso inducían omisión de respuestas en algunos ensayos (es decir, los animales simplemente no respondían ante el estímulo señal). Asimismo, ambos tipos de lesiones aumentaban el número de respuestas incorrectas ante el estímulo desencadenante. Sin embargo, los déficits eran mucho más acusados en los animales con lesión bilateral, los cuales solían mostrar conductas espontáneas como acicalamiento ("grooming") o "rearings" ante el estímulo señal, y por otro lado, respondían menos ante el estímulo desencadenante. Estos datos indican que la lesión del PPTg altera tanto la preparación como la ejecución de movimientos condicionados, lo cual también ocurre tras la depleción dopaminérgica, y sugieren que este núcleo está involucrado en la expresión de las funciones nigroestriatales dopaminérgicas y en las conductas dirigidas a una finalidad.

Reforzamiento condicionado

El paradigma del reforzamiento condicionado se ha utilizado con mucha frecuencia para investigar el modo en que los sistemas estriatales pueden controlar los procesos a través de los cuales los estímulos ambientales configuran la conducta. Brevemente, el reforzamiento condicionado implica, en una primera fase, la formación de asociaciones pavlovianas entre un reforzador primario (por ejemplo, comida) y un estímulo previamente neutro (como una combinación de luz y sonido). De este modo el estímulo previamente neutro adquiere propiedades reforzantes condicionadas. Estas propiedades pueden medirse, en una segunda fase, enseñando al animal a apretar una palanca en una jaula de Skinner para obtener la presentación del reforzador condicionado (en lugar de un reforzador primario). Para descartar efectos puramente motores, en la jaula suele haber también una segunda palanca cuya presión no tiene consecuencias (palanca no reforzada).

Inglis y cols. (1994b) entrenaron ratas a empujar un panel dispensador de comida en una jaula operante únicamente cuando aparecía un estímulo compuesto (luces apagadas de la jaula/ luz del panel encendida/ click del dispensador de comida) para obtener alimento. Cuando los animales llegaron a un criterio de aprendizaje (más del 80% de respuestas correctas por lo menos durante cinco sesiones consecutivas), se les practicó una lesión

bilateral excitotóxica del PPTg, midiéndose nuevamente su ejecución en el paradigma de condicionamiento pavloviano, e iniciándose posteriormente un paradigma de reforzamiento condicionado en una jaula operante con dos palancas (una asociada a refuerzo y la otra no), en el que el refuerzo consistía en la aparición del estímulo compuesto utilizado previamente como EC. Los sujetos permanecieron en la caja operante hasta que se registraron 10 respuestas en la palanca reforzada, y al día siguiente, tras una microinyección de d-anfetamina en el núcleo accumbens, se colocaron de nuevo en estas jaulas de condicionamiento durante 30 minutos para evaluar su rendimiento bajo los efectos de la droga.

Las lesiones indujeron un mayor número de omisiones en el paradigma de condicionamiento pavloviano, o sea, en algunos ensayos no respondían durante los 5 seg. que duraba el estímulo discriminativo. Después de la administración de d-anfetamina intra-accumbens estas ratas mostraron el mismo número de presiones en la palanca reforzada que las ratas control, pero respondieron también por igual a la palanca no reforzada, a diferencia de los controles. Es decir, los animales parecían capaces de hacer asociaciones "presionar palanca/recompensa" pero no de discriminar entre las dos palancas. Los autores atribuyeron estos resultados a un déficit en el proceso para seleccionar la acción apropiada en una situación nueva (que también implica suprimir las acciones inadecuadas) y/o a una incapacidad para formar asociaciones simultáneas entre más de un estímulo nuevo y uno incentivador para dirigir conductas motivadas.

Más adelante, Inglis y cols. (2000) evaluaron el rendimiento de ratas con o sin lesión del PPTg en dos test que se describirán a continuación. El primer test era una tarea de automoldeamiento que consistía en presionar una placa que liberaba la recompensa (sacarosa) sólo después de la presentación de un EC visual (rectángulo blanco grande durante 10 seg.) cuando éste aparecía en un lado (izquierda o derecha) de una pantalla sensible al tacto (EC+), pero no cuando este mismo estímulo aparecía en el otro lado de esta misma cámara (EC-). Posteriormente, después que los sujetos pasaran por 125 ensayos de automoldeamiento, se pasó a una segunda fase en la que los animales debían apretar la placa de la pared del fondo del compartimento para hacer aparecer simultáneamente los dos estímulos anteriores, y en la que se esperaba que si las ratas habían aprendido la contingencia asociada a cada uno de los estímulos se aproximarían al lado del EC+ y evitarían el lado del EC-.

Más adelante, los sujetos fueron sometidos a 20 sesiones de 30 ensayos de condicionamiento pavloviano, la primera fase del paradigma de reforzamiento condicionado, en los que la presentación de un EC (5 seg. de luz en la cubeta y la luz de la caja apagada) inmediatamente precedía un estímulo incondicionado (EI) (5 seg. de elevación del dispensador lleno con la disolución de sacarosa); en este caso se registró el número de entradas que hacían las ratas al dispensador de la recompensa en todos los periodos (ante el EI, el EC, y en el intervalo entre ensayos). Y finalmente, se testaron los animales en 5 sesiones, separadas por 48 h., de reforzamiento condicionado, en el cual no se recompensaba a las ratas con la sacarosa sino con el EC anteriormente asociado con el refuerzo; si los sujetos presionaban una de las dos palancas que había en la cámara se presentaba dicho estímulo, pero si apretaban la otra no obtenían el refuerzo condicionado; en esta fase del estudio se registraron tanto las respuestas sobre cada palanca como las entradas en el dispensador durante 30 min. que duraba cada sesión.

Las ratas lesionadas no parecieron aprender las asociaciones entre el EC y el reforzador primario en ninguno de los dos paradigmas. En el experimento de automoldeamiento estos animales realizaron más omisiones, se aproximaron el mismo número de veces al EC asociado a recompensa que al estímulo no contingente al reforzador, y no difirieron en las latencias para responder a los dos estímulos. En la primera fase de la prueba de reforzamiento condicionado la lesión del PPTg produjo una reducción de las entradas en el dispensador de comida y una progresiva disminución de éstas a lo largo de las sesiones, además los animales lesionados cuando respondieron lo hicieron indiscriminadamente. Y, por otra parte, en la segunda fase de este tipo de tarea, los animales lesionados presionaron indiferentemente la palanca reforzada y la no recompensada, y realizaron menos entradas en el dispensador.

Es probable que la participación del PPTg en el reforzamiento condicionado y en otros procesos de condicionamiento esté mediada, al menos en parte, por las conexiones que establece con los sistemas estriatales, incluidas las establecidas con el estriado ventral (accumbens). Así, Homs-Ormo y cols. (comunicación personal) han hallado que la lesión unilateral del PPTg combinada con la lesión contralateral del “core” del núcleo accumbens no deteriora la adquisición de un condicionamiento pavloviano, pero induce un aumento del número de presiones a la palanca reforzada con la aparición del EC durante las primeras sesiones de reforzamiento condicionado (efecto que los autores atribuyen a una

conducta perseverativa). Posteriormente, la conducta perseverativa desaparece para ser reemplazada por la presión indiscriminada de las dos palancas (reforzada y no reforzada), lo cual sugiere que los animales son incapaces de discriminar entre las contingencias asociadas a ambas palancas.

En definitiva, los diversos resultados expuestos sugieren que la lesión bilateral del PPTg y la desconexión entre el PPTg y el “core” del núcleo accumbens, no impiden la adquisición de asociaciones simples entre estímulos, pero sí que dificultan la discriminación entre estímulos asociados a contingencias diferenciales. Además, estas mismas lesiones parecen inducir respuestas perseverativas.

Tareas espaciales

Kessler y cols. (1986) estudiaron el efecto de las lesiones bilaterales con ácido iboténico del PPTg sobre una tarea espacial apetitiva basada en claves intralabirinto. El aparato era un labirinto con tres compartimentos diferentes (en color, dimensiones, textura, y olor) y los animales tenían que escoger, en la fase de test, el mismo compartimento que había sido reforzado en la fase de muestra. Las ratas no presentaron problemas en la adquisición de la tarea cuando no había demora entre la fase de muestra y la de test, pero sí cuando la demora era de entre un minuto y dos horas.

Dellu y cols. (1991) investigaron los efectos de la lesión bilateral del PPTg con ácido quisquálico sobre la ejecución de tres tareas de navegación espacial diferentes en complejidad, demanda motivacional y procesos memorísticos: dos test de memoria de referencia (labirinto en cruz y labirinto de agua de Morris) y una de memoria de trabajo (labirinto radial). Estos investigadores hallaron que las lesiones de este núcleo no afectaron la tarea de memoria de referencia en el labirinto en cruz, en la que los animales tenían que encontrar el brazo reforzado con comida usando unas claves espaciales que se mantenían constantes a lo largo del test. En cambio, las lesiones del PPTg sí que alteraron la memoria de trabajo en el labirinto radial de 8 brazos. Por otro lado, en el labirinto de Morris los animales lesionados tardaban más tiempo que los controles en encontrar la plataforma cuando ésta estaba escondida 1.5 cm bajo el agua. Sin embargo, la ejecución de los animales lesionados era tan buena como la de los controles cuando la plataforma era visible 2 cm encima de la superficie del agua. En este trabajo se observó, además, que la pérdida neuronal en el PPTg dio lugar a una reducción (hasta un 71%) de la actividad de la

colina acetiltransferasa en el tálamo (núcleos ventroposteromedial, ventrolateral, ventroposterolateral), pérdida que correlacionaba con los déficits de memoria de referencia en el laberinto acuático y de memoria de trabajo en el laberinto radial, pero no con la memoria de referencia en el laberinto en cruz.

Leri y Franklin (1998) hallaron que la lesión del PPTg con NMDA deterioraba la adquisición de una tarea de alternancia demorada (“delayed non-matching to position”) en un laberinto en T. Sin embargo, este efecto disruptor revertía con la administración de diazepam a los animales lesionados. Dado que cuando se introdujo el diazepam en este experimento los sujetos se encontraban en diferentes estadios de aprendizaje, se realizó otro estudio en el cual se evaluaba la capacidad de sujetos "sham" y PPTg-lesionados para adquirir la misma tarea bajo los efectos de esta sustancia psicoactiva desde el primer día de entrenamiento. En este caso se encontró que el diazepam inicialmente eliminó la tendencia espontánea de todas las ratas para alternar entre los dos brazos; no obstante, después de varias sesiones facilitó la adquisición del grupo con el pedunculopónico dañado, pero bloqueó el aprendizaje en el grupo control. Cuando se dejó de administrar la droga, la ejecución de los animales lesionados empeoró, mientras que la de los controles mejoró; la reintroducción del fármaco mejoró el rendimiento de las ratas lesionadas, sin que se afectara el de los sujetos de control. A partir de estos datos, los autores concluyeron que los déficits en esta tarea espacial causados por la lesión del PPTg eran secundarios a un incremento de la ansiedad, y no a un déficit cognitivo.

Por otro lado, Steckler y cols. (1994b) hallaron que las lesiones bilaterales post-entrenamiento del pedunculopónico por radiofrecuencia no alteraban de manera sustancial la retención de una tarea de alternancia demorada (“delayed non-matching to position” o DNMTp) en una jaula operante, un test de reconocimiento espacial.

Recientemente, Keating y Winn (2002) han estudiado los efectos de la lesión excitotóxica bilateral pre- y post-entrenamiento del PPTg en dos tareas de laberinto radial: “random foraging task” (búsqueda aleatoria de comida), basada esencialmente en la memoria de trabajo, y “win-shift task”. En la primera prueba los animales deben ir a los 4 brazos reforzados, que varían cada día, de los 8 que están abiertos; una vez el animal ha entrado en uno de los brazos recompensados y ha consumido el reforzador, debe ir a buscar comida a otro brazo. La segunda tarea se lleva a cabo también en un laberinto radial y consta de dos fases. En la primera (fase de muestra), cuatro de los brazos están abiertos y

contienen el reforzador, y los otros cuatro no. En la segunda fase (test), que se lleva a cabo después de un periodo de demora (cinco minutos en el trabajo de Keating y Winn, 2002), todos los brazos están abiertos y sólo hay reforzador en los brazos que estaban cerrados en la fase de muestra. Los resultados mostraron que la lesión, tanto pre- como post-entrenamiento del PPTg aumentaba el número de errores (tanto reentradas en brazos reforzados ya visitados previamente, como entradas en brazos no reforzados) en la tarea de “random foraging”, y en la fase de test (pero no en la de muestra) de la tarea de “Win-shift”. Además, en ambas tareas los animales lesionados mostraban una disminución de la latencia de entradas en los brazos (es decir, eran más rápidos que los controles).

Aprendizaje aversivo gustativo

Stefurak y van der Kooy (1994) no hallaron ningún efecto disruptor sobre la adquisición de la aversión condicionada al sabor (“taste aversion learning” o TAL) en la que se utilizaba cloruro de litio como EI, tras la lesión bilateral excitotóxica del PPTg. Bechara y cols. (1993) obtuvieron resultados similares utilizando morfina como EI.

Mediavilla y cols. (2000) examinaron los efectos de la lesión electrolítica bilateral del PPTg sobre dos procedimientos diferentes de TAL. El primero (TAL concurrente o a corto plazo) consiste en la presentación simultánea de dos estímulos gustativos distintos. La ingesta de uno de ellos se asocia a una inyección intragástrica de NaCl (EI aversivo), mientras que el consumo del otro se asocia a la administración de suero fisiológico (estímulo neutro) a través de la otra fístula. El segundo procedimiento (TAL demorado) consiste en presentar por separado y en días alternos las dos sustancias gustativas, una de ellas asociada al EI aversivo (en este caso LiCl), y la otra asociada al estímulo neutro (solución salina). La lesión del PPTg deterioraba la adquisición del TAL concurrente, pero no tenía ningún efecto sobre el segundo paradigma (TAL demorado).

Basándose en estos resultados, los autores concluyeron que el PPTg es una estructura que juega un papel específico en la adquisición del TAL a corto plazo, caracterizado por la presentación simultánea de estímulos sensoriales y viscerales, y que requiere una transmisión rápida de ambas modalidades sensoriales. Aún así, indican que los datos disponibles no permiten descartar que la lesión pudiera haber reducido la transmisión de la información visceral o de las aferencias al cerebelo, ya sea por la pérdida neuronal del propio PPTg o por la alteración de las fibras que pasan por éste. Además, los autores

piensan que las discrepancias entre sus resultados y los de Stefurak y van der Kooy (1994) y Bechara y cols. (1993) podrían explicarse, porque en estos últimos trabajos se seguía un procedimiento no concurrente para asociar un estímulo gustativo y uno aversivo, lo cual permite utilizar indistintamente la vía rápida (vagal), o la vía más lenta (humoral), mientras que los procedimientos utilizados por Mediavilla y cols. (2000) sólo permiten el uso de una de las dos vías en cada caso: vagal en el TAL concurrente o a corto plazo, y humoral en el TAL a largo plazo o demorado.

2.2.6.3. Conclusiones y posible papel del PPTg en el aprendizaje y la memoria

A continuación (ver pág. siguiente) se presenta una tabla resumen (tabla 1) con los principales efectos de la lesión bilateral del PPTg en tests que estudian funciones cognitivas.

