

FACULTAD DE  
PSICOLOGIA

BIBLIOTECA

T

PS

69

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento. Area de  
Psicobiología.

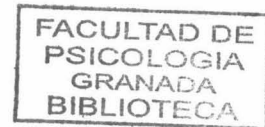
EL CEREBELO Y CIRCUITOS ASOCIADOS EN APRENDIZAJE AVERSIVO  
GUSTATIVO

Tesis presentada para la obtención del grado de Doctor en Psicología por  
Cristina Mediavilla García.  
Marzo, 1995

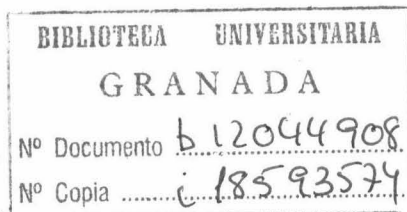


D. AMADEO PUERTO SALGADO, Catedrático de Psicobiología de la Universidad de Granada y Dña. FILOMENA MOLINA VALERO, Profesora Titular de la Universidad de Granada

CERTIFICAN: que la presente Tesis Doctoral titulada "El Cerebelo y circuitos asociados en Aprendizaje Aversivo Gustativo", ha sido realizada por la doctorando en el Laboratorio de Psicobiología del Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento de la Universidad de Granada, bajo nuestra dirección



Y para que conste, se expide el presente, firmado en Granada a 22 de Marzo de 1995



Firmado: Amadeo Puerto

Firmado: Filomena Molina

Fdo. - Cristina Mediavilla



*A mis padres*

*A Seve, David y Javier.....por mis ausencias.*

## AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo ha sido una larga tarea a la que muchas personas, en distinta medida, han dedicado su interés y su esfuerzo. Por ello deseo manifestar mi agradecimiento, en primer lugar, al Profesor Puerto. No puedo expresar en unas pocas palabras la altura personal y académica que le atribuyo; en ambos aspectos lo considero un ejemplo. Pero sí quiero agradecerle expresamente el entusiasmo, el trabajo y la dedicación que ha puesto en este trabajo concreto. Mi agradecimiento también a la Profesora Molina, no sólo por la codirección de este trabajo sino también porque invirtió en él tantas horas, al menos, de laboratorio como yo misma, siempre con la preocupación de evitarme la mayor cantidad de trabajo en momentos difíciles. Agradezco también al Profesor Risco el trabajo y la paciencia que derrochó en la preparación del material gráfico de esta Tesis. Quiero recordar aquí a Inmaculada Cubero, compartimos las dificultades iniciales del trabajo de laboratorio y vamos a compartir igualmente el resultado de ese trabajo. Un recuerdo también para todos aquellos compañeros de las Universidades de Jaén y Granada que se interesaron de alguna forma por el desarrollo de esta Tesis, y a M<sup>a</sup> Angeles, M<sup>a</sup> José y Javier por su buen humor y su disposición a ayudar, aspectos todos ellos que contribuyen a hacer más fácil un trabajo duro. A todos ellos, gracias.

## INDICE

<b>INTRODUCCION</b> .....	1
Aprendizaje Aversivo Gustativo (AAG) .....	2
Bases Anatómicas del AAG .....	6
Modalidades de AAG .....	13
Anatomía del Cerebelo .....	19
Funciones del Cerebelo .....	31
Hipótesis General .....	46
<b>CAPITULO I.- INTERVENCIÓN DE LOS NÚCLEOS PROFUNDOS DEL CEREBELO EN AAG</b> .....	51
<b>Experimento 1a. AAG a Corto Plazo en animales lesionados en la zona Interpósito- Dentado y en animales no lesionados</b> .....	52
Método .....	53
Sujetos .....	53
Procedimiento Quirúrgico .....	53
Procedimiento Experimental .....	56
Resultados .....	57
Discusión .....	57
<b>Experimento 1b. AAG a Largo Plazo en animales lesionados en la zona Interpósito- Dentado y en animales no lesionados</b> .....	65
Método .....	66
Sujetos .....	66
Procedimiento Experimental .....	66
Resultados .....	67
Discusión .....	68
<b>Experimento 1c. Características del AAG en animales intactos</b> .....	75
Método .....	77
Sujetos .....	77
Procedimiento Quirúrgico .....	77

Procedimiento Experimental . . . . .	77
Resultados . . . . .	78
Discusión . . . . .	78
<b>Experimento 1d. AAG a Largo Plazo, sin Demora, en animales con lesión de la     región Interpósito-Dentado . . . . .</b>	<b>85</b>
Método . . . . .	85
Sujetos . . . . .	85
Procedimiento Quirúrgico . . . . .	86
Procedimiento Experimental . . . . .	86
Resultados . . . . .	86
Discusión . . . . .	87
<b>DISCUSION GENERAL . . . . .</b>	<b>90</b>
<b>CAPITULO II.- ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LAS AFERENCIAS CEREBE-     LARES EN EL AAG: NÚCLEO DE LA OLIVA INFERIOR (O.I.) . . . . .</b>	<b>93</b>
<b>Experimento 2a. La O.I. y su participación en el AAG a Corto Plazo . . . . .</b>	<b>93</b>
Método . . . . .	94
Sujetos . . . . .	94
Procedimiento Quirúrgico . . . . .	94
Resultados . . . . .	95
Discusión . . . . .	95
<b>Experimento 2b. La O.I. y el AAG a Largo Plazo . . . . .</b>	<b>102</b>
Método . . . . .	102
Sujetos . . . . .	102
Procedimiento Experimental . . . . .	103
Resultados . . . . .	104

Discusión . . . . .	104
<b>Experimento 2c. Estudio del AAG a Corto Plazo en Animales con Lesiones en el Cortex Cerebelar . . . . .</b>	<b>111</b>
Método . . . . .	112
Sujetos . . . . .	112
Procedimiento Quirúrgico . . . . .	112
Resultados . . . . .	113
Discusión . . . . .	113
<b>DISCUSION GENERAL . . . . .</b>	<b>123</b>
<b>CAPITULO III.- ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LAS AFERENCIAS DEL CEREBELO EN EL AAG: NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTER- NO (NPBLe) . . . . .</b>	<b>127</b>
Introducción . . . . .	127
<b>Experimento 3. AAG y NPBLe: Consecuencias conductuales en función de la extensión de la lesión electrolítica . . . . .</b>	<b>130</b>
Método . . . . .	131
Sujetos . . . . .	131
Procedimiento Quirúrgico . . . . .	131
Procedimiento Experimental . . . . .	132
Resultados . . . . .	132
Discusión . . . . .	134
<b>CAPITULO IV.- INTERVENCIÓN DE LAS EFERENCIAS DEL CEREBELO EN EL AAG: NÚCLEO PEDUNCULOPONTINO (N.P.P.) . . . . .</b>	<b>156</b>
<b>Experimento 4a. Efectos de las Lesiones Electrolíticas del N.P.P en el AAG a Corto Plazo . . . . .</b>	<b>157</b>
Método . . . . .	158
Sujetos . . . . .	158