La lesión del PPTg no impide que se puedan formar asociaciones simples, como ciertos condicionamientos clásicos apetitivos o aversivos; tampoco suprime la capacidad para adquirir respuestas operantes simples para reforzadores positivos o negativos, primarios o condicionados. En cambio, cuando las demandas de la tarea se incrementan, ya sea por una disminución de la relevancia del estímulo que se quiere condicionar, por una reducción del tiempo que tiene el animal para asociar y responder, por la presencia de estímulos distractores, porque se tiene que aprender a asociar varios eventos, o por un aumento de las alternativas de respuesta, los sujetos lesionados sí tienen problemas. Por lo tanto, parece que la dificultad de la tarea es un factor importante para interpretar los efectos de este tipo de intervenciones quirúrgicas.

El PPTg tampoco parece imprescindible para la recuperación de la información a largo plazo, pero sí que podría estar involucrado en algunos tipos de aprendizaje espacial así como en la memoria de trabajo.

RESUMEN DE LOS PRINCIPALES EFECTOS DE LA LESIÓN DEL PPTg EN TESTS COGNITIVOS

Trabajo	Tipo de lesión	Tarea	Efecto
Atención			
Inglis y cols. (2001)	Excitotóxica	“5-choice serial reaction time test”	<i>Deterioro, más evidente cuando se incrementan las demandas de la tarea</i>
Steckler (1993)	Excitotóxica	Tarea operante de atención sostenida	<i>Deterioro</i> <i>No efectos en el retest a los 5 días</i>
Aprendizaje y memoria			
Evitación activa y pasiva			
Kessler y cols. (1986)	Excitotóxica	Evitación activa de dos sentidos	<i>Deterioro</i>
Fujimoto y cols. (1989)	Excitotóxica	Evitación activa de dos sentidos	<i>Deterioro</i>
Fujimoto y cols. (1990)	Excitotóxica	Evitación activa de dos sentidos Evitación pasiva	<i>Deterioro</i> <i>Deterioro</i>
Fujimoto y cols. (1992)	Excitotóxica	Evitación activa de dos sentidos Evitación pasiva	<i>Deterioro</i> <i>Deterioro</i>
	Excitotóxica post-entrenamiento	Evitación activa de dos sentidos Evitación pasiva	<i>No efecto</i> <i>No efecto</i>
Müller y Klingberg (1986)	Electrocoagulación	Evitación activa de un sentido con vara	<i>Deterioro</i>
	Electrocoagulación post-entrenamiento	Evitación activa de un sentido en laberinto en Y	<i>No efecto</i>

Tabla 1. Principales efectos de la lesión del PPTg en tareas cognitivas (continúa en la página siguiente).

Trabajo	Tipo de lesión	Tarea	Efecto
Aprendizaje y memoria			
Condicionamiento operante			
Florio y cols. (1999)	Excitotóxica	Tarea de condicionamiento operante compleja	<i>Deterioro</i>
Reforzamiento condicionado			
Inglis y cols. (1994b)	Excitotóxica	Tarea de condicionamiento operante en jaula de Skinner con el uso de una configuración compleja de estímulos	<i>Deterioro</i>
		Tarea de reforzamiento condicionado en jaula de Skinner + d-anfetamina intra-accumbens	<i>Deterioro</i>
Inglis y cols. (2000)	Excitotóxica	Tarea de condicionamiento pavloviano con un EC+ y un EC-	<i>Deterioro</i>
		Tarea de condicionamiento pavloviano en jaula de Skinner	<i>Deterioro</i>
		Tarea de reforzamiento condicionado en jaula de Skinner	<i>Deterioro</i>
Tareas espaciales			
Kessler y cols. (1986)	Excitotóxica	Tarea espacial apetitiva basada en claves intralaberinto en laberinto de 3 brazos tipo emparejamiento a la posición con o sin demora	<i>No efecto sin demora</i> <i>Deterioro con demora</i>
Dellu y cols. (1991)	Excitotóxica	Tarea de memoria de referencia en laberinto en cruz	<i>No efecto</i>
		Laberinto de agua de Morris con la plataforma visible o sumergida	<i>No efecto con la plataforma visible</i> <i>Deterioro con la plataforma bajo el agua</i>
		Tarea de memoria de trabajo en laberinto radial de 8 brazos	<i>Deterioro</i>

Tabla 1. Principales efectos de la lesión del PPTg en tareas cognitivas (continúa en la página siguiente).

Trabajo	Tipo de lesión	Tarea	Efecto
Aprendizaje y memoria			
Tareas espaciales			
Leri y Franklin (1998)	Excitotóxica	Tarea de DNMTT en laberinto en T	<i>Deterioro</i> <i>Recuperación del déficit con diazepam</i>
Steckler y cols. (1994b)	Radiofrecuencia post-entrenamiento	Tarea de DNMTT en jaula operante	<i>No déficit</i>
Keating y Winn (2002)	Excitotóxica	“Random foraging task”	<i>Deterioro</i>
		“Win-shift task”	<i>Deterioro</i>
	Excitotóxica post-entrenamiento	“Random foraging task”	<i>Deterioro</i>
		“Win-shift task”	<i>Deterioro</i>
Aprendizaje aversivo gustativo			
Stefurak y van der Kooy (1994)	Excitotóxica	TAL demorado	<i>No déficit</i>
Bechara y cols. (1993)	Excitotóxica	TAL demorado	<i>No déficit</i>
Mediavilla y cols. (2000)	Electrolítica	TAL demorado	<i>No déficit</i>
		TAL concurrente	<i>Deterioro</i>

Tabla 1. Principales efectos de la lesión del PPTg en tareas cognitivas.

Se ha sugerido que la visión en conjunto de los resultados hallados indicaría que la lesión de este núcleo podría dar lugar a un déficit múltiple o global, más que a un deterioro específico en un único proceso. Winn (1998), por ejemplo, ha presentado argumentos a favor de la idea que las lesiones bilaterales del PPTg en animales experimentales producen un tipo de síndrome frontal caracterizado por cambios conductuales que pueden ser clasificados como desinhibición conductual (una pérdida de control conductual), producción de comportamientos inapropiados (no adecuados a las condiciones estímulares) y conducta perseverativa (el mantenimiento de una acción más allá del punto en que

debería haber sido terminada). Como el PPTg está fuertemente conectado con los sistemas frontoestriatales, y ya que los déficits que siguen a las lesiones de esta estructura pueden ser descritos como un síndrome frontal, este autor señala que podría ser mejor buscar la función del PPTg entre estos sistemas frontales.

La integridad de este núcleo parece ser necesaria para aprender tareas de cierta dificultad, pero no para ejecutarlas una vez se han automatizado. De hecho, se ha postulado, que la adquisición de las tareas de condicionamiento está controlada por la expectativa de respuesta-recompensa o alivio de aversión (aspecto mental en el que se ha implicado al lóbulo frontal), pero a medida que el entrenamiento progresa con la repetición se desarrolla un hábito de estímulo-respuesta (que podría estar controlado subcorticalmente), de manera que la devaluación del reforzador tiene menos efecto sobre la respuesta; por otro lado, si la tarea es difícil consume más recursos atencionales que si es fácil. Ello podría servir para explicar la falta de efecto de las lesiones post-entrenamiento del PPTg en algunas tareas; a su vez, tendría en cuenta e integraría lo que se ha comentado anteriormente sobre los problemas en la formación de asociaciones, la dificultad de la tarea y los déficits atencionales, y se relacionaría con la hipótesis de que la lesión del PPTg da lugar a un síndrome frontal.

Además, la pérdida de este núcleo induce sutiles alteraciones en las ondas theta septohipocampales (Winn, 1998), que se han implicado en procesos como el aprendizaje, la formación de la memoria y la actividad motora voluntaria; por lo tanto, el hipocampo y sus funciones podrían verse un poco afectadas; ya sea porque se ha producido una disrupción de la conexión del PPTg con el área septal, por la probable alteración frontal, o por la disfunción en alguna otra área cerebral que directa o indirectamente tiene repercusiones en el funcionamiento del hipocampo, ya que no se conocen conexiones directas entre el pedunculopónico y esta última estructura.

2.3. NÚCLEO PEDUNCULOPÓNTICO TEGMENTAL: IMPLICACIONES CLÍNICAS

Numerosos estudios sugieren que la alteración de la actividad normal del PPTg está implicada en diversos trastornos cerebrales. A continuación expondremos los principales hallazgos en este sentido, así como las especulaciones, hipótesis y teorías a las que éstos han dado lugar.

2.3.1. Enfermedades neurodegenerativas

En varios trastornos neurodegenerativos se ha descrito una pérdida celular en la región del PPTg. Cabe remarcar, sin embargo, que la mayoría de los estudios no son demasiado rigurosos y no toman suficientemente en consideración el modo en que la afectación de otras estructuras conectadas con el PPTg podría explicar la pérdida neuronal de éste último núcleo y los síntomas de la enfermedad. Por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y la parálisis supranuclear progresiva también se observa una importante afectación de otras áreas, especialmente de núcleos monoaminérgicos troncoencefálicos, que juegan un importante papel en el control del estado conductual (Jellinger, 1991; citado en Rye, 1997).

La enfermedad de Parkinson

Esta enfermedad neurodegenerativa se caracteriza por rigidez, bradicinesia, temblor, marcha festinante, alteraciones del sueño, trastornos del habla y déficits cognitivos (principalmente, problemas de memoria procedimental, visoespaciales, enlentecimiento del procesamiento o bradifrenia y disfunciones frontales o del sistema ejecutivo). Se cree que el origen de estos síntomas se encuentra, al menos parcialmente, en la degeneración de las células dopaminérgicas de la SN.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que las personas que padecen la enfermedad de Parkinson presentan también una pérdida celular a nivel del PPTg (Rye, 1997; Arendt y cols., 1995; Steckler y cols., 1994a; Pahapill y Lozano, 2000). Se ha sugerido, además, que esta alteración podría contribuir a la disminución de la atonía muscular durante el SP y al trastorno conductual del sueño REM que suelen observarse en

muchos de los pacientes afectados por esta enfermedad (Rye, 1997). Se ha propuesto, asimismo, que las anomalías en la marcha, la postura, la rigidez y la bradicinesia podrían, en parte, reflejar la pérdida neuronal o la supresión de la actividad neuronal en el PPTg (Pahapill y Lozano, 2000), aunque, como hemos comentado en los puntos 2.2.1.1. y 2.2.2.4., la lesión selectiva de este núcleo no produce por sí misma alteraciones motoras o disrupción del sueño REM tras unos días de recuperación, posiblemente debido a mecanismos compensatorios. Algunos autores han hipotetizado, incluso, que la afectación de esta estructura pontina probablemente intervenga en algunos de los déficits cognitivos que caracterizan esta patología (Steckler y cols., 1994a).

El análisis de los datos clínicos disponibles hasta el momento indica una relación entre la disminución de las neuronas colinérgicas del PPTg-pc y la severidad de los síntomas parkinsonianos (Zweig y cols., 1989). De esta manera, la progresión de la enfermedad, y posiblemente el cambio en la respuesta a la levodopa (especialmente la acinesia refractaria) que aparece en determinados pacientes a medida que la enfermedad avanza, podrían reflejar una implicación progresiva de sistemas neurales no dopaminérgicos, como los colinérgicos del PPTg-pc y los glutamatérgicos del PPTg-pd (Pahapill y Lozano, 2000).

Por otro lado, los estudios neuropatológicos en humanos han descrito que aproximadamente el 50% de las neuronas colinérgicas de la parte lateral del PPTg-pc degeneran en el Parkinson (Hirsch y cols., 1987; Jellinger, 1988; Zweig y cols., 1989; Gai y cols., 1991; Pahapill y Lozano, 2000); no se ha determinado, sin embargo, la extensión de la pérdida de neuronas no colinérgicas. Esta magnitud de la degeneración en el PPTg-pc es similar al grado de pérdida neuronal que afecta a la SN-pc, lo que sugiere la posibilidad de que las neuronas del PPTg sean susceptibles a los mismos mecanismos patogénicos que las neuronas dopaminérgicas nigrales. El PPTg podría además, al menos en teoría, tener un papel en la degeneración de la SN-pc a través del efecto excitatorio de sus contactos sinápticos glutamatérgicos sobre las neuronas de ésta última (Lavoie y Parent, 1994b; Pahapill y Lozano, 2000). La afectación troncoencefálica podría ser primaria o secundaria, pero en cualquier caso genera hipoactividad de la vía eferente del PPTg al segmento palidal y a la SN-pc (Steckler y cols., 1994a).

Es importante destacar que en esta patología también parece haber una alteración significativa del flujo de salida desde los ganglios basales hacia las neuronas no

colinérgicas del PPTg. Mitchell y colaboradores (1989) observaron una acumulación de 2-desoxiglucosa radiomarcada en el PPTg de primates tratados con MPTP para inducir síntomas parkinsonianos, y sugirieron que esto representa un incremento en la actividad de las neuronas GABAérgicas del pálido que envían eferencias al PPTg. Se cree que la inhibición crónica del PPTg producida por este efecto podría ser importante en la mediación de ciertos síntomas motores del Parkinsonismo (Steckler y cols., 1994a). Otros datos coherentes con el aumento de esta inhibición provienen de los experimentos de registros extracelulares neuronales en ratas anestesiadas lesionadas con 6-OHDA, que han demostrado una reducción en la actividad de las neuronas del PPTg en el estado parkinsoniano (Pahapill y Lozano, 2000). Además, las intervenciones médicas y quirúrgicas que reducen este output inhibitorio, como la lesión y estimulación del STn o del Gpi, y la infusión de sustancias neuroactivas en el pálido y el tálamo; mejoran la sintomatología de esta patología en monos y en pacientes humanos con Parkinson (Pahapill y Lozano, 2000).

Por otra parte, la administración de MPTP induce, además de síntomas parkinsonianos motores, una disminución de la amplitud del potencial P1 y de la cantidad de SP, mientras que la recuperación de ambas funciones coincide con la recuperación de los síntomas motores parkinsonianos (Rye, 1997). Además, los enfermos de Parkinson muestran déficit de habituación del potencial P1, lo cual podría ser explicable o bien por un aumento en el modo de disparo en ráfagas de las subpoblaciones de neuronas colinérgicas y no colinérgicas que presentan un bajo umbral de disparo (“LTS” o Tipo I) susceptibles de activarse por influencias hiperpolarizantes, o bien por la patología concomitante del rafe dorsal o del LC, cuyas neuronas, como hemos indicado antes (punto 2.2.1.2.), ejercen efectos inhibitorios sobre las neuronas colinérgicas del PPTg (Rye, 1997).

Por lo tanto, aunque la depleción dopaminérgica del estriado dorsal y ventral parece ser la principal responsable de las alteraciones cognitivas de la enfermedad de Parkinson, la degeneración del PPTg también podría estar involucrada en dichas alteraciones.

Parálisis supranuclear progresiva

Esta patología se caracteriza por problemas para caminar, dificultades en la articulación del lenguaje, trastornos conductuales, parálisis de la mirada, rigidez de la nuca, espasticidad del rostro, y afectación neuropsicológica, sobretodo de las funciones frontales

(Junqué y Barroso, 1994); por otra parte, algunos pacientes presentan además ausencia o anomalías del sueño REM (Rye, 1997; Prinz y cols., 1990). Las alteraciones neuropsicológicas más destacables son el enlentecimiento, las dificultades en la evocación de la información, los problemas en la utilización de conocimientos, los déficits atencionales y la apatía (Junqué y Barroso, 1994).