Procedimiento Quirúrgico . . . . .	158
Procedimiento Experimental . . . . .	159
Resultados . . . . .	159
Discusión . . . . .	160
<b>Experimento 4b. Efectos de las Lesiones Electrolíticas del N.P.P. en el AAG a</b>	
Largo Plazo . . . . .	167
Método . . . . .	168
Sujetos . . . . .	168
Procedimiento Experimental . . . . .	168
Resultados . . . . .	168
Discusión . . . . .	169
DISCUSION GENERAL . . . . .	175
<b>CAPITULO V.- RETENCIÓN DEL AAG A CORTO PLAZO TRAS LESIONES</b>	
<b>ELECTROLÍTICAS DEL NÚCLEO INTERPÓSITO DEL CEREBELO . . . . .</b>	<b>178</b>
<b>Experimento 5 . . . . .</b>	<b>179</b>
Método . . . . .	180
Sujetos . . . . .	180
Procedimiento Quirúrgico . . . . .	180
Procedimiento Experimental . . . . .	181
Resultados . . . . .	182
Discusión . . . . .	182
DISCUSION FINAL . . . . .	190
CONCLUSIONES . . . . .	204
BIBLIOGRAFIA . . . . .	207

## INTRODUCCIÓN

## APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO

El Aprendizaje Aversivo Gustativo, también llamado Aprendizaje Interoceptivo o Toxifobia, se manifiesta en la tendencia a evitar la ingestión de sustancias que previamente han sido asociadas con malestar de índole gastrointestinal. Tradicionalmente, en el estudio de AAG en mamíferos la asociación se establece utilizando estímulos gustativos y un tratamiento (administración de CILi, de CINa, rotación corporal, etc), que suele conducir a la aparición de náuseas o malestar gastrointestinal. Este modelo biológico de aprendizaje, de manera similar a otros modelos propuestos (Thompson et al., 1984a y b; Bailey y Kandel, 1986; Abrams y Kandel, 1988), se ha manifestado de gran utilidad para el estudio e identificación de las estructuras y sistemas responsables de los procesos de aprendizaje asociativo y memoria. Efectivamente, la estrategia del sistema de modelos consiste en seleccionar un organismo capaz de exhibir un rango de fenómenos conductuales y cuyo sistema nervioso sea susceptible de ser manipulado neuroanatómicamente, neurofarmacológicamente y neurofisiológicamente con el objetivo de conocer en detalle cómo el sistema nervioso controla una conducta dada (Thompson, 1987). Además, la posibilidad de integrar los modelos biológicos con otros modelos teóricos como los de redes neuronales aumenta la esperanza de explicar todos los aspectos conductuales que se observan en el aprendizaje y la memoria (Donegan et al., 1989; Ito, 1994).

Cada aproximación y modelo tiene sus ventajas particulares. Así, las preparaciones en invertebrados estudian funciones conductuales controladas por ganglios formados por un relativamente pequeño número de neuronas lo que permite su identificación y estudio en detalle, pudiendo correlacionar los cambios observados en una célula concreta con las modificaciones conductuales impuestas. El estudio del Condicionamiento Clásico (CC) de la membrana nictitante del conejo, por ejemplo, cuenta, por una parte, con la ventaja de que ha permitido conocer el circuito anatómico que subyace a esta respuesta y, por otra, con la posibilidad de generalizar los resultados obtenidos a otros mamíferos incluidos los humanos.

En cuanto a algunas de las ventajas y peculiaridades desde el punto metodológico que aporta el estudio del AAG, vienen dadas por las propias características de este aprendizaje y se describen a continuación.

*Rapidez de adquisición.* Una única presentación del estímulo gustativo junto a algunas modalidades de malestar visceral puede ser suficiente para establecer este aprendizaje tanto en condiciones naturales como en el laboratorio (García, 1990). Este aspecto, junto al fenómeno conocido como Neofobia o tendencia a rechazar alimentos nuevos, proporcionan un claro componente de supervivencia al AAG. Efectivamente, la posibilidad de establecer



la asociación en un único ensayo evita el consumo posterior del producto que ha provocado la intoxicación o el malestar. La Neofobia, por su parte, impedirá tomar grandes cantidades de un producto cuyas consecuencias viscerales se desconocen y explica, además, el que un estímulo nuevo, frente a otro ya conocido, se asocie preferentemente con el malestar visceral experimentado (García, 1989). Respecto al componente supervivencial de este fenómeno, resultan de gran interés los estudios llevados a cabo por Alberts en ratas recién nacidas observando y analizando lo que él denomina Bloqueo de la Toxifobia, es decir, la ausencia de rechazo a la leche que se succiona cuando se asocia con la administración de CILi. Este bloqueo desaparece a los 20 días, cuando los animales, ya destetados, tienen acceso a otros alimentos además de la leche materna. El bloque se explica, pues, como una adaptación ontogénica que trataría de evitar que se aborrezca la leche materna (Alberts, 1987).

*Intervalo entre estímulos.* Los paradigmas tradicionales de condicionamiento establecen como requisito imprescindible la contigüidad temporal entre estímulos, admitiendo un margen entre ellos de tan sólo unos pocos segundos para que pueda tener lugar una asociación efectiva. Sin embargo, en el AAG se han utilizado intervalos que van desde diez minutos hasta horas y ello sin que la efectividad del aprendizaje se resienta. La posibilidad de introducir tratamientos experimentales en ese intervalo de presentación entre los estímulos, convierte al AAG en un procedimiento único para el estudio de los procesos centrales responsables de la formación del aprendizaje y la memoria (Gaston, 1978).

*Especificidad estimular.* Este punto contradice igualmente los principios tradicionales del aprendizaje pero cada vez son más las voces que afirman que la mayoría de los animales están predispuestos/"preprogramados" para aprender determinadas tareas de una forma particular. Se sabe, por ejemplo, que una señal audiovisual es un mal índice para el establecimiento de un AAG pero resulta idóneo para la consecución de un condicionamiento de evitación de un shock eléctrico, mientras que lo inverso sería igualmente válido para el gusto, produciéndose así una dicotomía que García explica en términos evolutivos y de selección natural (García, 1989). En cualquier caso, para establecer un AAG el estímulo más relevante es siempre aquel que está relacionado con la identificación de alimentos, y así, el gusto es el estímulo que los mamíferos asocian preferentemente con enfermedad gastrointestinal mientras que la visión puede ser más eficaz en otras especies como las aves (Gaston, 1978).

Señales contextuales como audición, tacto, temperatura, etc. pueden volverse aversivas si se asocian con malestar gastrointestinal pero para ello se requieren altas dosis del estímulo nocivo y sucesivos ensayos de adquisición, aunque en ningún caso las

asociaciones son tan fuertes como las observadas tras la utilización del gusto, a excepción de los pacientes sometidos a tratamiento de quimioterapia en los que la náusea y el vómito pueden ser fácilmente condicionados con señales contextuales (Meachum y Bernstein, 1992; García, 1989; García, 1990). En cuanto al olfato, al igual que los índices contextuales mencionados, se ha comprobado que solamente es efectivo para producir AAG bajo determinadas circunstancias de intensidad y cualidad (Panhuber, 1982) y siempre que sea seguido inmediatamente por el agente tóxico (García, 1989; Bermudez-Rattoni et al., 1989). Sin embargo, la contigüidad en tiempo y espacio del gusto y del olfato da lugar a lo que se conoce como *potenciación gustativa* indicando con ello que una señal olfativa débil para establecer AAG puede aumentar su fuerza asociativa al ser unida al gusto (Coburn et al., 1984; García, 1989; Bermudez-Rattoni et al., 1989).

*Independencia de la respuesta.* Frente al paradigma tradicional de Condicionamiento Clásico (CC) basado en la relación E-R, el AAG puede establecerse en animales curarizados, impedidos por tanto para emitir cualquier tipo de respuesta o movimiento (Puerto, 1980).

Aunque se ha logrado alguna de estas condiciones mencionadas en otros paradigmas de aprendizaje, tan sólo en el AAG es posible conseguirlas todas ellas simultáneamente (Molina y Puerto, 1981). Este hecho, que proporciona el rasgo más distintivo de esta modalidad de asociación, es también el que obliga a cuestionar la universalidad del paradigma E-R. De hecho, los diversos intentos de encuadrar AAG dentro del Condicionamiento Clásico aludiendo a diferencias cuantitativas entre ambos (Logue, 1979), no han sido en modo alguno concluyentes (ver revisión en Molina y Puerto, 1981 y Agüero, 1990).

El AAG comparte algunos aspectos con el condicionamiento pavloviano como son la necesidad de integración neuronal de dos estímulos (Estímulo Condicionado (EC) y Estímulo Incondicionado (EI) en el Condicionamiento Clásico e identificados en el paradigma de AAG con el gusto y el disconfort visceral) y un cambio en la significación de uno de los estímulos como resultado de la asociación. Pero parece claro que el AAG limita dos grandes principios del CC como son la contigüidad entre EC-EI y la equipotencialidad estimular (García, 1990; Chambers, 1990), conceptos que, por otra parte, empiezan a ser cuestionados también por los mismos estudiosos del condicionamiento pavloviano (Rescorla, 1988a y b). En cualquier caso, "ya es historia el que estas diferencias alteran el entramado teórico del aprendizaje" (Chambers, 1990) por lo que la opinión actual más generalizada es asumir que son todas estas notas distintivas y características de AAG las que permiten encuadrarlo dentro de los aprendizajes biológicamente especializados, destinados a garantizar la supervivencia del

organismo frente al medio y, a través de él, aprovechar las posibilidades que esta forma de aprender ofrece para el estudio de las diversas modalidades del aprendizaje y la memoria.

La dimensión de supervivencia del AAG explica, por otra parte, la universalidad de este aprendizaje que ha sido observado en todas las especies estudiadas incluida la humana. De hecho, una manifestación especialmente dramática de este aprendizaje es la que se observa en enfermos de cáncer sometidos a un tratamiento de quimioterapia y radioterapia que les provoca fuertes náuseas y vómitos y que desarrollan con gran facilidad aversiones condicionadas hacia los alimentos que ingieren (Bernstein, 1985).

Y explicaría, asimismo, el que los organismos posean una predisposición innata a desarrollar este aprendizaje, si bien, factores experienciales pueden actuar sobre dichas predisposiciones. Por ello, ha podido demostrarse que la fuerza de una aversión condicionada está en función de las conexiones innatas, del número de veces que se asocia un sabor con malestar y del número de exposiciones a ese sabor sin la experiencia de enfermedad (Chambers, 1990).

## BASES ANATÓMICAS DEL AAG

La constatación experimental de que el gusto es el estímulo que preferentemente se asocia con discomfort gastrointestinal, ha sido explicada a nivel teórico por García mediante la Teoría Neuroanatómica que atribuye esa asociación a la convergencia anatómica de la información visceral y gustativa en distintas estructuras del S.N.C. García apuntaba concretamente hacia el Núcleo del Tracto Solitario (NTS), grupo celular situado en el Bulbo raquídeo. Pero la búsqueda de posibles lugares de integración ha estado plagada de resultados inconsistentes. A la disparidad de resultados ha podido contribuir las diferentes metodologías utilizadas en el estudio del AAG, consistiendo las principales diferencias metodológicas en utilizar distintos sabores, distintos agentes tóxicos, distintos intervalos entre el estímulo gustativo y el aversivo, un sólo ensayo frente a varios, pruebas de una o dos elecciones y diferentes niveles de privación (Gaston, 1978). En cualquier caso, entre las zonas que podrían ser lugares de convergencia y cuya participación en AAG ha sido estudiada está el Complejo Parabraquial pontino, compuesto por varios subnúcleos cuyas implicaciones funcionales en AAG se intentan delimitar actualmente, como habrá ocasión de comprobar y analizar a lo largo del presente trabajo.

Otra zona igualmente estudiada en este contexto es la Amígdala ya que recibe información visceral y gustativa (Norgren, 1990; Ricardo y Koh, 1978) aunque no existe acuerdo acerca de cual es el núcleo amigdalino relevante para AAG ni del papel específico que podría desempeñar. Diversos estudios (Nachman y Ashe, 1974 citados en Gaston, 1978; Bermúdez-Rattoni, 1989) han comprobado que las lesiones en el Núcleo basolateral impiden el aprendizaje y la retención de una tarea de AAG. Sin embargo, recientemente se ha visto que dicho resultado se obtiene tan sólo con lesiones electrolíticas, mientras que las lesiones que respetan fibras de paso no tienen efecto sobre este aprendizaje, lo que podría indicar que el efecto observado en las lesiones electrolíticas podía deberse, por ejemplo, a la intervención sobre la información que desde niveles subcorticales se dirige hacia el cortex insular (Dunn y Everitt, 1988; Chambers, 1990). Estos resultados, junto a lo observado en otros aprendizajes y en estudios con estimulación, hacen pensar en una influencia emocional de la Amígdala sobre AAG más que en una influencia directa sobre el aprendizaje asociativo (Gaston, 1978; Dunn y Everitt, 1988).

El cortex insular, donde convergen asimismo información visceral y gustativa (Fulwiler y Saper, 1984; Norgren y Pfaffmann, 1975; Dell y Olson, 1951a; Ito, 1992), ha sido otra zona ampliamente estudiada en relación al AAG y de nuevo con resultados contradictorios. Así, lesiones con ácido iboténico, aspiración o la inhibición de la síntesis de proteínas en el cortex insular atenúan la adquisición de un AAG (Dunn y Everitt, 1988;

Rosenblum et al., 1993; Kiefer y Orr, 1992) mientras que la utilización de 6-hidroxidopamina (Fernandez-Ruiz et al., 1993) o la depresión propagada de dicha zona (Lehr y Nachman, 1973; Gallo y Bures, 1991), bloquea el aprendizaje, si bien, es cierto que este último procedimiento puede tener consecuencias similares al malestar visceral siendo aversivo por sí mismo y obscureciendo por tanto el papel del cortex en AAG (Gaston, 1978). Kiefer y Orr (1992) han introducido recientemente una interesante posibilidad funcional para el cortex insular al sugerir que la dificultad para adquirir un AAG que se observa en animales a los que se les ha eliminado esta zona estribaría en la incapacidad de realizar el característico cambio hedónico del gusto que se observa tras la adquisición de un AAG (Chambers, 1990). Es decir, los animales con lesiones en el cortex insular pueden aprender a evitar consumir un sabor si se asocia con malestar, pero ese sabor no es percibido como desagradable por lo que su rechazo es más dificultoso, recordando este proceso a lo que se observa en personas que padecen alergias a determinados alimentos (Kiefer y Orr, 1992).

Pero, lógicamente, en el estudio de las bases neurales del AAG no sólo se han tenido en cuenta los lugares probables de integración, sino que a su conocimiento ha contribuido igualmente la atención prestada a las vías de transmisión de ambos estímulos, visceral y gustativo, que se analizan a continuación.