Los estudios neuropatológicos demuestran una pérdida neuronal de diversas estructuras subcorticales, especialmente del STn, el GP, la SN, la sustancia gris periacueductal, el colículo superior, el LC, el rafe, el núcleo dentado y algunos núcleos pontinos (Junqué y Barroso, 1994). Cabe destacar que entre los núcleos troncoencefálicos lesionados se encuentra el PPTg (Jellinger, 1988; Zweig y cols., 1987; Rye, 1997; Frasca y cols., 1991; Hirsch y cols., 1987; Steckler y cols., 1994a).

Las técnicas de neuroimagen anatómica muestran atrofia en las estructuras troncoencefálicas, y a menudo atrofia frontal y temporal asociada. La neuroimagen funcional, por su parte, ha contribuido a interpretar las alteraciones frontales, resaltando el papel de la afectación de los núcleos caudado y pálido en la interferencia de los circuitos cognitivos complejos fronto-basales (Junqué y Barroso, 1994). No obstante, es probable que la lesión del PPTg contribuya a explicar algunos de los síntomas que manifiestan estos pacientes, especialmente los cognitivos.

Demencia de cuerpos de Lewy

Otra enfermedad degenerativa que parece estar asociada con la muerte neuronal en el PPTg es la demencia de cuerpos de Lewy. Esta patología se caracteriza por la presencia de deterioros fluctuantes de la función cognitiva; déficits atencionales, amnesia, afasia, desorientación visoespacial y apraxia (Junqué y Jurado, 1994); alucinaciones visuales y/o auditivas, alteraciones extrapiramidales, alta incidencia de reacciones adversas a los neurolépticos y/o pérdida de conciencia. La autopsia de algunos pacientes con esta enfermedad ha puesto de manifiesto la presencia de placas seniles acompañadas de escasos o nulos ovillos neurofibrilares, cuerpos de Lewy y degeneración neuronal en estructuras corticales y subcorticales, incluido el PPTg (Steckler y cols., 1994a).

En comparación con la enfermedad de Alzheimer, en la demencia de cuerpos de Lewy suele haber graves alteraciones de la SN, presencia de cuerpos de Lewy y escasez de ovillos neurofibrilares. Además, comparados con pacientes con demencia tipo Alzheimer

de la misma edad, las personas con demencia de cuerpos de Lewy muestran más déficits atencionales, de memoria de reconocimiento y de memoria de trabajo espacial; y se ha postulado que esta mayor alteración atencional podría ser debida a la afectación de las interacciones entre los sistema colinérgico y dopaminérgico (Steckler y cols., 1994a).

La enfermedad de Alzheimer

En este tipo de demencia aparece un deterioro de la función intelectual, caracterizado sobretodo por amnesia, afasia y agnosia; acompañado por cambios en el estado de ánimo y de la personalidad. La disfunción del ciclo sueño-vigilia, concretamente el insomnio, también es una observación clínica bastante frecuente en este caso (Prinz y cols., 1990).

Algunos autores, han encontrado degeneración neuronal y ovillos neurofibrilares en el PPTg-pc (Jellinger, 1988; Zweig y cols., 1987; Rye, 1997; Mufson y cols., 1988; Woolf y cols., 1989; Steckler y cols., 1994a; Arendt y cols., 1995). Tales cambios patológicos, de todas formas, podrían ser un daño secundario, debido a que hay estudios que demuestran un número neuronal normal en el PPTg de algunos pacientes (Xuereb y cols., 1990; Jellinger, 1988; Woolf y cols., 1989; Zweig y cols., 1987; Steckler y cols., 1994a). Por otro lado, no puede descartarse la posibilidad de que los hallazgos que sugieren degeneración del PPTg en la enfermedad de Alzheimer se deban a que las muestras utilizadas incluyeran a algunos pacientes con demencia de cuerpos de Lewy (Steckler y cols., 1994a).

Aún así, se ha especulado que estas anomalías anatomopatológicas podrían contribuir a las alteraciones cognitivas que caracterizan a la demencia de Alzheimer (Mufson y cols., 1988; Woolf y cols., 1989; Steckler y cols., 1994a).

2.3.2. Esquizofrenia

La esquizofrenia es una enfermedad mental cuyos rasgos más característicos son las ideas delirantes, las alucinaciones, el lenguaje desorganizado, el comportamiento catatónico o gravemente desorganizado, y los síntomas negativos (por ejemplo, aplanamiento afectivo, alogia o abulia). No obstante, no parece ser una única entidad patológica, sino que es bastante heterogénea, lo que ha llevado a distinguir diferentes subtipos en función de la sintomatología predominante en el momento de la evaluación; el paranoide, el desorganizado, el catatónico, el indiferenciado y el residual.

Aunque existen muchas controversias respecto a la patología cerebral subyacente a la esquizofrenia, y probablemente ésta sea debida a múltiples alteraciones, principalmente a nivel de las neuronas dopaminérgicas mesocorticales, algunos datos la relacionan también con anomalías a nivel del PPTg, al menos en algunos de los subtipos de la enfermedad. Por ejemplo, se ha documentado la presencia de un aumento de más del 60% en el número de neuronas NADPH diaforasa-positivas (por lo tanto colinérgicas) del PPTg (pero no del LDTg) en algunas subpoblaciones de esquizofrénicos. Este dato sugiere una posible sobreactivación del PPTg en esta patología (Karson y cols., 1991; Steckler y cols., 1994a; Rye, 1997; Yeomans, 1995; Garcia-Rill y cols., 1995; Rye, 1997; Reese y cols., 1995b; Pahapill y Lozano, 2000). En cambio, no parece haber cambios en el número de neuronas del LC, estructura adyacente al PPTg, lo cual permite descartar que el incremento de neuronas colinérgicas sea debido a influencias metabólicas regionales o vasculares. No obstante, como considera Rye (1997), las alteraciones en la actividad colinérgica de la esquizofrenia podrían no ser generalizables a todos los esquizofrénicos, y podrían ser, al menos parcialmente, consecuencia de la medicación neuroléptica crónica.

Los esquizofrénicos suelen mostrar alteraciones del ciclo sueño-vigilia, tales como una reducción de los estadios 3 y 4 del SOL y una disminución de la latencia del SP. Desde la primera mitad del siglo pasado, se ha venido especulando repetidamente que las experiencias alucinatorias de los esquizofrénicos podrían representar intrusiones de los sueños (un fenómeno del SP) en la vida diaria (Rye, 1997; y Reese y cols., 1995b). Algunos datos apoyan el argumento de que la patofisiología que subyace al descontrol del SP y las alucinaciones podría residir en los circuitos colinérgicos troncoencefálicos. Así, aparte del aumento de neuronas colinérgicas del PPTg, a favor de esta hipótesis tenemos el hecho de que los agonistas muscarínicos agravan los síntomas negativos de la esquizofrenia (Yeomans, 1995; Rye, 1997). Por otro lado, la clozapina (un antagonista D₁), el fármaco de elección más corrientemente utilizado para la esquizofrenia resistente a los neurolépticos, fue desarrollado originalmente como un bloqueador colinérgico para la enfermedad de Parkinson. Su antagonismo colinérgico hace de él un neuroléptico muy inusual, con posibles acciones no sólo sobre el sistema colinérgico, sino también sobre los sistemas serotoninérgicos y dopaminérgicos. En este sentido podría ser que la clozapina ejerciera su acción vía (a) sus efectos sobre los inputs serotoninérgicos hacia el PPTg, (b) sus efectos sobre el bloqueo de la liberación colinérgica del PPTg en la SN, (c) sus efectos neurolépticos sobre los receptores estriatales dopaminérgicos. Es probable, pues, que en la

esquizofrenia haya alteraciones en diversos sistemas de neurotransmisores y ello podría explicar por qué los antagonistas colinérgicos, aunque atenúan los síntomas negativos de la esquizofrenia, no sólo no son eficaces para tratar los síntomas positivos de la misma, sino que incluso los empeoran (Reese y cols., 1995b).

Una explicación alternativa a las alteraciones del SP y a las alucinaciones típicas de la esquizofrenia podría residir en los circuitos de los ganglios basales que responden a la DA y que directamente hacen diana en la región del PPTg a través del tracto palidotegmental. La mayoría de las hipótesis acerca de las causas de la esquizofrenia han propuesto la existencia de un incremento de la actividad dopaminérgica a nivel de los circuitos límbicos talámo-córtico-estriatales para explicar los pensamientos intrusivos, las anomalías motoras y posturales, y los déficit en la entrada sensorial. Según estos modelos, la disminución del output GABAérgico desde los ganglios basales, incrementaría la actividad talámo-cortical. Sin embargo, estos modelos no suelen tener en cuenta que el PPTg es un componente de estas vías eferentes desde el estriado, y que, por tanto, la afectación del flujo de salida estriatal también desinhibiría a las neuronas del PPTg. A su vez, estas neuronas aumentarían la excitación talámo-cortical y de los centros pontinos del SP, lo cual podría explicar algunos de los síntomas de los pacientes esquizofrénicos (Rye, 1997). Además, podría ser relevante tener en cuenta esta organización del output de los ganglios basales hacia la región del PPTg para otros trastornos mentales, como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, el trastorno obsesivo-compulsivo y el trastorno de la Tourette; donde los modelos biológicos han enfatizado también la importancia del aumento dopaminérgico de la actividad talámo-córtico-estriatal en los circuitos de los ganglios basales paralelos a aquellos implicados en la esquizofrenia (Rye, 1997).

Por otro lado, los pacientes esquizofrénicos suelen mostrar alteraciones de los movimientos oculares de seguimiento suaves y un incremento en el nivel de parpadeo. Se ha sugerido que este aumento en el parpadeo podría ser causado por un proceso neurodegenerativo pontino (Reese y cols., 1995b).

La sobreactividad del PPTg podría ser debida, no sólo a un aumento en el número de neuronas colinérgicas de dicha región, sino también a una hipersensibilidad de receptores colinérgicos. Ambas situaciones inducirían un impulso incrementado en el talámo y un aumento de la desincronización cortical (responsable quizás de la menor habituación y el aumento del “arousal” de estos pacientes), así como un mayor vigor del SP. Ello podría

explicar algunos de los síntomas de la esquizofrenia (alteraciones en la regulación del sueño-vigilia, anomalías en los inputs sensoriales, etc.) (Reese y cols., 1995b; Yeomans, 1995).

En resumen, el aumento de la activación talámica por parte del PPTg podría ser responsable de la alteración de los mecanismos de sueño-vigilia, de las alucinaciones, de las anomalías en el procesamiento de los inputs sensoriales, etc., que se dan en esta enfermedad. Por otro lado, también hay un incremento de la influencia mesopontina colinérgica en otras áreas cerebrales. Conocer con más precisión el papel de las neuronas colinérgicas mesopontinas en la esquizofrenia podría ser de gran utilidad para entender los síntomas de este trastorno y realizar avances terapéuticos significativos (Reese y cols., 1995b; Yeomans, 1995).

2.3.3. Trastornos emocionales

Depresión

Este trastorno del estado de ánimo se caracteriza por tristeza, anhedonia, cambios en el apetito y el peso, insomnio o hipersomnia, agitación o enlentecimiento psicomotores, fatiga o pérdida de energía, sentimientos de culpa o inutilidad inapropiados, dificultades para pensar o concentrarse, indecisión, pensamientos recurrentes de muerte e incluso suicidio. Se han descrito alteraciones del sueño en general, y del SP en particular, en pacientes con depresión. Algunas de estas alteraciones se asemejan a las observadas en la narcolepsia: menor latencia del SP nocturno, aumento de los eventos fásicos de esta fase del sueño en el primer periodo de sueño nocturno, insomnio e intromisiones del SP durante la vigilia, aunque con una latencia muy superior a la observada en la narcolepsia (Prinz y cols., 1990; Rye, 1997).

Dos son principalmente las hipótesis que se han propuesto para explicar estas observaciones: el modelo de la interacción recíproca de Hobson y McCarley, y el modelo de la proporción incrementada de la actividad colinérgica en comparación con la catecolaminérgica (“increased cholinergic to catecholaminergic activity ratio model”) (Rye y cols., 1997). Las dos propuestas no son mutuamente excluyentes. El modelo de la interacción recíproca sostiene que habría un tono monoaminérgico deficiente, principalmente a nivel del rafe dorsal, el cual induciría una desinhibición del complejo

PPTg/LDTg que controla el sueño REM. Alternativamente, la hipótesis de la actividad colinérgica incrementada sugiere que las alteraciones del sueño REM descritas reflejan un aumento de la sensibilidad de los receptores muscarínicos a la ACh liberada desde los circuitos del PPTg/LDTg promotores del sueño REM. Este aspecto está respaldado por el descubrimiento de que los agonistas muscarínicos disminuyen la latencia del sueño REM en depresivos y en sus familiares con riesgo de desarrollar depresión (Rye y cols., 1997).

Cabe tener en cuenta, asimismo, que tanto la privación de SP como la privación total de sueño parecen constituir terapias eficaces (aunque no prácticas) contra la depresión, lo cual sugiere que el SP y el estado de ánimo podrían estar de alguna manera relacionados de forma causal (Wu y Bunney, 1990).

Trastornos de ansiedad

La ansiedad es una respuesta normal ante amenazas reales o imaginarias, que prepara al organismo para reaccionar delante de una situación percibida como peligrosa, y que formaría parte de un mecanismo de adaptación para la supervivencia del individuo. Sin embargo, a menudo genera molestias físicas y emocionales, que en algunos casos pueden hacerla contraproducente, convirtiéndola en anormal o patológica cuando la reacción emocional es desproporcionada al estímulo y mantiene al sujeto en un estado de hiperactivación inadecuado. Se han clasificado diferentes tipos de trastornos de ansiedad en función de los síntomas que presentan los pacientes, aunque en todos ellos aparece ansiedad patológica y conductas de evitación; a continuación hablaremos de algunos de ellos y expondremos los resultados de algunos estudios que los relacionan con anomalías en la actividad del PPTg.

Los estudios fisiológicos de pacientes con trastorno por estrés postraumático revelan que éstos tienen una elevada actividad simpática, junto con una incrementada respuesta a estímulos tanto neutros como estresantes, una respuesta de alarma hiperactiva, y un vigor de sueño REM más intenso y prolongado de lo normal (Reese y cols., 1995b).

Otros trastornos de ansiedad, como el trastorno de angustia (“panic disorder”) también podría estar involucrado en este sistema neural. Los individuos con crisis de angustia y los sujetos con el trastorno por estrés postraumático responden a la administración de lactato o yohimbina, un antagonista del receptor α -2 noradrenérgico, con un aumento del ritmo cardíaco y la presión sanguínea y con ansiedad y pánico. Además, la

administración de clonidina, un agonista del receptor α -2 noradrenérgico, disminuye la presión sanguínea y la ansiedad en mayor grado en pacientes con trastorno de ansiedad que en sujetos controles (Reese y cols., 1995b). Como el receptor α -2 está considerado un autorreceptor inhibitorio en las neuronas noradrenérgicas del LC, estos resultados podrían sugerir que la sobreactivación del output de este núcleo produce ansiedad. Las interpretaciones clásicas de la producción de ansiedad debida a la activación del LC, no obstante, han sido cuestionadas y, usando técnicas de microinyección, se ha visto que, en contra de lo esperable, los agentes que disminuían la actividad del LC tenían efectos ansiogénicos, mientras que los que incrementaban la actividad de esta misma estructura neural eran ansiolíticos (Reese y cols., 1995b).

En este mismo sentido, Reese y cols. (1995b), analizando los cerebros de una muestra de pacientes con estas psicopatologías hallaron una disminución del número de células noradrenérgicas del LC, lo cual sugiere que la disminución de actividad del LC podría tener efectos ansiogénicos. Para entender mejor este efecto, se ha de tener en cuenta lo representado en la fig. 4. del punto 2.2.1.2. de este trabajo. Como se ha mencionado anteriormente, el LC inhibe las neuronas colinérgicas mesopontinas, probablemente a través de un receptor noradrenérgico α -2 (Reese y cols., 1995b). Una disminución de la actividad de este núcleo provocaría desinhibición del PPTg, y, por consiguiente, una mayor actividad del brazo colinérgico del SRAA. Esta condición puede explicar algunos de los síntomas del trastorno de ansiedad descrito arriba, tales como el incremento del sueño REM, el hiperarousal y la hiperactividad de la respuesta de alarma. A favor de esta hipótesis está el hecho de que los pacientes con estrés postraumático, al igual que lo expuesto anteriormente para los esquizofrénicos, muestran una menor habituación del potencial P1 ante la estimulación repetida (Freedman y cols., 1983; Reese y cols., 1995b), lo cual podría ser debido a la desinhibición del output mesopontino colinérgico.

La disminución de neuronas del LC en pacientes con diversas patologías ansiogénicas podría ser debida a diversas etiologías, como la exposición crónica a agentes terapéuticos o drogas de abuso. Sin embargo, no puede descartarse que esta disminución celular sea consecuencia de la enfermedad, y no su causa (Reese y cols., 1995b). Por ejemplo, la muerte de neuronas del LC podría ser debida a una excesiva activación crónica del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HPA), que podría tener efectos tóxicos sobre dichas neuronas, al igual que lo tiene sobre neuronas hipocampales (Sapolsky y cols.,

1984; Reese y cols., 1995b). Es decir, en algunos casos, los trastornos de ansiedad, a través de una respuesta exagerada al estrés podrían conducir a la muerte de neuronas del LC, con la consiguiente desinhibición del brazo colinérgico del SRAA. Además, la persistencia de dicha situación podría inducir eventualmente una completa pérdida de las neuronas del LC. Bajo tales circunstancias, una mitad del output del SRAA podría estar ausente, produciendo no hiperarousal, sino hipoarousal. Ello podría explicar, al menos en parte, el hecho de que casi una mitad de los pacientes con el trastorno por estrés postraumático suelen desarrollar en último lugar depresión, quizás debido a la depleción noradrenérgica. (Reese y cols., 1995b).

2.3.4. Trastornos del sueño

La narcolepsia

La narcolepsia es un trastorno neurológico caracterizado por ataques de sueño durante el día, cataplexia (pérdida súbita parcial o generalizada del tono muscular), parálisis del sueño (parálisis generalizada antes o al inicio del sueño o durante el despertar), trastorno conductual del sueño REM (SP sin atonía muscular), y alucinaciones hipnagógicas (alucinaciones al inicio del sueño) e hipnopómpicas (alucinaciones al despertar). La polisomnografía frecuentemente revela una latencia disminuida del sueño REM y dos o más periodos de ataques de sueño REM durante el día siguiente (Rye, 1997). Como ya se ha señalado en el apartado 2.2.1.2., las inyecciones de agonistas colinérgicos en regiones de la formación reticular pontina inducen sueño REM, mientras que la lesión de algunas de estas regiones pueden abolir la atonía muscular del sueño REM (Reese y cols., 1995). Diversos datos sugieren que el SP patológico que acompaña a la narcolepsia refleja, al menos en parte, una respuesta aumentada de los receptores muscarínicos colinérgicos postsinápticos a la ACh liberada desde los axones terminales del grupo PPTg/LDTg a nivel de la formación reticular pontina medial (Rye, 1997). Asimismo, se ha descrito un incremento en el número de neuronas colinérgicas del complejo PPTg/LDTg en el modelo canino de la narcolepsia.

Según los datos anatómicos y fisiológicos discutidos anteriormente (véase apartado 2.2.1.1.), la desinhibición de las rutas eferentes del PPTg-pc podrían promover las ondas PGO y el sueño REM, mientras que una acción similar sobre las rutas descendentes

glutamatérgicas desde el PPTg-pd podría aumentar la atonía del REM (Rye, 1997). El hecho de que las neuronas noradrenérgicas hiperpolaricen a la colinérgicas del PPTg que promueven la atonía del sueño REM (como indicamos en el punto 2.2.1.2.), podría explicar por qué los antagonistas α_1 -adrenérgicos agravan la cataplexia, mientras que la atropina bloquea este efecto. Se cree asimismo que la cataplexia puede ser modulada por los circuitos del prosencéfalo basal que son sensibles a la ACh (Rye, 1997).

Si la narcolepsia está relacionada con un aumento en la actividad del PPTg y este núcleo se ha implicado en la producción y la inhibición de determinadas respuestas electrofisiológicas, como el potencial P1, sería de esperar que se encontraran alteraciones de esta onda en pacientes narcolépticos. De hecho, el equipo de Reese ha hallado una disminución o incluso ausencia del potencial P1 en sujetos narcolépticos, aunque no puede descartarse que este hallazgo fuera secundario a la medicación de los sujetos (Boop y cols., 1994; Reese y cols., 1995b). Por otro lado, los agentes farmacológicos que incrementan la disponibilidad sináptica de la 5-HT y la NA aumentan la amplitud del P1 en pacientes narcolépticos e hipersomnicos, pero no está claro si este efecto es dependiente de las vías ascendentes colinérgicas (Rye, 1997).

Sin embargo, hay autores que, a diferencia de lo que hemos expuesto anteriormente, interpretan que las alteraciones que se observan en la narcolepsia serían debidas, no a un aumento de la actividad del PPTg, sino a una reducción de la misma, y señalan que tal efecto podría ser debido a varios factores, incluyendo la pérdida neuronal del PPTg, la falta de inervación de sus regiones diana y la reducción del número de receptores colinérgicos de estas estructuras receptoras, la inhibición o subactivación del mencionado núcleo pontino, o una combinación de estos eventos (Reese y cols., 1995). A favor de esta interpretación alternativa está el hecho de que algunos estudios han hallado un aumento del recambio de 5-HT y NA, lo cual sugiere una sobreactivación de dos de los principales inputs inhibitorios del PPTg.

Por otra parte, Mileykovskiy y cols. (2000) proponen que la cataplexia representa un disparo de los mecanismos de la atonía del sueño REM (la activación de neuronas troncoencefálicas relacionadas con la inhibición del tono muscular), con una disminución simultánea de la actividad de las neuronas del LC, del CnF y del PPTg, implicadas en el incremento del tono muscular y la actividad motora.

El trastorno conductual del sueño REM

En este trastorno aparecen movimientos vigorosos y violentos durante el sueño REM, en lugar de presentarse atonía muscular. Puede estar presente en la enfermedad de Parkinson (15% de los pacientes), la atrofia de sistema múltiple ("multiple system atrophy"), la degeneración ponto-olivo-cerebelosa, y la narcolepsia (Rye, 1997).

El PPTg y la contigua región subcoeruleal han sido implicados en la patofisiología de este trastorno del sueño (Rye, 1997). Como sabemos, las neuronas glutamatérgicas y colinérgicas del PPTg juegan un papel crítico en el mantenimiento de la atonía, particularmente la atonía que acompaña al sueño REM (ver apartado 2.2.1.1.). Las neuronas de la parte difusa del PPTg muestran incrementos en su descarga neural específicos del sueño REM, proyectan a regiones bulbares esenciales para el mantenimiento de la atonía del REM y, cuando se lesionan liberan conductas complejas motoras en el sueño REM en animales y humanos (Rye, 1997). Por lo tanto, la patofisiología del trastorno conductual del sueño REM podría estar basada en alteraciones del PPTg.

Alternativamente, anomalías en las señales aferentes que se originan en los ganglios basales podrían alterar la actividad de esta región. Eferencias desde la SN-pr y el Gpi hacen contactos sinápticos con las neuronas tegmentales que proyectan hacia el bulbo ventromedial. Las neuronas del Gpi y la SN-pr descargan fásicamente a niveles que exceden los observados en la vigilia (200 vs. 50 Hz) y lo hacen conjuntamente con los eventos fásicos del sueño REM (movimientos oculares y ráfagas fásicas en el EMG), aunque no se ha establecido una relación causal directa. En cambio las neuronas de estos núcleos principales de output de los ganglios basales muestran niveles de descarga un poco inferiores a los de la vigilia durante los periodos de SP en los que predomina la atonía muscular.

Rye (1997) ha hipotetizado que gran parte del output GABAérgico de los ganglios basales hace diana en las neuronas glutamatérgicas del RRF y/o de la parte difusa del PPTg, que a su vez, activan la zona bulbar ventromedial que promueve la atonía del REM. El aumento en la descarga fásica del Gpi, que ocurre de manera transitoria o persistente en los estados patológicos (como en el Parkinson), inhibiría el PPTg, permitiendo así la expresión del movimiento durante el REM.

Será necesario, pues, investigar más en este aspecto para establecer que estos circuitos multisinápticos propuestos modulan los movimientos nocturnos, y son la base del trastorno conductual del sueño REM; así como para conocer los sustratos celulares y farmacológicos concretos implicados (Rye, 1997).

2.4. COMENTARIOS FINALES

En conclusión, teniendo en consideración todo lo que se ha ido exponiendo a lo largo del marco teórico de la tesis, podemos decir que el PPTg está implicado y regula una amplia variedad de funciones cognitivas y no cognitivas (sueño-vigilia, motricidad, motivación, recompensa, nocicepción, y respuesta visceral y del sistema nervioso autónomo), reflejo de la cantidad y diversidad de conexiones que establece esta estructura con otras regiones del sistema nervioso; no obstante, aparentemente, no parece ser imprescindible, tras un tiempo de recuperación de las lesiones, para el funcionamiento básico del organismo, para el control motor, la regulación del sueño, etc. (quizás por la acción de mecanismos compensatorios). Sin embargo, sí es necesario para la actividad cognitiva óptima del animal, y su destrucción parece producir un déficit en las funciones ejecutivas, que se haría más evidente cuando las demandas de la tarea se incrementan y cuando el sujeto está en un estado de “arousal” moderado-alto, repercutiendo en la adaptación del organismo a su entorno.

La alteración funcional del PPTg se ha implicado en diversos trastornos mentales, así como en patologías que tienen como principal manifestación alteraciones del SP: enfermedad de Parkinson, parálisis supranuclear progresiva, demencia de cuerpos de Lewy, enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, depresión, ansiedad, narcolepsia y el trastorno conductual del sueño REM. A pesar de sus marcadas diferencias, todas estas condiciones anormales presentan en común alteraciones, más o menos pronunciadas, del ciclo sueño-vigilia, de las funciones ejecutivas, y del nivel de activación cerebral.

La implicación del PPTg en los trastornos mencionados probablemente sea, una vez más, el reflejo de la posición que ocupa este núcleo en el sistema reticular activador y en los circuitos frontoestriatales. Sin embargo, pretender inferir el papel funcional del PPTg únicamente a través de los estudios clínicos es inadecuado, ya que en estas condiciones patológicas no existe el grado de control suficiente sobre las variables como para llegar a firmes conclusiones. Por otro lado, las manipulaciones discretas del PPTg en estudios con animales cuidadosamente controlados probablemente ofrezcan una más fidedigna base de datos a partir de la que discutir la función de esta estructura troncoencefálica, a pesar de que se debe ser cauto si se quiere generalizar los resultados obtenidos a los humanos. De esta manera, considerar tanto los estudios básicos como los clínicos aumentará nuestro

conocimiento de la significación neuropsicológica del PPTg, de la etiología de muchos de los trastornos en los que este núcleo se halla afectado, y se podrán ofrecer también mejores estrategias de evaluación y terapéuticas para tratar a los pacientes que sufren de estas psicopatologías.

3. EXPERIMENTO I

3.1. OBJETIVOS

Se ha constatado repetidamente (Fujimoto y cols., 1989, 1990 y 1992; Kessler y cols., 1986) que la lesión bilateral pre-entrenamiento del PPTg deteriora gravemente la adquisición del condicionamiento de evitación activa de dos sentidos (EV2). En todos estos estudios se ha utilizado ácido iboténico para realizar las lesiones, una excitotoxina que destruye los cuerpos neuronales, pero que no afecta las vías de paso ni daña la integridad de la barrera hematoencefálica, al menos cuando se utilizan dosis moderadas. Se sabe que el efecto de la lesión de una región diferente, el prosencéfalo basal, y más concretamente el NBM, puede variar en función del método de lesión utilizado: lesiones electrolíticas, diferentes excitotoxinas, como ácido iboténico, ácido quisquálico, AF64A (relativamente selectiva para las neuronas colinérgicas) o saporina (véase, por ejemplo, Vale-Martínez y cols., 2002); pero se desconoce, si estas mismas discrepancias resultan aplicables al PPTg.

Por otro lado, se ha hipotetizado que una de las variables que influiría en el efecto disruptor de la lesión del PPTg sobre el aprendizaje sería el nivel de dificultad impuesto por las condiciones de entrenamiento (Dellu y cols., 1991; Inglis y Winn, 1998; Steckler y cols., 1994a), aunque esta hipótesis se basa específicamente en los datos hallados en relación a aprendizajes de tipo apetitivo. No obstante, ninguno de los trabajos previos que han evaluado el efecto de la lesión del PPTg sobre el condicionamiento de EV2 han estudiado específicamente si el nivel de dificultad o de demanda impuesta por las condiciones de entrenamiento influye en el efecto disruptor observado. Entre las variaciones en las condiciones de entrenamiento que se ha demostrado que influyen en el nivel de dificultad del condicionamiento de EV2 se incluye la duración del EC. En términos generales y cuando los otros parámetros se mantienen inalterados, hay una relación directa entre la duración del EC y el número de respuestas de evitación efectuado por ratas no tratadas (Archer, 1982; Archer y cols., 1984; Clinker y Werbrouck, 1993; Coll-Andreu y cols., 1993; Edo-Izquierdo y cols., 1994). Dos de las explicaciones más plausibles, complementarias entre sí, de esta relación entre la duración del EC y la ejecución de la EV2 son las siguientes: (1) el EC, como estímulo de aviso que indica la aparición de un evento aversivo, puede ganar propiedades discriminativas cuando se aumenta su duración, facilitando entonces la formación de asociaciones entre el EC y el EI; (2) incrementando la duración del EC podría reducirse la demanda de un proceso rápido de

selección de respuestas y de ejecución, de manera que a los sujetos más lentos se les da la oportunidad de una ejecución mejor.