### **Información gustativa**

El Sistema gustativo ha sido uno de los procesos sensoriales que menos atención ha merecido, al contrario de lo que ha ocurrido con visión o audición, por ejemplo (Norgren y Leonard, 1971). Por este motivo, ha habido un gran desconocimiento tanto de los mecanismos periféricos como centrales que intervienen en el proceso gustativo. A la superación de este vacío de conocimientos han contribuido, por una parte, los estudios de Norgren (Norgren, 1990) y, por otra, el desarrollo de modernas técnicas electrofisiológicas que, al permitir el acceso hasta las células gustativas, han posibilitado la descripción de los mecanismos de detección y transducción de la señal gustativa, así como las relaciones que establecen entre sí las células gustativas y los neurotransmisores y hormonas que intervienen sobre ellas (Roper, 1992; Gilbertson, 1993).

Las células gustativas son sensores químicos situados en el segmento inicial del tracto digestivo, la cavidad oral. Papilas gustativas se encuentran, por tanto, en la mitad anterior y posterior de la lengua, en el paladar, faringe, epiglotis y laringe. La información gustativa procedente de estos órganos periféricos alcanza el Sistema Nervioso Central a través de tres



nervios periféricos: información proveniente de los dos tercios anteriores de la lengua, la base de la boca y el paladar es transmitida mediante la cuerda del tímpano y el petroso superficial mayor, ramas del Nervio Facial (VII par craneal), la información gustativa del tercio posterior de la lengua es conducida mediante la rama lingual del Nervio Glossofaríngeo (IX par craneal) y la rama laríngea superior del Nervio Vago (X par craneal). Esta disgregación en la transmisión periférica del gusto es la responsable de la dificultad que existe para eliminar totalmente dicha sensación o para diferenciarla de otras sensaciones como la térmica o la táctil y, por tanto, de la dificultad de evaluar los déficits gustativos producidos por lesiones centrales (Norgren, 1990).

La información sensorial recogida por esos tres nervios craneales llega al tercio rostral del Núcleo del Tracto Solitario (NTS), algunas veces llamado núcleo gustativo (Nauta, 1987) y que constituye la primera estación de relevo gustativo a nivel central (Norgren y Leonard, 1971). El NTS es un agregado de cuerpos celulares orientado rostro-caudalmente en forma de Y. En la rata, el límite rostral viene dado por el polo caudal del núcleo motor facial, lateralmente está próximo a las paredes del IV ventrículo y al Area Postrema y caudalmente finaliza en el nivel más bajo de la decusación piramidal (Barraco et al., 1992).

Registros electrofisiológicos han confirmado que la información gustativa procedente de zonas posteriores de la cavidad oral se sitúa en el NTS rostral más caudalmente que la información que procede de zonas bucales más anteriores (Halsell et al., 1993). Hasta el momento se desconocen los límites caudales exactos para las neuronas gustativas (Norgren, 1990) pero parece que, al menos en el rata, las respuestas gustativas a la estimulación de la lengua posterior están restringidas a una estrecha franja situada en la mitad del NTS ("NTS intermedio") que también recibe información táctil desde esa misma zona (Halsell et al., 1993). La información que converge en esta zona, así como las conexiones anatómicas que establece con otras estructuras, implican al NTS intermedio en la regulación de reflejos ingestivos que requieren la integración de información gustativa, somatosensorial y humoral (Barraco et al., 1992). Además, la estimulación eléctrica de esta zona con patrones temporales similares a la sacarosa y la administración de CILi es suficiente para establecer el AAG (Di Lorenzo y Hecht, 1993).

En roedores, la información gustativa procedente del NTS pasa por el Núcleo Parabraquial medial (PBNm) -área gustativa pontina (Norgren y Leonard, 1971)-, para alcanzar después el Tálamo (Tálamo gustativo), en concreto, registros electrofisiológicos han identificado el Tálamo gustativo con la división parvicelular del núcleo talámico ventral posteromedial (Norgren y Leonard, 1971; Norgren y Pfaffmann, 1975). En primates, y

posiblemente en el hombre, parece que los axones gustativos del NTS ascienden ipsilateralmente, mediante el haz tegmental central, hasta el revelo talámico lo que no descarta, en principio, un papel para el NPBm en respuesta a estímulos gustativos en estas especies (Norgren, 1990).

Al parecer, la señal gustativa sufre transformaciones al llegar a cada una de estas estaciones de relevo, por ello las contribuciones funcionales al sistema gustativo del NTS, del NPBm y del Tálamo gustativo podrían ser distintas tal y como se observa tras lesiones situadas en cada una de dichas estructuras (Flynn et al., 1991).

Anatómicamente, se han descrito proyecciones directas desde neuronas del área gustativa pontina y desde el Tálamo gustativo hasta zonas corticales (Fulwiler y Saper, 1984; Norgren y Pfaffmann, 1975; Norgren, 1990; Dunn y Everitt, 1988). Pero una vez más han sido los registros electrofisiológicos de neuronas individuales los que han permitido localizar el cortex gustativo primario en una zona alrededor del operculum frontal y de la ínsula anterior, identificando en dicha zona una proporción consistente de células que responden a estimulación química desde la cavidad oral (Plata-Salamán y Scott, 1992; Plata-Salamán et al., 1993). Estos estudios, además, han revelado una serie de características propias del cortex gustativo, y así, se sabe, por ejemplo, que el porcentaje de células gustativas que posee es muy reducido en comparación con lo que se observa en el cortex visual o auditivo (Plata-Salamán et al., 1992), que alrededor del 80% de las células gustativas corticales están dedicadas a la identificación de los sabores salado y dulce, y que no hay indicios de que exista una organización topográfica en el cortex gustativo aunque podría contar con una organización columnar, aspecto que no ha sido confirmado aún (Plata-Salamán et al., 1993). Por otra parte, técnicas electrofisiológicas han permitido asimismo comprobar que neuronas gustativas del NPB medial responden ante estimulación eléctrica del cortex gustativo apoyando así los datos anatómicos que indicaban la existencia de proyecciones directas desde el cortex insular hasta el NPB (Di Lorenzo y Monroe, 1992).

Neuronas gustativas se han localizado también en Amígdala e Hipotálamo (Norgren, 1990) y, en general, las amplias relaciones que establece el NPBm con estructuras límbicas (Fulwiler y Saper, 1984) han relacionado la información gustativa de estas zonas con los aspectos hedónicos del sabor. Información gustativa parece alcanzar igualmente al cortex cerebelar (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) probablemente a través de una conexión procedente del NTS (Brooks, 1986).

## Información visceral

La complejidad y riqueza aportada por la información procedente del área visceral, incluyendo el tracto digestivo, se ha puesto de manifiesto con estudios desarrollados en los últimos años que han llevado, incluso, a reconsiderar algunas ideas tradicionales sobre enterocepción. Así, se sabe que las aferencias que se originan en el área visceral aportan información acerca del estado mecánico (grado de distensión, contracción, etc), del estado fisicoquímico (temperatura, tipo de nutrientes, etc) y de la presencia de hormonas y neuropéptidos en el tracto digestivo, además de informar acerca de condiciones patológicas mediante señales nociceptivas. Puesto que esta diversidad de información es recogida por estructuras simples (terminales libres generalmente) se ha propuesto que distintos mecanismos en una misma terminación nerviosa podrían responder a diversa estimulación. Además, la complejidad de la información recogida en el tracto digestivo parece implicar a las señales digestivas en una gran variedad de conductas complejas (Mei y Lucchini, 1992).

Hay, pues, considerable evidencia de la detección neural de todos los aspectos que intervienen en la ingestión y de que receptores situados a lo largo del tracto digestivo y órganos viscerales reciben dicha información visceral y la transmiten a diferentes niveles del Sistema Nervioso Central (Novin, 1983). Estas aferencias viscerales se transmiten mediante los nervios esplácnicos pero, sobre todo, por el Nervio Vago. Efectivamente, una buena parte de la información sensorial del sistema gastrointestinal transcurre por medio de la rama parasimpática del Sistema Nervioso Autónomo, el nervio Vago (Simansky et al., 1982; Jerome y Smith, 1982; Jerome y Smith, 1984; Sakaguchi y Yamazaki, 1986). Este nervio aporta fibras de células quimiorreceptoras de la pared del tracto digestivo y realiza sinapsis en los dos tercios caudales del NTS (Nauta, 1987). El NTS sería, pues, la primera estación de relevo de estas aferencias a nivel central, y en concreto, estudios neuroanatómicos y electrofisiológicos han demostrado que las aferencias vagales viscerales alcanzan los subnúcleos medial y gelatinoso del Núcleo del Tracto Solitario caudal (Knox et al., 1994; Fitzakerley y Lucier, 1988; Cecheto, 1987; Koga y Fukuda, 1992).

El NTS caudal se sitúa adyacente a la línea media del Bulbo dorsal y en el hombre está formado por 10 subnúcleos cuya homología arquitectónica con los respectivos núcleos de otras especies más estudiadas, como la rata o el gato, permite deducir que la función, la neuroquímica y las conexiones del NTS caudal serán también equivalentes en el hombre (Hyde y Miselis, 1992). Aferencias viscerales vagales a nivel del Bulbo se han detectado asimismo en el Núcleo dorsomotor del Vago, en el Núcleo Cuneatus externo, en el Area Postrema, en el Núcleo Ambiguo y en el subnúcleo principal de la Oliva Inferior (Kalia y



Mesulan, 1980; Knox et al., 1994; Fitzakerley y Lucier, 1988; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994; Kobashi et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Yamamoto et al., 1992).

De la zona caudal del NTS partiría posteriormente un tracto ascendente paralelo al lemnisco gustativo que se interrumpe sólo en parte en el NPB (Loewy y Burton, 1978), continuando después no hacia el Tálamo sino hacia el Hipotálamo y Amígdala (Ricardo y Koh, 1978).

Además de esta conexión anatómica, estudios electrofisiológicos y conductuales han detectado la presencia de información visceral vagal en el NPB (Rogers et al., 1979; Hermann y Roger, 1985; Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., 1991c; Gieroba y Blessing, 1994; Yamamoto et al., 1992; Kobashi et al., 1993; Suemori et al., 1994), Mesencéfalo (Bechara et al., 1993), Tálamo ventral, Hipotálamo, Amígdala y Cortex Insular (Dell y Olson, 1951a y b; Rogers et al., 1979; Ito, 1992). Todas estas zonas son conocidas por su participación en la transmisión de información visceral general que, en el caso de las estructuras más anteriores, les llegaría mediante conexiones directas desde el NTS o bien mediante un relevo en el NPB (Cecheto, 1987; Fulwiler y Saper, 1984; Ricardo y Koh, 1978). Además, las conexiones son recíprocas lo que podría interpretarse como un mecanismo de control para modular reflejos viscerales (Barraco et al., 1992).

De lo anterior se deduce, por tanto, la existencia de caminos paralelos para las aferencias viscerales vagas y el sistema gustativo central, así como la coincidencia de dichas informaciones sensoriales en diversas estructuras nerviosas (Hermann y Roger, 1985; Cecheto, 1987; Rogers et al., 1979; Di Lorenzo y Monroe, 1992) que representaría la confluencia anatómica teóricamente relevante para el Aprendizaje Interoceptivo.

El otro sistema con que cuenta el organismo para conducir la información visceral hasta estructuras superiores del SNC es la vía humoral. Este sistema de transmisión permitiría, por ejemplo, que centros nerviosos detectaran sustancias tóxicas presentes en el sistema circulatorio.

Una estructura claramente implicada en la detección de sustancias transmitidas por vía humoral es el Area Postrema (AP), que en la mayoría de los mamíferos se trata de una estructura bilateral que ocupa la pared del extremo caudal u obex del IV ventrículo (Strominger et al., 1994). Esta zona, que está muy vascularizada, se encuentra además libre

de Barrera Hematoencefálica, lo que la convierte en una estructura plenamente capacitada para recibir información visceral transmitida por la sangre y transmitirla a elementos neurales en el SNC. De hecho, se trata de una zona quimiorreceptora que participa en gran medida en los mecanismos del vómito (Borison, 1974) y cuyas células responden a variados estímulos eméticos como CILi, apomorfina o distensión gástrica (Tsukamoto y Adachi, 1994). Dada esta característica, y puesto que AP también recibe aferencias vagales (Kalia y Mesulan, 1980; Gieroba y Blessing, 1994;), podría tratarse de una estructura donde dicha información vagal y la procedente de productos químicos nocivos circulantes en sangre y que no consiguen atravesar la Barrera Hematoencefálica se integrasen y fuesen transferidas hasta otras zonas como el NPB (Lança y Van der Kooy, 1985; Suemori et al., 1994) aunque algunos estudios no han logrado observar una masiva conexión eferente desde AP hasta el NPB (Papas y Ferguson, 1990; Strominger et al., 1994).

Por otra parte, AP mantiene conexiones anatómicas con NTS pudiendo proporcionarle, por tanto, información adicional a la visceral vagal (Barraco et al., 1992), de manera que la zona quimiorreceptora (AP) podría enviar señales acerca de factores humorales a zonas relevantes para la iniciación del vómito (Fukuda y Koga, 1992; Koga y Fukuda, 1992; Strominger et al., 1994) o para modular la actividad del NTS (Cai et al., 1994). Esas relaciones, además, son recíprocas y, de hecho, se sabe que información gustativa procedente del NTS llega hasta AP (Coil y Norgren, 1981) por lo que teóricamente podría tratarse de otra zona más de interrelación gustativo-visceral (ver revisión Gallo, 1987). Se ha comprobado, sin embargo, que esta asociación no es suficiente como sustrato biológico del Aprendizaje Interoceptivo (Agüero et al., 1993b).

El hecho de que la información visceral pueda transmitirse mediante dos mecanismos, humoral y nervioso, llevó a nuestro laboratorio a plantearse la cuestión de si esa información era redundante o si el organismo utilizaba una u otra dependiendo de las demandas de una situación concreta. En principio, y dadas las diferentes características de ambas, cabía pensar que la variable tiempo podría ser un factor decisivo. Es decir, parecía razonable pensar que cuando la información visceral requiriese ser transmitida de forma rápida hasta estructuras nerviosas superiores, se utilizara la vía nerviosa, siendo entonces fundamental el nervio Vago. Si, por el contrario, las exigencias de tiempo no fueran tan cruciales, la información visceral podría alcanzar estructuras nerviosas utilizando la vía humoral. Hay que decir que estas hipótesis se han visto confirmadas en nuestro laboratorio.

## MODALIDADES DE AAG

### Aprendizaje Interoceptivo a Largo Plazo o Demorado

De acuerdo con la Teoría anatómica que proponía García y si, como él afirmaba, la convergencia gustativo-visceral se realizaba en el NTS, el aprendizaje debería verse impedido si se vagotomizaba al animal. Es decir, AAG no podría tener lugar si se eliminaban las aferencias viscerales que el Vago transmitía al NTS.