Teniendo en cuenta los antecedentes indicados, el presente estudio tiene como objetivos investigar: (1) si las lesiones electrolíticas pre-entrenamiento del PPTg deterioran la adquisición de la EV2, de forma similar a lo que ocurre tras las lesiones excitotóxicas; y (2) si esos efectos disruptores pueden ser modulados modificando la duración del EC.

3.2. MATERIALES Y MÉTODO

Todos los procedimientos empleados en este trabajo han sido llevados a cabo con el consentimiento del Consejo Directivo para el cuidado y el uso de animales de laboratorio de la Comunidad Económica Europea (86/609/EEC, del 24 de noviembre de 1986) y con las Directrices de la Generalitat de Catalunya (DOGC 2073 10/7/1995), y han sido aprobados por la Comisión de Ética en la Experimentación Animal y Humana (CEEAH) de nuestra Universidad (Número de orden del Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca (DARP): 604).

3.2.1. Sujetos

Para la realización de este experimento se ha utilizado un total de 45 ratas macho albinas de la cepa Wistar, procedentes del estabulario de cría de nuestro laboratorio. La edad media de estos animales al inicio del experimento era de 89.78 días (SD = 8.48) y su peso medio era de 426.73 gramos (SD = 53.9). Como se especificará más adelante (ver punto 3.3.1.), 38 de estos sujetos superaron todas las fases experimentales según los criterios establecidos.

Seis o siete días antes de las primeras manipulaciones, cada sujeto era alojado en una jaula individual de material plástico (42 × 26 × 14 cm) cubierta con una tapa de enrejado metálico y con una cama de virutas, situada en un estabulario mantenido en condiciones controladas de temperatura (20-23°C) y de humedad (40-70%), y bajo un ciclo artificial de luz (8-20 horas)-oscuridad (20-8 horas). Diariamente se llevaba a cabo un control del peso y la limpieza de los animales, los cuales disponían de agua y comida “ad libitum”.

3.2.2. Grupos experimentales

Al inicio del experimento, los sujetos fueron asignados al azar a uno de los siguientes cuatro grupos experimentales: **Lesión-3** (n=15), **Lesión-10** (n=10), **Control-3** (n=10) y **Control-10** (n=10). Todas las ratas de los dos grupos de lesión fueron sometidas a lesiones electrolíticas bilaterales del PPTg, mientras que los animales de los dos grupos control fueron sujetos al mismo tipo de intervención quirúrgica, pero sin practicar ninguna lesión. Entre ocho y nueve días después de la intervención quirúrgica, los animales eran sometidos a una sesión de entrenamiento en la conducta de EV2, formada por 30 ensayos. Diez días

después de dicha sesión de adquisición, se realizaba otra sesión de condicionamiento, idéntica a la sesión de adquisición, para medir la retención a largo plazo del aprendizaje. El entrenamiento se realizaba con un EC de 3 segundos (“alta demanda”) en los grupos Lesión-3 y Control-3, y de 10 segundos de duración (“baja demanda”) en los grupos Lesión-10 y Control-10.

3.2.3. Cirugía

La intervención estereotáxica se realizó siguiendo procedimientos convencionales de cirugía y utilizando un aparato estereotáxico (modelo 1504, David Kopf Instruments, USA) con adaptador para ratas.

Previamente a la operación, los sujetos fueron anestesiados con clorhidrato de ketamina administrado de forma intra-peritoneal (Ketolar®, Parke-Davis, 110 mg/kg) más xilazina (Rompum®, Bayer, 0.2ml/Kg). También se les inyectó, por vía intra-muscular, Estreptomina, un antibiótico de amplio espectro (Estrepto P.H.®; dosis única de 0.2 ml) para evitar posibles infecciones postoperatorias. Una vez finalizada la intervención se suturaba la herida y se aplicaba además un antiséptico tópico (Topionic®, Rius) sobre la herida quirúrgica. Durante la operación, la temperatura corporal de los animales se mantenía constante mediante una almohadilla eléctrica termostataada.

Para practicar las lesiones electrolíticas se insertaban bilateralmente electrodos bipolares de acero inoxidable enrollado (“Plastics one” MS 303/1; de 0.5 mm de diámetro) en el PPTg. La barra incisoria se situó a 2.7 mm debajo de la línea interaural y las coordenadas estereotáxicas utilizadas, según el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (Paxinos y Watson, 1997), fueron las siguientes: AP:–7.8 desde bregma, L:+/–1.8 a partir de la línea media, y P:–7.8 mm desde la superficie craneal (ver figura 5). Los animales de los dos grupos Lesión fueron sujetos a lesiones electrolíticas bilaterales del PPTg, que se realizaron liberando una corriente d.c. de 1.00 mA durante 10 segundos (generador de lesiones Cibertec GL-2) entre los dos polos de los electrodos bipolares en cada uno de los dos hemisferios. Los electrodos eran extraídos del encéfalo una vez finalizado este procedimiento. Las ratas de los dos grupos Control eran sometidas a idénticos procedimientos quirúrgicos, excepto por el hecho de que no se les aplicaba corriente a través de los electrodos.

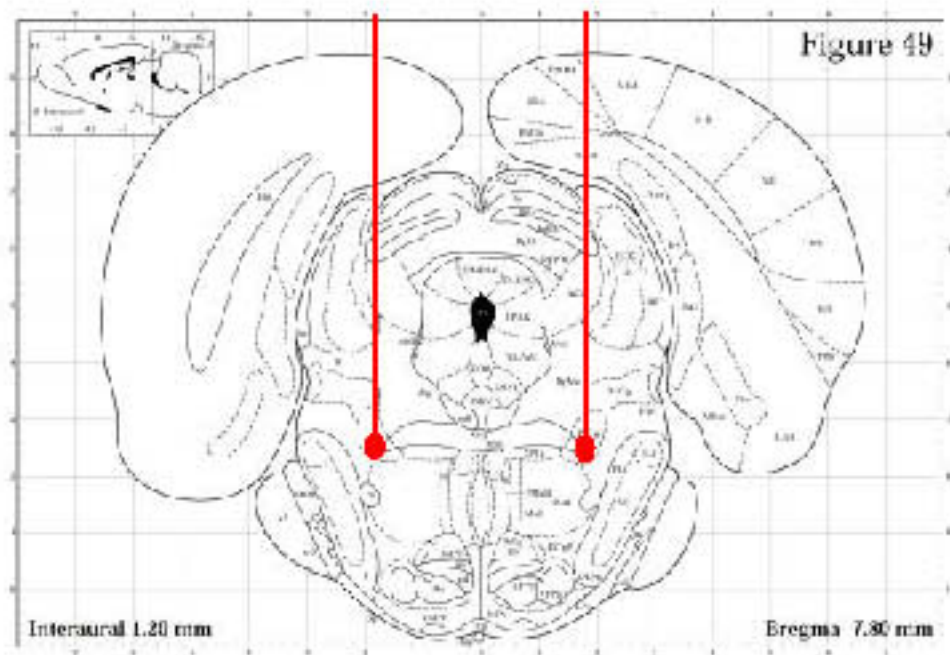


Fig. 5. *Coordenadas estereotáxicas correspondientes al PPTg, según el atlas de Paxinos y Watson (1997), y representación de la trayectoria de paso y la localización del electrodo.*

Después de la intervención quirúrgica, se aplicaba el protocolo de supervisión indicado en el anexo 1 (ver punto 9) para controlar la recuperación de los animales.

3.2.4. Tarea de evitación activa de dos sentidos

El entrenamiento en la tarea de EV2 tenía lugar entre 8 y 9 días después de la intervención quirúrgica. Previamente al inicio del entrenamiento, a las ratas se les permitía deambular libremente en la caja de condicionamiento durante 10 minutos para que estuvieran familiarizadas con esta. Durante esta fase se registraba el número de cruzamientos que hacían los animales de un compartimento a otro de la caja. Según diversos autores, el hecho de realizar unas sesiones de adaptación en la jaula de entrenamiento antes de las sesiones propias de aprendizaje puede paliar los posibles efectos interferentes sobre el aprendizaje causados por la exposición a estímulos nuevos (Dieter, 1977; McAllister y cols., 1979). Por otro lado, algunos autores (McAllister y cols., 1979) consideran que la exploración de la caja de evitación antes del entrenamiento disminuye la frecuencia de aparición de seudoevitaciones y, de este modo, puede minimizar o evitar la posible contaminación en la tasa de evitaciones.

El condicionamiento se realizaba en una caja de EV2 automatizada de $50 \times 24 \times 23$ cm (Letica LI-916), construida de plexiglas y subdividida en dos compartimentos virtuales, sin ninguna separación física entre ellos, con barras en el suelo independientes de acero inoxidable y electrificadas. Todo el dispositivo se hallaba en el interior de una caja de insonorización dotada de un extractor de aire que producía un sonido para enmascarar ruidos externos. La luz ambiental provenía de dos bombillas piloto de 2,8 W cada una situadas en el techo de la jaula de evitación (ver figura 6).



Fig. 6. *Sujeto experimental en una de las cajas experimentales de EV2 (Laboratorio de Psicobiología, U.A.B.)*

El EC consistía en un tono de 60-dB de intensidad y 1-kHz de frecuencia, cuya duración era de 3 segundos en los grupos Lesión-3 y Control-3 (“tarea de alta demanda”) y de 10 segundos en los grupos Lesión-10 y Control-10 (“tarea de baja demanda”). El EI aversivo consistía en una descarga eléctrica de 0.5 mA de intensidad, de corriente positiva constante de media-onda y 100-Hz, cuya duración máxima era de 20 segundos. El intervalo entre ensayos era variable y de 1-minuto de duración (con un rango de 50 a 70 segundos).

Cuando aparecía el EC los animales tenían que cruzar al otro lado de la jaula (respuesta de evitación) para desconectarlo y evitar la aparición del EI. Si no ejecutaban la

respuesta de evitación, aparecía el EI, el cual duraba hasta que se emitía una respuesta de escape o hasta que transcurrieran 20 segundos.

La caja experimental estaba conectada a un ordenador que controlaba el programa de entrenamiento y registraba el número de respuestas de evitación y de escape, las latencias de respuesta, y el número de cruzamientos que los animales realizaban entre los dos lados de la caja de EV2. La conducta abierta de los animales mientras estaban en la caja de condicionamiento se observaba a través de una ventana de plexiglás rojo situada en la parte frontal de la caja de insonorización.

Una vez finalizada la sesión, los sujetos eran retornados a sus jaulas habituales y situados en el estabulario general hasta la próxima sesión.

Para valorar el nivel de retención a largo plazo (RLP) del condicionamiento, todas las ratas fueron sometidas a otra sesión de EV2, idéntica a la sesión de adquisición, excepto por el hecho de que el periodo de libre deambulación por la jaula, previo al inicio del condicionamiento, era de sólo 60 segundos. Esta sesión de RLP tenía lugar diez días después de la sesión de adquisición. Después de dicha sesión, los animales eran sacrificados.

3.2.5. Histología

Al final del experimento, para determinar la localización de la lesión y la trayectoria de los electrodos, se realizaron los análisis histológicos siguiendo el procedimiento que se expone a continuación:

1. Eutanasia de los animales mediante una sobredosis de tiopental sódico (Pentothal Sodico®, Abbott; 200 mg/Kg).
2. Perfusión del sistema vascular y fijación del tejido con solución salina fisiológica al 0.9% seguida de una solución de formalina al 10%.
3. Extracción de los cerebros y reserva en formalina al 10%.
4. Extracción de las meninges e inmersión en una disolución de sacarosa (30 gr./100ml de agua destilada) 24-48 horas antes de ser seccionados. A

continuación, obtención de secciones seriadas del tejido nervioso de 40 μm de grosor mediante un criostato (CRYOCUT 1800, con microtomo 2020, JUNG).

5. Tinción del tejido nervioso mediante el método de violeta de cresilo.
6. Examen neuroanatómico de las secciones cerebrales para evaluar las áreas de marcada gliosis y de pérdida neuronal, así como la trayectoria de los electrodos, mediante un negoscopio (Kaiser RS2) acoplado a un aparato amplificador (SSC-C35OP Sony Color) y a un monitor (Sony KX-14CP1), y con la ayuda del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1997).

3.2.6. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados mediante diversos análisis multivariantes de la variancia (MANOVA; SPSS 10.0) con un diseño de $2 \times 2 \times 2$: (1) Tratamiento (dos categorías: Lesión y Control) \times Duración del EC (dos categorías: 3- y 10-s) \times Sesión (dos medidas intra-sujetos: adquisición y retención a largo plazo); o bien con un diseño de 2×2 : (1) Tratamiento (dos categorías: Lesión y Control) \times Duración del EC (dos categorías: 3- y 10-s), cuando fue necesario. La significación se fijó al nivel de $p \leq 0.050$.

3.2.7. Resumen del diseño experimental

GRUPO	FASES EXPERIMENTALES				
Lesión-3	Intervención estereotáxica con lesión electrolítica	8 o 9 días de recuperación y supervisión postoperatoria	10 min. de adaptación + 1 sesión de 30 ensayos de EV2	10 días de descanso	1 min. de adaptación + 1 sesión de 30 ensayos de EV2
Control-3	bilateral del PPTg o inserción bilateral de los electrodos sin lesión para los controles		con el EC=3 s. "Tarea de alta demanda"		con el EC=3 s. para valorar la retención a los 10 días
Lesión-10	Coordenadas estereotáxicas:		10 min. de adaptación + 1 sesión de 30 ensayos de EV2		1 min. de adaptación + 1 sesión de 30 ensayos de EV2
Control-10	AP: -7.8 L: +/- 1.8 P: -7.8		con el EC=10 s. "Tarea de baja demanda"		con el EC=10 s. para valorar la retención a los 10 días

Tabla 2. Resumen del diseño del experimento I.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Análisis histológicos, observaciones generales y peso corporal

Las preparaciones histológicas se examinaron separadamente por dos personas que no conocían ni el grupo ni la ejecución de los sujetos.

De la muestra inicial de 45 sujetos, a partir de los análisis histológicos eliminamos del experimento siete sujetos, 5 del grupo Lesión-3 y 2 del grupo Lesión-10, debido a alguno de los siguientes motivos: 1) las lesiones no afectaban al PPTg, 2) las lesiones producían daños al PPTg, pero también afectaban en gran medida a estructuras adyacentes, y 3) las lesiones sólo afectaban unilateralmente al PPTg, mientras que en el otro hemisferio se hallaban lesionadas estructuras adyacentes. Por lo tanto, la muestra final consistió en 38 ratas distribuidas en los cuatro grupos descritos en los procedimientos: Lesión-3 (n=10), Control-3 (n=10), Lesión-10 (n=8), y Control-10 (n=10).

La fig. 7 (ver pág. siguiente) ilustra las reconstrucciones de las extensiones más pequeñas (áreas rayadas) y más grandes (áreas punteadas) de las lesiones de cada uno de los grupos lesionados para cada uno de los niveles anteroposteriores del núcleo en donde hemos detectado gliosis y pérdida neuronal (Paxinos y Watson, 1997). En todas las ratas control las trazas de los electrodos se encontraron en las coordenadas correspondientes del PPTg. Como se indica en la figura 7, en los sujetos lesionados incluidos en los análisis estadísticos, la lesión se hallaba comprendida entre las coordenadas anteroposteriores, respecto a Bregma, -6.80 y -8.30. En algunos sujetos la lesión afectaba también ligeramente a algunas de las siguientes áreas circundantes: campo y núcleo retrorrubral, núcleo mesencefálico profundo, núcleo microcelular tegmental y núcleo cuneiforme.

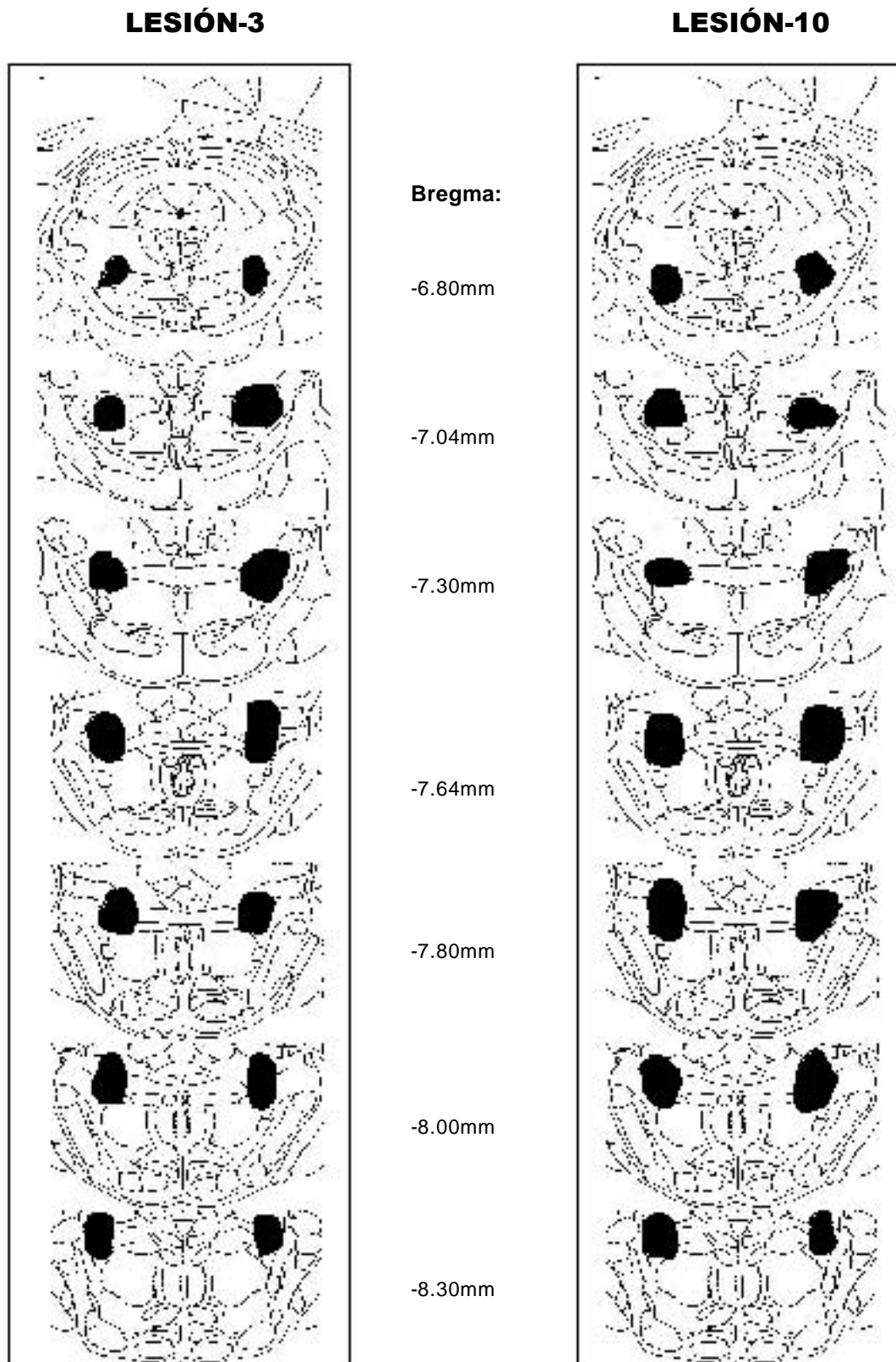


Fig. 7. *Reconstrucción de las extensiones más pequeñas (áreas rayadas) y más grandes (áreas punteadas) de las lesiones para cada uno de los dos grupos lesionados. Las lesiones están representadas en dibujos tomados del atlas de Paxinos y Watson (Paxinos y Watson, 1997).*

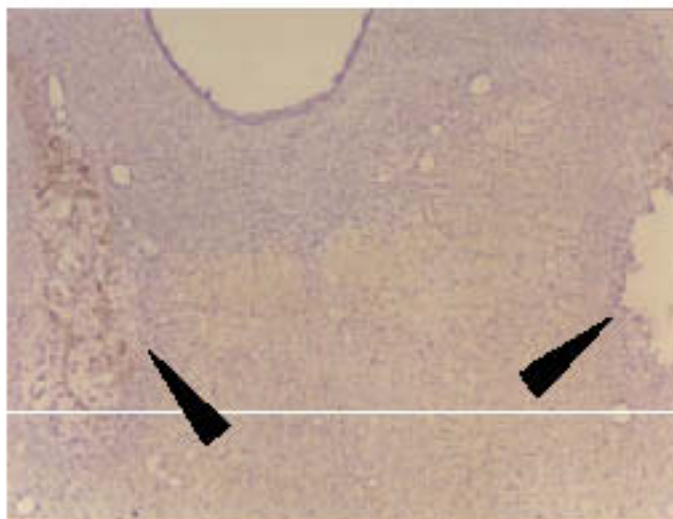


Fig. 8. Tinción con violeta de cresilo de un sujeto del grupo de lesión electrolítica bilateral del PPTg. Puede observarse la zona de gliosis correspondiente al PPTg en ambos hemisferios (flechas negras).

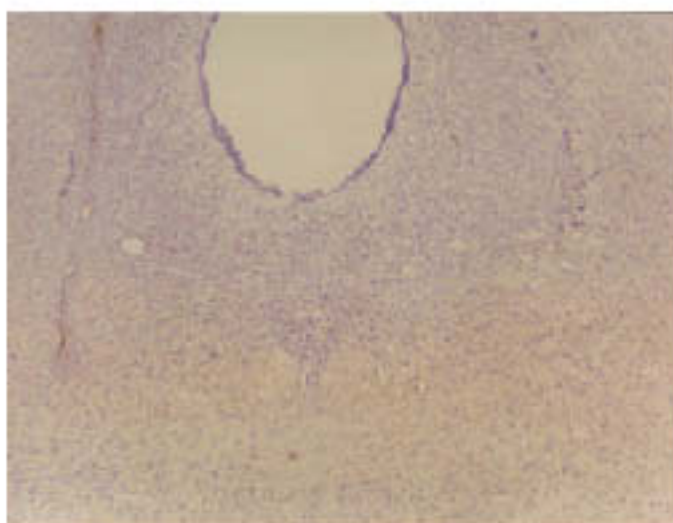


Fig. 9. Tinción con violeta de cresilo de un sujeto del grupo de control. Puede observarse la traza dejada por la trayectoria del electrodo de lesión y la zona del PPTg intacta en ambos hemisferios.

En ninguno de los animales incluidos en el experimento se observaron anomalías motoras ni otras alteraciones conductuales visibles. Tampoco se encontraron diferencias entre grupos (MANOVA) en el peso corporal de las ratas, ni antes ni después de los procedimientos quirúrgicos; el único efecto significativo fue el de la fase [Fase experimental: $F(3,102) = 63.44$; $p < 0.001$], ya que los animales tuvieron pesos un poco

más bajos en la separación e inmediatamente antes de la sesión de adquisición, así como más altos cuando se realizó la retención (tabla 3 y fig. 10).

PESO DE LOS ANIMALES EN LAS DIFERENTES FASES EXPERIMENTALES

GRUPO EXPERIMENTAL	SEPARACIÓN		INTERVENCIÓN		ADQUISICIÓN		RETENCIÓN	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Lesión-3	435.40	53.76	452.30	59.81	444.40	66.35	479.20	57.64
Lesión-10	418.62	33.89	440.62	37.17	424.87	39.08	463.62	29.79
Control-3	412.10	42.30	431.50	37.97	429.60	29.82	464.80	26.73
Control-10	408.40	47.06	427.60	42.58	425.9	38.17	457.50	33.88
TOTAL	418.63	44.84	437.86	44.95	431.52	44.66	466.42	38.69

Tabla 3. Medias y desviaciones estándar del peso corporal de las ratas en cada una de las fases del experimento.

EVOLUCIÓN DEL PESO A LO LARGO DEL EXPERIMENTO 1

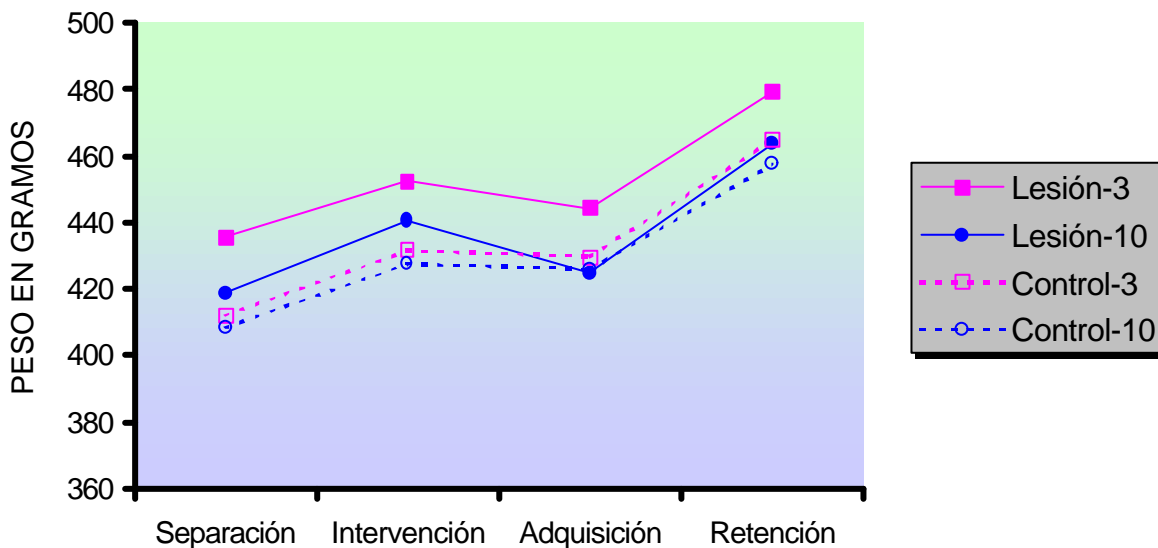


Fig. 10. Evolución del peso de los diferentes grupos a lo largo de todo el procedimiento experimental.

3.3.2. Adquisición y retención a largo plazo de la evitación activa de dos sentidos: número de respuestas de evitación

La figura 11 (pág. siguiente) representa el número medio de evitaciones (+ SEM) en las sesiones de adquisición y RLP para cada uno de los grupos experimentales. En la tabla 4 se indican las medias y las desviaciones estándar de la variable número de respuestas de evitación para cada uno de los diferentes grupos experimentales.

RESPUESTAS DE EVITACIÓN

GRUPO EXPERIMENTAL	ADQUISICIÓN		RETENCIÓN	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Lesión-3	3.5	4.92	3.9	5.56
Lesión-10	8.62	5.39	6.75	4.02
Control-3	13.2	7.03	17	7.48
Control-10	16.6	6.94	21.9	3.69
TOTAL	10.57	7.82	12.68	9.16

Tabla 4. Medias y desviaciones estándar de las respuesta de evitación para cada grupo en la sesión de adquisición y en la de retención.

Como puede verse el número medio de evitaciones era sensiblemente inferior en los animales de los dos grupos de Lesión que en los sujetos de los grupos Control, independientemente de las condiciones de entrenamiento. Los análisis de la variancia (MANOVA) confirmaron la existencia de estas diferencias [Tratamiento: $F(1,34) = 52.20$; $p < 0.001$]. Tanto en los sujetos controles como en los lesionados, el número medio de respuestas de evitación fue significativamente más alto con el uso del EC de 10 segundos que cuando se utilizó el EC de 3 segundos [Duración del EC: $F(1,34) = 6.56$; $p = 0.015$]. Por otra parte, no se encontró interacción entre estos dos factores principales (Tratamiento \times Duración del EC).

RESPUESTAS DE EVITACIÓN

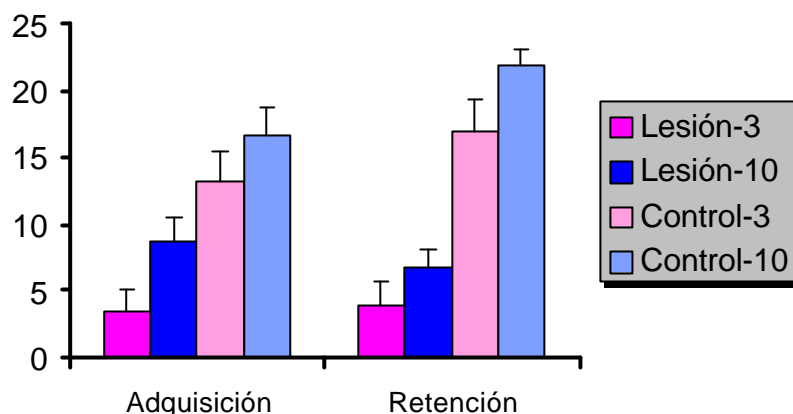


Fig. 11. Número medio de respuestas de evitación (+SEM) para los cuatro grupos durante la adquisición y la retención. El número de respuestas de evitación fue significativamente más bajo en los animales lesionados respecto a los controles. Tanto en los animales control como en los lesionados, la ejecución fue peor en la condición de entrenamiento con el EC de 3 segundos que en la que tenía el EC de 10 segundos.

Estos resultados indican que la tarea de baja demanda (duración del EC de 10 segundos) se asoció a una mejor ejecución que la tarea de alta demanda (duración del EC de 3 segundos) tanto para los animales pertenecientes al grupo control como para los del grupo lesión. De todas maneras, en ambas condiciones de entrenamiento, las lesiones del PPTg indujeron un deterioro significativo de las respuestas de evitación.

La interacción Sesión \times Tratamiento resultó significativa [$F(1,34) = 6.34$; $p = 0.017$]. Este resultado indica que el número de respuestas de evitación fue diferente en las dos sesiones de entrenamiento para los grupos control, pero no para los grupos lesión; en concreto, los animales Control mostraron una mejoría de la ejecución en la sesión de retención respecto a la sesión de adquisición. En cambio, en los animales lesionados el nivel de ejecución se mantuvo igual de baja en la sesión de retención que en la de adquisición.

3.3.3. Número de cruzamientos durante la adaptación a la caja experimental y durante el entrenamiento

Tal como puede observarse en la figura 12, no se encontraron diferencias estadísticas (MANOVA) entre las dos condiciones de tratamiento (lesión y control) en cuanto al

número de cruzamientos entre los dos lados de la caja experimental durante los 10 minutos de adaptación previos a la sesión de adquisición.