Esto, sin embargo, no se ha visto confirmado ya que diversos estudios (Martin et al., 1977; Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo, 1987) han informado que la vagotomía no interrumpe un AAG establecido siguiendo los parámetros característicos de este aprendizaje, es decir, dilación entre la presentación del estímulo gustativo y el aversivo (15 minutos), un sólo ensayo y CILi como inductor del malestar visceral, producto frecuentemente utilizado en este tipo de paradigmas precisamente por sus efectos viscerales tan negativos (Nachman y Ashe, 1973).

Estudios posteriores realizados en nuestro laboratorio han permitido explicar estos resultados y también resaltar la importancia de adecuar las condiciones experimentales (estímulo aversivo utilizado, paradigma de aprendizaje, dilación temporal, etc.) a la vía de transmisión visceral que vaya a utilizarse.

En esta modalidad a Largo Plazo, el aprendizaje puede ser fácilmente inducido en un sólo ensayo, introduciendo una demora de 15 minutos entre ambos estímulos (aversivo y gustativo) y utilizando una diversidad de agentes como estímulos viscerales negativos: sulfato de cobre (Coil y Norgren, 1981), estimulación eléctrica de AP (Gallo et al., 1988), metilnitrato de escopolamina (Gallo et al., 1990), rotación corporal (Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1991) y CILi (Arnedo, 1987).

Ahora la información visceral que se transmite por vía humoral parece ser fundamental para el establecimiento de AAG y, como ya se vió más arriba, AP es una estructura clave a la hora de detectar alteraciones en el sistema humoral y cuyas células pueden responder específicamente a la administración de CILi o apomorfina (Tsukamoto y Adachi, 1994). Pues bien, lesiones en esta zona impiden claramente el establecimiento de AAG en la condiciones anteriormente descritas (Ritter et al., 1980; Coil y Norgren, 1981; Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1990; Bernstein et al., 1992) y que denominamos Aprendizaje a Largo Plazo o Demorado.

Sin embargo, si esas condiciones son modificadas introduciendo, por ejemplo, más ensayos o estableciendo contigüidad temporal entre estímulos, se observa entonces que la lesión de AP o no impide el aprendizaje o simplemente lo atenúa (Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1990; Arnedo et al., 1990). Este hecho parece indicar que cuando el aprendizaje no se ajusta estrictamente a los requisitos característicos de AAG, AP pierde su primacía y que otras estructuras podrían estar actuando en su lugar.

Pero, además, esos mismos resultados se obtenían si, manteniendo este paradigma de aprendizaje con dilación, se utilizaba CINA como estímulo aversivo. Es decir, en este caso la lesión de AP no interrumpe el aprendizaje a Largo Plazo y los animales establecen sin dificultad la asociación entre estímulo gustativo y aversivo (Arnedo et al., 1990). AP, por tanto, no parece ser fundamental en el procesamiento visceral de este producto concreto.

Por otro lado, AP envía información directa a uno de los subnúcleos del Núcleo Parabraquial (PBN) troncoencefálico, en concreto, al lateral (PBNI) (Yamamoto et al., 1992; Lança y Van der Kooy, 1985). Pruebas conductuales realizadas en nuestro laboratorio han implicado a este subnúcleo en la transmisión de información visceral. Y así, se ha comprobado que su lesión reduce el AAG en las mismas condiciones en las que este aprendizaje era interrumpido tras lesión de AP: administrando el estímulo aversivo (CILi) 15 minutos después de la presentación del estímulo gustativo (Agüero et al., 1993a)

La información visceral por vía sanguínea parece, pues, fundamental para establecer AAG a largo plazo con CILi. Lo mismo puede decirse de AP y de PBNI, estructuras que reciben esa información.

### **Aprendizaje Interoceptivo a Corto Plazo o simultáneo**

La existencia de un mecanismo que procese rápidamente la información visceral y que sea relevante en AAG, también ha sido demostrada conductualmente en nuestro laboratorio. Para ello, se ha utilizado un paradigma de aprendizaje distinto del anterior.

Efectivamente, puesto que se pretende estudiar la relevancia de un sistema de procesamiento informativo rápido, las condiciones experimentales deben de tener en cuenta este hecho. Es por ello por lo que se emplea un paradigma de discriminación simultánea o Aprendizaje a Corto Plazo. En él los animales aprenden a discriminar entre dos estímulos

que se presentan al mismo tiempo, uno de ellos asociado con administración simultánea de un producto aversivo y otro sin consecuencias negativas (Deutsch, Molina y Puerto, 1976).

La relevancia de este sistema en AAG se ha comprobado al observar que los animales sometidos a esta tarea aprenden fácilmente una asociación de este tipo en la que se emplea como producto aversivo CINa (Arnedo et al., 1990).

En este aprendizaje se produce simultaneidad entre estímulos, varios ensayos, etc., y en su establecimiento parece jugar un papel clave el Nervio Vago. De hecho, la interrupción del mismo a distintos niveles impide este aprendizaje (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993).

Por otra parte, y dentro del eje Nervio Vago-PBN, el Núcleo Parabraquial medial (NPBm) es el siguiente enlace anatómico examinado y estaría implicado tanto en la transmisión de información gustativa (Agüero y Puerto, 1986; Agüero et al., 1991b) como visceral. De hecho, su integridad es necesaria para establecer un aprendizaje en tareas de discriminación simultánea como las que acabamos de describir (Agüero y Puerto, 1986; Agüero et al., 1991c).

Pero, y como ya dijimos, la vagotomía, por otra parte, no interrumpe el aprendizaje en una tarea de AAG cuando entre la presentación del estímulo gustativo y del visceral (CINa hipertónico) existía dilación temporal (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993) o cuando el estímulo aversivo utilizado era CILi (Arnedo, 1987). La lesión de NPBm tampoco parece afectar al aprendizaje establecido con CILi sin dilación (Agüero et al., 1991a).

### **Importancia de las condiciones experimentales en AAG**

En los resultados anteriores se aprecia una diferencia notable en relación a los estímulos utilizados en AAG, CINa hipertónico y CILi. Mientras que el primero parece ser detectado tanto por vía humoral como nerviosa (Arnedo et al., 1990), la vía vagal no se muestra relevante en el procesamiento del CILi.

El producto utilizado como estímulo aversivo puede determinar, pues, la vía periférica de procesamiento (Chambers, 1990). Como consecuencia, los requerimientos temporales del



paradigma a utilizar también deberán ajustarse a las características del agente aversivo, así como a la vía que éste vaya a utilizar, nerviosa o humoral.

Para que una sustancia pueda ser procesada debe ser previamente detectada por receptores periféricos (mecanorreceptores, osmorreceptores, quimiorreceptores, termorreceptores, etc) que detecten su presencia en el organismo (Rolls y Rolls, 1985). Veamos como puede realizarse este proceso con CILi y CINa.

### *Receptores periféricos*

Ya vimos que la sensibilidad visceral es sumamente compleja y muestra de ello es la gran diversidad de receptores que existen. En el caso concreto del CINa, hay que decir que Paintal demostró ya en 1959 la existencia de receptores que respondían específicamente al sodio. Si estos receptores son osmorreceptores o receptores de sodio es algo que sigue sin dilucidarse y la polémica se mantiene tanto en el caso de los receptores periféricos (Blake y Lin, 1978) como en los centrales (Fitzsimons, 1989).

Sea como fuere, receptores que responden al Na se han localizado prácticamente en todo el sistema gastrointestinal: intestino (Mei y Garnier, 1986), estómago, esófago, y sistema hepatoportal (Blake y Lin, 1978; Contreras y Kosten, 1981).

A pesar de ello, la naturaleza de estos receptores no es bien conocida. Algunos autores creen que su sensibilidad al sodio procedería de cambios en la permeabilidad de la membrana o de la electrogenicidad de una bomba de sodio (Blake y Lin, 1978). Otros rechazan esta idea y consideran que se trataría de receptores polimodales, ya que, mediante técnicas electrofisiológicas, se ha visto que responden no sólo a soluciones hipo e hipertónicas, sino también a estimulación mecánica, química y térmica (Mei y Garnier, 1986). Para estos autores, la activación osmosensitiva dependería de un mecanismo no específico que conduciría a la deformación mecánica del receptor.

La existencia de estos receptores periféricos ha sido utilizada experimentalmente para estudiar los mecanismos de la sed y la regulación de fluidos, estudios que han puesto de manifiesto una vez más que la canalización de toda la información de estos receptores corre a cargo del Nervio Vago (Simansky et al., 1982; Jerome y Smith, 1982; Jerome y Smith, 1984; Sakaguchi y Yamazaki, 1986).



Una característica común de todos estos receptores vagales parece ser la rapidez en la detección y transmisión de las señales gastrointestinales al SNC, ya que pueden responder con latencias menores de un segundo. Por ello, el cerebro dispondría de un sistema de detección rápido, independiente de la absorción y que sería fundamental con productos aversivos, tóxicos o imprescindibles para la supervivencia (Arnedo, 1987).

Parece también evidente que, dada la importancia que para el organismo tiene la detección de estos productos, existan otros medios de transmisión alternativos como puede ser la vía humoral. En concreto, las estructuras fuera de BBH son ideales para monitorizar los cambios de osmolaridad o concentración de sodio en la sangre como es el caso de AP (Bisset et al., 1990). Por este motivo, si se utiliza CINA, los animales pueden establecer AAG tanto en un paradigma de Corto Plazo como en uno con dilación (Arnedo et al., 1990).

Sin embargo, al ser el sodio un elemento fundamental para el mantenimiento del equilibrio homeostático, parece lógico que cualquier cambio en sus niveles deba ser inmediatamente comunicado al cerebro, lo que, sin embargo, no tendría por qué suceder en el caso del CILi, que probablemente no sea nunca encontrado por los animales en su medio ambiente.

Efectivamente, el CILi, aunque es profundamente aversivo para el animal, no es determinante para el organismo, de hecho, no se conocen receptores específicos para él en el sistema gastrointestinal. Lo más probable es, pues, que sea detectado una vez que se encuentre en la circulación sanguínea, lo que explicaría:

1º.- Los distintos resultados obtenidos al manipular el tiempo de demora entre estímulos. Cuando las condiciones experimentales exigen simultaneidad entre los estímulos para que se produzca el aprendizaje, no se permite a la información sobre el CILi llegar hasta una estructura relevante al mismo tiempo que el estímulo gustativo. Se evita así la simultaneidad entre ambos y, por lo tanto, el aprendizaje.

2º.- La necesidad de la integridad del AP cuando los parámetros temporales imponen dilación entre estímulos. Esta zona que se encuentra fuera de la Barrera Hematoencefálica parece ser la primera en detectar productos tóxicos en la sangre, participando además en la respuesta emética. Su destrucción implicaría, pues, una incapacidad para reconocer al CILi en caso de ser éste transmitido por vía humoral, como parece ocurrir a la vista de los resultados expuestos más arriba.

3º.- La falta de participación del Nervio Vago en el procesamiento de este producto, lo que explicaría, entre otros, los resultados de Martín y col. (1977) quienes no vieron interrumpido el AAG con CILi tras vagotomía.

### **Dos sustratos anatómicos para dos modalidades de AAG**

De los estudios anteriores parece desprenderse, pues, la existencia de dos sistemas de transmisión de la información visceral, uno lento que iría por vía humoral y otro más rápido que utilizaría la vía nerviosa. Esos dos sistemas se corresponderían conductualmente con dos modalidades distintas de aprendizaje dentro del AAG originalmente propuestas (Puerto y Molina, 1986) y desarrolladas en nuestro laboratorio, a saber, un aprendizaje interoceptivo de discriminación a Largo Plazo en el que jugaría un importante papel el sistema circulatorio, y un aprendizaje interoceptivo de discriminación simultánea o a Corto Plazo, donde sería el Nervio Vago el que participaría de forma decisiva (Arnedo, 1987; Arnedo et al., 1993; Arnedo et al., 1991).

En vista de lo anterior, hay que concluir que no hay un simple sistema responsable de AAG y que, en palabras de García, "fenómenos que tienen una apariencia conductual unitaria, pueden estar gobernados por un conglomerado neuroanatómico con funciones diversas" (García, 1990).

Pero, a pesar de toda la investigación que ha generado este modelo de aprendizaje, está lejos de conocerse con exactitud qué estructuras participan y de qué manera en la transmisión de la información relevante para el aprendizaje interoceptivo, así como los posibles lugares donde se produce la integración de las señales viscerales y gustativas. Hay, sin embargo, una estructura que actualmente está siendo repetidamente implicada en aprendizaje, es el Cerebelo. Si bien es cierto que los estudios utilizando paradigmas de AAG en este centro nervioso no han encontrado ningún dato que indique su participación en el mismo (Supple et al., 1987), creemos que no puede desecharse esa idea hasta que se compruebe que las condiciones experimentales se ajustan correctamente a lo que se quiere medir. El estudio de la anatomía del Cerebelo, de sus conexiones y de las nuevas funciones que se le han asignado puede ayudar a comprender la razón de nuestras afirmaciones.



## ANATOMÍA DEL CEREBELO

La anatomía del Cerebelo humano no se conoce todavía con detalle por lo que se siguen asumiendo los resultados y observaciones obtenidos en animales (Voogd et al., 1990). El Cerebelo ocupa la mayor parte de la fosa craneal posterior. Por encima y separado de él se encuentra el Cerebro, y en la parte anterior aparecen la Protuberancia, la parte superior del Bulbo y el IV ventrículo. Para describir al Cerebelo podemos hacer tres grandes divisiones: Cortex Cerebelar, Núcleos Profundos Cerebelosos y Pedúnculos Cerebelosos.

### CORTEX CEREBELAR

El cortex del Cerebelo ha atraído siempre la atención de anatomistas y fisiólogos debido a su apariencia extremadamente regular y ordenada. Efectivamente, sus circuitos se caracterizan por su constancia (los circuitos son los mismos en toda la corteza) y por su estereometría (los elementos neuronales que lo componen están distribuidos en un perfecto orden tridimensional). Este orden evidente que reina en él (en ningún otro lugar del sistema nervioso central aparece tal regularidad tridimensional) y su aparente simplicidad parece asegurar la comprensión total de la función de esta estructura (Thach y Montgomery, 1990; Nauta y Feirtag, 1987). A pesar de ello, como veremos, todavía está por establecerse una relación clara entre estructura y función del Cerebelo.