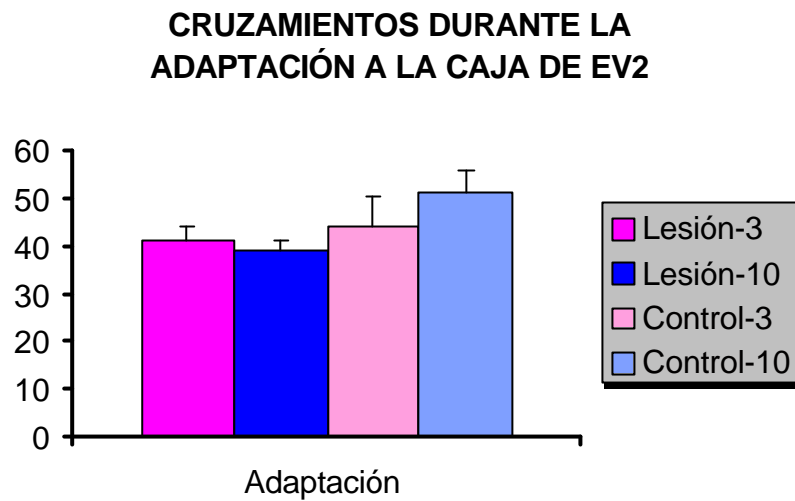


Fig. 12. Número medio de cruzamientos entre compartimentos durante los diez minutos de adaptación a la jaula experimental. No se observaron diferencias entre grupos.

En cambio, tal como se muestra en la fig. 13 y en la tabla 5 (pág. siguiente), los dos grupos de lesión realizaron un número de cruzamientos entre-ensayos significativamente inferior a los grupos control tanto en la sesión de adquisición como en la de retención [Tratamiento: $F(1,33) = 28.60$; $p < 0.001$]. En uno de los sujetos del grupo Lesión-3 el ordenador no registró los cruzamientos entre-ensayos ni las latencias de respuesta de una de las sesiones; por esta razón, los análisis estadísticos (MANOVA) para estas dos variables se realizaron con 37 sujetos. No se encontró ningún otro efecto significativo.

CRUZAMIENTOS ENTRE-ENSAYOS

GRUPO EXPERIMENTAL	ADQUISICIÓN		RETENCIÓN	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Lesión-3	20.88	13.86	26.11	17.12
Lesión-10	43.37	18.08	41.37	16.16
Control-3	78.9	27.33	84.7	27.85
Control-10	81.6	38.38	92.7	56.1
TOTAL	57.83	36.46	63.24	43.78

Tabla 5. Medias y desviaciones estándar del número de cruzamientos entre-ensayos para cada grupo en la sesión de adquisición y en la de retención.

CRUZAMIENTOS ENTRE-ENSAYOS

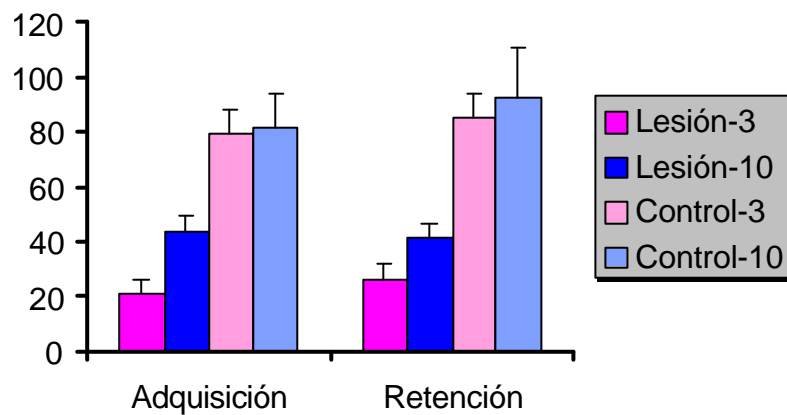


Fig. 13. Número medio de cruzamientos entre-ensayos (+SEM) durante las sesiones de adquisición y de retención para los cuatro grupos experimentales. El número de cruzamientos entre-ensayos fue significativamente inferior en los dos grupos lesionados en comparación con los dos grupos control.

3.3.4. Latencias de las respuestas de escape

En la tabla 6 se indican las medias y las desviaciones estándar de la variable latencias de escape (tiempo transcurrido entre el inicio del EI y la respuesta de escape). Las medias (+SEM) de dicha variable se representan en la figura 14 (pág. siguiente).

LATENCIAS DE ESCAPE

GRUPO EXPERIMENTAL	ADQUISICIÓN		RETENCIÓN	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Lesión-3	3.64	2.21	2.78	1.94
Lesión-10	1.95	1.37	2.26	1.2
Control-3	1.28	0.82	1.21	0.91
Control-10	1.35	0.83	1.23	0.68
TOTAL	2.02	1.65	1.82	1.38

Tabla 6. Medias y desviaciones estándar de las latencias de escape para cada grupo en la sesión de adquisición y en la de retención.

Los análisis de la variancia (MANOVA) indicaron que las lesiones inducían un incremento significativo en la latencia de la respuesta de escape [Efecto del Tratamiento: $F(1,33) = 11.77$; $p = 0.002$]. A pesar de que en la sesión de adquisición las latencias de escape fueron más altas en los animales del grupo Lesión-3 que en los del grupo Lesión-10, estas diferencias no llegaron a ser significativas. Tampoco resultaban significativos ninguno de los otros factores.

LATENCIAS DE ESCAPE

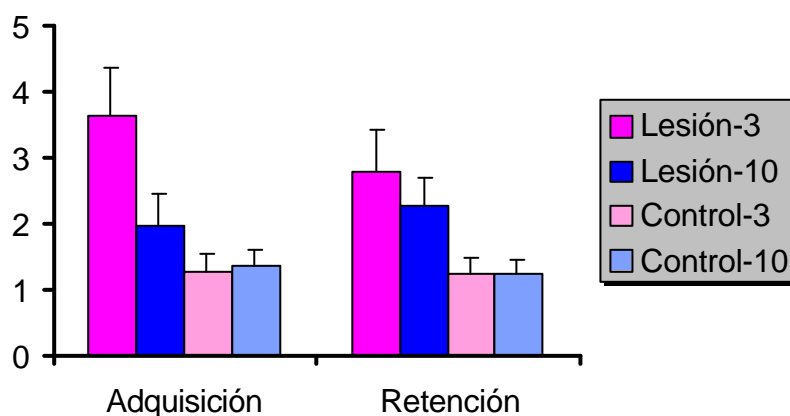


Fig. 14. Medias (+SEM) de las latencias de las respuestas de escape. Las latencias de las respuesta de escape fueron significativamente superiores en los animales lesionados respecto a los controles.

3.3.5. Ensayos sin respuesta

Tal y como se puede ver en la fig. 15, algunas ratas de los dos grupos lesionados no únicamente realizaban pocas respuestas de evitación, sino que en algunos ensayos tampoco emitían respuestas de escape (ensayos sin respuesta). En estos ensayos, en lugar de escapar del choque eficientemente cruzando al otro lado de la caja de evitación, estos animales adoptaban posturas específicas (como permanecer en el mismo lado con las patas delanteras elevadas o en una postura de encogimiento) o se mantenían en una localización específica (por ejemplo, en una esquina de la caja experimental o en la zona de unión entre los dos compartimentos). En los ensayos sin respuesta los animales emitían vocalizaciones y mostraban signos de estar perturbadas por el choque eléctrico. Esta conducta se observó en seis ratas (el 60%) del grupo Lesión-3 y dos (el 25%) del grupo Lesión-10. Los sujetos control, en cambio, únicamente presentaron este tipo de comportamiento en muy pocas ocasiones.

La figura 15 representa el número medio (+SEM) de ensayos sin respuesta para los dos grupos de lesión en las dos sesiones de condicionamiento.

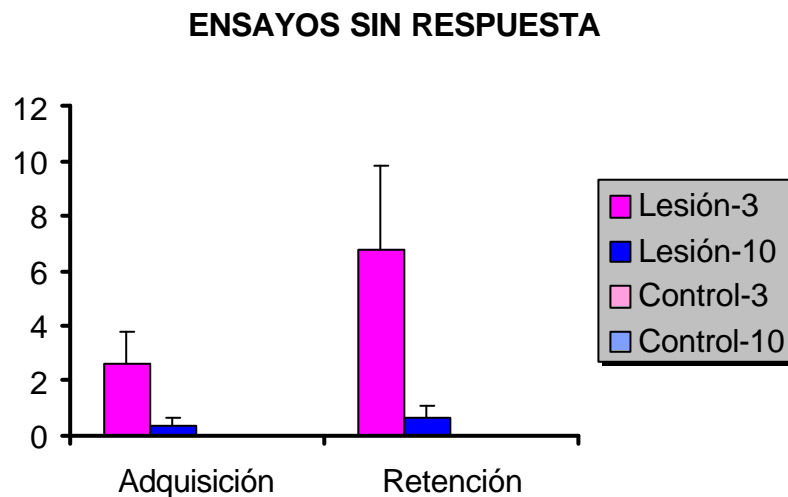


Fig. 15. Número medio (+SEM) de ensayos sin respuesta para los dos grupos lesionados. En los animales lesionados, esta variable fue significativamente más alta cuando se usó la condición de alta demanda (EC 3 segundos) que cuando el entrenamiento tenía lugar en condiciones de baja demanda (EC 10 segundos). Los animales control mostraron muy pocos ensayos sin respuesta.

Los análisis de la variancia (MANOVA) indicaron un efecto significativo del Tratamiento sobre el número de ensayos sin respuesta [$F(1,34) = 5.25$; $p = 0.028$]. La interacción Tratamiento \times Duración del EC también fue significativa [$F(1,34) = 4.40$; $p = 0.043$]. Para clarificar el significado de esta interacción, analizamos el efecto del tratamiento sobre los ensayos sin respuesta separadamente para cada una de las dos condiciones de entrenamiento, alta (EC=3 segundos) y baja (EC=10 segundos) demanda. Dichos análisis (MANOVA; efectos simples), indicaron que el número de ensayos sin respuesta era significativamente más alto en los animales lesionados en comparación con los controles solamente en la condición de entrenamiento con el EC de 3 segundos [$F(1,34) = 10.24$; $p = 0.003$]. Por el contrario, las diferencias entre sujetos lesionados y controles entrenados en la condición de baja demanda no fue estadísticamente significativa.

Por consiguiente, se puede concluir que el número de ensayos sin respuesta fue significativamente más alto en las ratas lesionadas que en las controles, pero este efecto únicamente se observó en condiciones de alta demanda (EC=3 segundos).

3.4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que tanto la lesión electrolítica pre-entrenamiento bilateral del PPTg, como la reducción de la duración del EC, deterioran de manera significativa la adquisición de la EV2, siendo el efecto de ambos factores sumativo.

Comparación entre lesiones electrolíticas y excitotóxicas

La disrupción del aprendizaje causada por la lesión electrolítica del PPTg que hemos hallado en este trabajo concuerda con los resultados descritos en otros laboratorios en animales con lesiones excitotóxicas del mismo núcleo (Fujimoto y cols., 1989, 1990 y 1992; Kessler y cols., 1986). Por lo tanto, la lesión del PPTg, tanto electrolítica como excitotóxica, deteriora la EV2. Es decir, el efecto deteriorante de la lesión del PPTg parece ser independiente de la afectación de los axones que atraviesan el núcleo. Esto contrasta, sin embargo, con lo que sucede después de dañar el núcleo basal magnocelular (grupo celular colinérgico CH4), ya que se ha observado que las lesiones excitotóxicas de este último núcleo facilitan el aprendizaje de la EV2, mientras que las electrolíticas lo deterioran (Kessler y cols., 1986; Popovic y cols., 1997), aunque probablemente esta situación resulte todavía más compleja (Vale-Martínez y cols., 2002).

Efectos de la lesión y de la duración del EC sobre la conducta de evitación

Como hemos dicho, nuestros resultados indican que la conducta de EV2 se ve afectada significativamente no sólo por la lesión del PPTg, sino también por la duración del EC, siendo el efecto de ambos factores sumativo, no interactivo. Es decir, por un lado la lesión afecta negativamente al aprendizaje independientemente de las condiciones de entrenamiento. Por el otro, la ejecución empeora con la disminución de la duración del EC y mejora en condiciones de menor demanda (EC de 10 segundos), independientemente de si los animales están lesionados o no. Debido a que solamente se han puesto a prueba dos condiciones de entrenamiento, faltaría investigar si con una mayor reducción en el grado de demanda de las condiciones de entrenamiento se podrían dejar de observar los efectos deteriorantes de la lesión. De hecho, el nuestro es el primer trabajo que ha estudiado el efecto de las variaciones en la demanda de la tarea sobre el condicionamiento de EV2 en animales con lesión del PPTg, ya que todos los trabajos previos utilizaron únicamente

condiciones que pueden considerarse de alta dificultad: EC de duración relativamente pequeña (5 segundos) en los trabajos de Fujimoto y cols. (1989, 1990 y 1992); y uso de una luz (que constituye un estímulo menos saliente que el sonido para las ratas) como EC en el trabajo de Kessler y cols. (1986).

Respecto a la retención del condicionamiento, los resultados del presente trabajo indicaron que los animales controles mostraban un aumento significativo del número de respuestas de evitación durante la segunda sesión respecto a la sesión de adquisición. En cambio, las ratas lesionadas no mostraban ninguna mejoría de la ejecución en la sesión de RLP. Como en este trabajo únicamente se han utilizado dos sesiones de entrenamiento, no se puede saber si el uso de más sesiones podría hacer que la ejecución de las ratas lesionadas se normalizara, aunque esto parece poco probable de acuerdo con lo que se ha descrito con lesiones excitotóxicas (Fujimoto y cols., 1992; Fujimoto y cols., 1990), ni tampoco si la reducción en el grado de demanda de la tarea podría facilitar la recuperación de la ejecución con el aumento del número de sesiones de entrenamiento. Por otro lado, es obvio que el uso de lesiones pre-entrenamiento no permite discernir los efectos sobre el aprendizaje de los efectos causados sobre la memoria.

Efectos de la lesión y de la duración del EC sobre la conducta de escape

En nuestro experimento hemos hallado también que, aparte de inducir un claro efecto deteriorante sobre las respuestas de evitación, las lesiones del PPTg redujeron de manera significativa el número de respuestas de escape, dando lugar a lo que hemos denominado ensayos sin respuesta. Concretamente, en algunos ensayos los animales lesionados no sólo no emitían la respuesta de evitación (respuesta en presencia del EC, que permite evitar la presentación de la descarga eléctrica), sino tampoco la respuesta de escape (respuesta en presencia del EI, que permite poner fin al mismo). El efecto de la lesión sobre las respuestas de escape sí fue sensible a la demanda de la tarea, ya que la proporción de sujetos que mostraron ensayos sin respuesta fue del 60% en los animales que fueron entrenados con el EC de 3 segundos (condición de alta demanda), en comparación con el 25% de los sujetos entrenados con el EC de 10 segundos (condición de baja demanda). Además, el número de ensayos sin respuesta de los animales lesionados sólo era significativamente superior, en comparación con los correspondientes grupos control, en la condición de alta demanda, pero no así en la condición de baja demanda.

¿Cuál es la causa de que los animales dejen de emitir la respuesta de escape en algunos de los ensayos? Primero, los ensayos sin respuesta podrían ser debidos a una reducción de la sensibilidad al dolor. Sin embargo, eso parece improbable, ya que, a pesar de que las células del PPTg parecen intervenir en la nocicepción inducida por nicotina, algunos estudios indican que los animales con lesiones en dicho núcleo perciben los estímulos dolorosos de forma normal (Fujimoto y cols., 1990; Olmstead y Franklin, 1993). De hecho, las ratas que presentaban algunos ensayos sin respuesta emitían vocalizaciones en presencia de la descarga eléctrica en las patas y efectuaban cambios posturales que probablemente servían para reducir la magnitud del malestar producido por la descarga. Segundo, los sujetos con lesiones en el PPTg mostraban un enlentecimiento de la respuesta de huida (sus latencias de escape eran significativamente superiores a las de los sujetos Control); no obstante, esas latencias seguían siendo mucho más cortas que los 20 segundos de duración máxima del EI (fig. 14). Por este motivo, consideramos improbable que los ensayos sin respuesta sean una consecuencia del enlentecimiento motor mostrado por los animales lesionados. Tercero, la existencia de ensayos sin respuesta se observa también en animales sometidos a paradigmas de indefensión aprendida (por ejemplo, cuando son sometidos a descargas eléctricas u otros estresores inescapables antes de ser entrenados en una tarea de evitación activa) (Seligman, 1975). Aunque las ratas del presente trabajo tenían siempre la posibilidad de evitar el EI y de escapar de él, algunas de ellas podrían haber sido incapaces de darse cuenta de la existencia de una posible respuesta específica capaz de hacer desaparecer el EI. Es decir, estas ratas podrían haber experimentado el EI como inescapable, mostrando de esta manera síntomas parecidos a los de la indefensión aprendida. A favor de este argumento iría el hecho de que el número de ensayos sin respuesta sólo fue significativo en los sujetos lesionados sometidos al entrenamiento en la condición más difícil (EC de 3 segundos), cuya ejecución era peor que la de los animales lesionados entrenados en la condición de baja dificultad (EC de 10 segundos). Es decir, el déficit de aprendizaje inducido por la lesión, sumado al aumento de la dificultad de la tarea, podría haber hecho que una parte de las ratas lesionadas fuera incapaz de darse cuenta de que el EI era escapable y, por tanto, sufriera síntomas similares a los mostrados por los animales sometidos a paradigmas de indefensión aprendida. Una última posibilidad es que los ensayos sin respuesta puedan ser el reflejo de una disfunción en los mecanismos de selección de respuesta. Pudimos observar que la conducta específica de cada rata durante los ensayos sin respuesta tendía a ser la misma para cada individuo a lo largo de las dos sesiones de entrenamiento. Ello sugiere que esos animales podrían haber aprendido

una respuesta (por ejemplo, permanecer con las patas traseras en la misma barra y elevar las patas delanteras) que quizás contribuía a reducir la magnitud del malestar experimentado, pero que ciertamente no era la más efectiva. Sin embargo, los datos disponibles no nos permiten discernir entre las dos últimas posibilidades indicadas.

Efectos de la lesión sobre la actividad locomotora

Además de los efectos sobre las conductas de evitación y de escape, en nuestro experimento las lesiones del PPTg dieron lugar también a una reducción de la actividad locomotora de los animales durante las sesiones de condicionamiento. Específicamente, el número de cruzamientos entre-ensayos era inferior en las ratas lesionadas que en las controles. Además, como hemos indicado antes, los sujetos con el PPTg dañado mostraban también una mayor lentitud en la conducta de escape. Ninguno de estos dos efectos fue sensible a la duración del EC. De entrada, estos resultados pueden sugerir que los déficit en la ejecución de la tarea podrían ser un puro reflejo de problemas motores. Sin embargo, hay varios argumentos en contra de esta conclusión. Primero, en los sujetos lesionados no se observaron anomalías posturales, ni ninguna incapacidad para comer y beber, tal como lo indica el hecho de que no se encontraron diferencias entre grupos en el peso corporal. Segundo, el número de cruzamientos entre los dos lados de la caja experimental durante los periodos de adaptación previos al entrenamiento era similar en los sujetos lesionados que en los animales control, lo cual indica que los animales lesionados eran capaces de realizar las respuestas motoras requeridas para evitar el EI, y que la actividad locomotora espontánea y la exploración parecían ser similares en ambos grupos. Tercero, aunque no puede descartarse que las ratas lesionadas pudieran mostrar déficit motores sutiles, diversos trabajos, incluido uno de nuestro propio laboratorio (Homs-Ormo, 2000), indican que no hay afectación de la conducta locomotora general ni tras la lesión electrolítica, ni después de la lesión excitotóxica del PPTg (Homs-Ormo y cols., 2000; Inglis y Winn, 1995; Winn, 1998). En nuestra opinión, los efectos locomotores encontrados después de las lesiones del PPTg son específicos del entrenamiento y no son consecuencia de un déficit motor general.

De hecho, algunos autores han sugerido que tras la lesión del PPTg se podrían observar alteraciones de la actividad locomotora cuando la respuesta requiere la integración entre las informaciones relacionadas con el estado motivacional y el refuerzo y los movimientos necesarios para realizar dicha respuesta (Inglis y Winn, 1995). Por

ejemplo, se ha visto que las lesiones del PPTg retrasan la aproximación a la comida utilizada como refuerzo en algunas tareas, a pesar de que la respuesta consumatoria subsiguiente puede ser incluso superior en estos animales que en los controles (Olmstead y cols., 1999), observándose también tiempos de reacción más lentos en tareas basadas en el refuerzo positivo (Florio y cols., 1999; Winn y cols., 1995). Además, la inactivación funcional del PPTg con lidocaína enlentece las respuestas motoras condicionadas (Condé y cols., 1998). Este tipo de enlentecimiento motor en situaciones de aprendizaje suele observarse también cuando se altera de diversas maneras (depleción dopaminérgica, lesión, etc.) el flujo de salida de los circuitos del estriado dorsal (Amalric y Koob, 1987; Baunez y cols., 1995). Por ello, consideramos plausible que las elevadas latencias de escape encontradas en este trabajo podrían ser también consecuencia de una interrupción del flujo de salida estriatal causado por la lesión. Finalmente, tanto la reducción en el número de cruzamientos entre-ensayos como el incremento en las latencias de escape podrían ser secundarias a la incapacidad de los animales para integrar la contingencia de reforzamiento negativo con las respuestas motoras específicas que se requieren para realizar eficientemente la tarea.

Lesión del PPTg y ansiedad

Se ha descrito una relación inversa entre la ejecución de la EV2 durante las primeras fases de entrenamiento y la ansiedad (Clinke y Werbrouck, 1993; Fernández-Teruel y cols., 1991). Por consiguiente, los efectos disruptores de las lesiones del PPTg sobre las conductas de evitación y escape podrían ser también debidos a la inducción de un estado de ansiedad elevado. De hecho, algunos trabajos han mostrado niveles altos de ansiedad después de lesiones del PPTg tanto electrolíticas (Podhorna y Franklin, 1999; Podhorna y Franklin, 2000), como excitotóxicas con NMDA (Leri y Franklin, 1998). En el mismo sentido, se ha postulado que el PPTg podría jugar un papel en la reducción del miedo, ya que las lesiones de este núcleo deterioran la inhibición prepulso de la respuesta de alarma (reducción de la amplitud de la respuesta de alarma cuando el estímulo sobrecogedor ha sido precedido por un estímulo débil) (Koch y cols., 1993), y en ratas no lesionadas, se ha encontrado un incremento de la inducción de c-fos después de la presentación de un inhibidor condicionado en un paradigma de miedo condicionado (Campeau y cols., 1997). A pesar de ello, también hay varios datos disponibles en contra de un efecto directo de la lesión del PPTg sobre la ansiedad. Primero, la inhibición prepulso parece ser más un

reflejo del funcionamiento de los mecanismos de entrada de los estímulos sensoriales (Koch y cols., 1993; Reese y cols., 1995b) que un índice de la reducción del miedo *per se*. Segundo, la elevada inducción de c-fos en el PPTg se ha encontrado no únicamente después de la presentación del estímulo inhibitor del miedo, sino también después de la presentación del EC relacionado con el miedo (Campeau y cols., 1997), lo que sugiere más bien un papel de este núcleo en las asociaciones entre estímulos en general, y no sólo entre estímulos relacionados con el miedo. Tercero, en un trabajo llevado a cabo en nuestro laboratorio (Homs-Ormo y cols., 2000) no se han encontrado evidencias de un aumento de la ansiedad en ratas con lesiones electrolíticas del PPTg similares a las obtenidas en el presente trabajo; más bien al contrario, el comportamiento de los animales lesionados presentaba una ligera tendencia hacia una menor ansiedad. Finalmente, Fujimoto y colaboradores (Fujimoto y cols., 1989) encontraron que la administración de diazepam o el uso de una descarga eléctrica en las patas más débil, variables que reducen la emocionabilidad de los animales, no revertían los efectos disruptores de las lesiones excitotóxicas del PPTg sobre la EV2. De todo ello se puede concluir que resulta cuando menos dudoso que las lesiones del PPTg produzcan ansiedad. Sin embargo, los datos disponibles no permiten descartar la posibilidad de que el daño de zonas específicas del núcleo o de que la lesión no intencionada de algunas estructuras adyacentes al PPTg, inevitables cuando se inducen lesiones en ese núcleo, pudieran aumentar el nivel de reactividad emocional.

Mecanismos cognitivos involucrados en el efecto de la lesión del PPTg sobre el condicionamiento de evitación activa de dos sentidos y mediación de otras estructuras neurales

Por las razones aducidas hasta el momento, el deterioro de la EV2 hallado en el presente trabajo no parece atribuible ni a un aumento de la ansiedad, ni a cambios en la motricidad espontánea de los animales que pudieran haber interferido en la ejecución de la respuesta. Por tanto, los déficit hallados han de ser atribuidos a otras causas.

El condicionamiento de EV2 es una tarea no declarativa compleja que involucra, por un lado, un componente de condicionamiento clásico, la asociación entre el EC y el EI, y, por el otro, un componente de condicionamiento instrumental, fundamentado en el hecho de que la respuesta de evitación se ve reforzada por la desaparición del EC (refuerzo negativo). Entre las estructuras cerebrales que parecen jugar un papel clave en esta tarea

destacan los componentes del estriado dorsal y el complejo amigdaloides. Como hemos indicado más arriba, el PPTg establece múltiples conexiones con todas las estructuras del estriado dorsal y ventral, y la actividad de las neuronas colinérgicas del PPTg regula la excitabilidad de las neuronas dopaminérgicas de la SN-pc. Tanto la lesión de las estructuras del estriado dorsal, como la lesión de la SN-pc (Da Cunha y cols., 2001), como la administración de antagonistas dopaminérgicos (Ogren y Archer, 1994) impiden la adquisición y la retención de la tarea de EV2. Además, White y Rebec (1993) hallaron que las neuronas del estriado dorsal responden a un EC auditivo en una tarea de EV2, respuesta que es inhibida por el haloperidol. Por ello, el déficit encontrado en nuestro trabajo podría ser atribuible, al menos en parte, a la afectación del funcionamiento de los sistemas estriatales secundaria a la lesión del PPTg. Por lo que respecta al papel del complejo amigdaloides en este tipo de aprendizaje, se ha sugerido que el núcleo lateral de la amígdala sería crítico para que se formara la asociación entre el EI y el EC, el núcleo central sería clave para la respuesta condicionada de miedo ante el EI, y el núcleo basal intervendría en la ejecución de la respuesta motora (Amorapanth y cols., 2000). Por su parte, las conexiones entre el núcleo basal de la amígdala y el estriado dorsal jugarían un papel clave en la asociación entre el reforzador (desaparición del EC) y la respuesta motora (Robbins y cols., 1989). Dado que el PPTg también envía eferencias a la amígdala y recibe proyecciones tanto directas, como indirectas a través del pálido ventral, de esta misma estructura, los efectos hallados en este experimento podrían estar mediados, por tanto, por la desaparición de las conexiones entre el PPTg y la amígdala, o por la posible alteración del flujo de información entre estriado dorsal y amígdala causada por la lesión del PPTg.

Pero, además de las relaciones expuestas entre el PPTg, los sistemas estriatales y el complejo amigdaloides, no debemos olvidar el papel que juega este núcleo en el control de la actividad electrofisiológica cortical y, probablemente, en procesos como la atención. Así, Inglis y cols. (2001) estudiaron los efectos de las lesiones unilaterales y bilaterales excitotóxicas del PPTg sobre una tarea que mide atención ("5-choice serial reaction time task"). Las lesiones bilaterales inducían una significativa reducción de la precisión (porcentaje de respuestas correctas), un significativo incremento del número de errores por omisión (número de ensayos en los que no se emite ninguna respuesta), un incremento de la latencia de las respuestas correctas (aunque las ratas lesionadas tardaban el mismo tiempo que los sujetos de control en recoger los "pellets" de comida) y una reducción del número de respuestas anticipatorias. La ejecución mejoraba cuando se aumentaba la

duración del estímulo. Por otro lado, los animales con lesiones unilaterales mostraban una ejecución sólo levemente deteriorada, pero esta ejecución se veía significativamente alterada si se aumentaba la demanda de la tarea mediante la reducción de la duración o de la intensidad del estímulo o disminuyendo el intervalo entre ensayos. En los animales con lesión bilateral la ejecución era demasiado pobre como para que se pudiera examinar el efecto de este aumento en la demanda de la tarea. Estos datos son, en parte, comparables con los hallados en el presente experimento, en el sentido de que, en ambos casos, la disminución de la demanda de la tarea reduce (pero no elimina) los déficit. Además, los ensayos sin respuesta hallados durante el entrenamiento en EV2 podrían ser comparables a los errores por omisión descritos por Inglis y cols. (2001), y ser explicables por un fallo en los mecanismos de selección de la respuesta.

Finalmente, y a pesar de que, como hemos indicado con anterioridad (ver punto 2.2.1.1.), las lesiones bilaterales del PPTg no reducen el SP basal, excepto durante los primeros cuatro días post-lesión, parece ser que sí que alteran algunos aspectos de la regulación del mismo, como el denominado “efecto rebote” que se produce tras la privación de SP. Dada la posible relación entre SP y aprendizaje (véase, por ejemplo, Ramos Platón, 1996; Stickgold y cols., 2001), no podemos descartar que las alteraciones del efecto rebote puedan haber influido en el déficit hallado.

En resumen, los efectos hallados en este trabajo parecen atribuibles a alteraciones cognitivas. Estas alteraciones, a su vez, estarían mediadas por diversos mecanismos, entre los cuales creemos que son especialmente destacables los siguientes: 1) la alteración de los mecanismos de selección de respuestas y/o de la capacidad para asociar la desaparición del EI con una conducta motora específica, efectos mediados por la afectación del flujo de salida estriatal que converge en el PPTg, y 2) la disrupción de las asociaciones entre los estímulos condicionado e incondicionado, mediada posiblemente por la desconexión entre el PPTg y la amígdala. Por otro lado, la alteración de la actividad electrofisiológica tálamo-cortical, causada por la lesión del PPTg, podría ser el factor principal involucrado en el agravamiento de los efectos disruptores hallados en condiciones de alta demanda de la tarea.