### Descripción del Córtex

El aspecto externo del Cerebelo muestra una constante división en regiones más o menos independientes que consisten en una cadena de folium paralelos separados por fisuras transversales. A simple vista se aprecian en ese cortex dos partes claramente diferenciadas separadas entre sí por la fisura posterolateral (Figura 1):

1) El **cuerpo cerebeloso** que es la zona más anterior y que constituye la masa principal del Cerebelo. Esta zona, a su vez, consta del **vermis** (en la línea media del Cerebelo) y de los **hemisferios cerebelosos** situados a ambos lados del vermis y separados del mismo por el surco paramediano. La zona de los hemisferios más próxima al vermis se llama **zona intermedia, paravermal o paramediana**. Filogenéticamente, las zonas más laterales de los hemisferios son también las más nuevas (*neocerebelo*) y las que más desarrollo han experimentado en el hombre, esto y el hecho de que los hemisferios cerebelares cuenten con mayor número de células que el cortex cerebral explicaría, para

algunos autores, la implicación del Cerebelo en funciones superiores (Leiner et al., 1993).

Larsell denominó a los distintos lóbulos del Cerebelo de la rata, incluidos los del vermis, con números romanos del I al IX que en el caso de los hemisferios se acompañan con una H. Esta nomenclatura se mantiene para otros mamíferos pero, además, el vermis humano también se divide, en una dimensión rostrocaudal, en llingula, lóbulo central, culmen, declive, folium-tuber, pirámide, úvula y nódulo. En adición, la fisura primaria divide al cortex cerebelar en el lóbulo anterior y lóbulo posterior. El lóbulo posterior, a su vez, puede ser dividido en lóbulo simplex, lóbulo ansiforme (con sus dos partes, crus I y crus II), lóbulo paramediano y paraflóculo.

En el cortex cerebelar parece existir una precisa organización topográfica. En general, crus I parece recibir proyecciones desde la cabeza y zonas superiores de la cara, crus II desde estructuras peri e intraorales y el lóbulo paramediano desde el cuerpo entero (Brodal, 1981).

2) El **Lóbulo Floclonodular** (lóbulo X de Larsell) que es la zona más caudal del cortex y que está formado por el **nódulo** en el centro y el **flóculo** (partes más laterales). Filogenéticamente, es la parte más antigua del Cerebelo (*arquicerebelo*) y en mamíferos, con la expansión de los hemisferios, ha quedado reducida a una pequeña zona. Recibe sus principales aferencias del Sistema Vestibular y es un centro implicado en varios reflejos vestibulares de ahí que también reciba el nombre de *vestibulocerebelum*.

El cortex cerebelar está formado por tres capas que se denominan, de más profunda a más superficial, capa granular, capa de las células de Purkinje y capa molecular (Figura 2). En ellas se distribuyen las células cerebelares, tanto los cinco tipos clásicamente conocidos como otros nuevamente descritos, de la siguiente forma:

*Capa granular.* A ella llegan la gran mayoría de las aferencias cerebelosas (otras van a los Núcleos Cerebelares Profundos) a través de las **fibras musgosas** las cuales conectan con las **células granulares**, pequeñas células densamente distribuidas que emiten unos finos axones no mielinizados que ascienden hasta la capa más superficial del cortex, la capa molecular. En la capa granular se encuentran también los cuerpos de las **células de Golgi**, grandes células cuyas dendritas se extienden por la capa molecular mientras que sus axones establecen contactos sinápticos con las células granulares. En ocasiones, una única fibra musgosa

establece contacto con dendritas de diferentes células granulares formando un *glomérulo* en el que pueden finalizar igualmente axones de células de Golgi. En la capa granular del vestibulocerebelum y, posiblemente, del resto del cortex, aparecen también las células unipolares "**brocha**", llamadas así por la forma que adopta el extremo de su dendrita y cuya función podría ser la de potenciar el contacto sináptico con fibras musgosas (Mugnaini y Floris, 1994).

*Capa de las células de Purkinje*, grandes y características células descritas ya en el siglo XIX y las únicas células de salida del Cerebelo al proporcionar un efecto inhibitorio sobre los Núcleos Profundos y el Núcleo Vestibular. Los cuerpos de estas células aparecen alineados uno junto a otro y separados entre sí por una distancia de 100 micras (Nauta y Feirtag, 1987). Entre los cuerpos de las células de Purkinje se ha detectado recientemente un nuevo tipo de interneuronas llamadas **células "candelabro"** por la distribución que adopta su axón en un plano parasagital de la capa molecular (Lainé y Axelrad, 1994).

*Capa molecular*, la capa más exterior del cortex cerebelar y en la que existen muy pocos cuerpos celulares. En la zona más alta de la capa hay unas pocas **células estrelladas** y en su parte más profunda están las **células en cesta**. Las dendritas de ambas células, al igual que las de las células de Purkinje, se sitúan en el plano transversal del folium. El resto de la capa lo componen las dendritas de las células de Golgi y, fundamentalmente, los axones de las células granulosas que aquí adoptan el nombre de **fibras paralelas**.

## Circuitos del cortex cerebelar (Figura 2)

### *Vía principal*

Las fibras musgosas, utilizando principalmente glutamato como neurotransmisor (Ottersen, 1993), conectan con las células granulares cuyos axones ascienden hasta la capa molecular y allí se bifurcan en dos colaterales adoptando la forma de una T; son las fibras paralelas llamadas así porque se extienden paralelamente a la dirección del folium y que, como hemos dicho, ocupan casi totalmente el espesor de la capa molecular. El glutamato es también el neurotransmisor utilizado por las fibras paralelas (Ottersen, 1993).

Las dendritas de las células de Purkinje ascienden hasta la capa molecular y allí reciben las señales excitatorias de las fibras paralelas. Cada célula de Purkinje recibe información de alrededor de 80.000 fibras paralelas (Brooks, 1986). Por su parte, los axones

de las células de Purkinje salen del cortex cerebelar y realizan sinapsis en los Núcleos Cerebelares Profundos los cuales proyectan al Núcleo Rojo, al Tálamo, cortex cerebral y médula espinal.

La información por esta vía constaría, pues, de los pasos siguientes:

F.Musgosa --> C.Granular --> F.Paralela --> C. de Purkinje

#### *Vías auxiliares*

a) Las células estrelladas, que también reciben información de las fibras paralelas, terminan en las dendritas de las células de Purkinje inhibiéndolas.

b) Los axones de las células en cesta se ramifican formando como una cesta que rodea a las células de Purkinje para entrar en contacto con ellas. Algunas de estas sinapsis son axoónicas, realizándose en el segmento inicial del axón de la célula de Purkinje, de ahí la fuerte inhibición que estas células sufren por parte de las células en cesta.

c) Las células de Golgi, situadas en la capa granular, extienden parte de sus dendritas hasta la capa molecular donde reciben impulsos de las fibras paralelas, pero, a diferencia de las células estrelladas y en cesta, no inhiben a las células de Purkinje sino a las células granulosas, es decir, a las zonas de entrada de los impulsos al cortex cerebelar.

d) Por último, hay que considerar la única aferencia directa que llega a las Células de Purkinje y es la transmitida por las **Fibras Trepadoras** que se originan en el Núcleo de la Oliva Inferior. Estas fibras, al igual que las musgosas, mandan colaterales a los Núcleos Profundos (Brooks, 1986; Kitai et al., 1977; McCrea et al., 1977) y continúan hasta la capa molecular afectando a las ramificaciones dendríticas de una sola célula de Purkinje. Es decir, una célula de la Oliva Inferior se comunica con una única célula de Purkinje.

Las fibras trepadoras, utilizando glutamato y posiblemente también aspartato (Ottersen, 1993), proporcionan a las células de Purkinje una excitación tan intensa que elimina cualquier inhibición por parte de las células estrelladas y en cesta.

En resumen, para Thach (Thach y Montgomery, 1990) existen cuatro características de los circuitos cerebelares relevantes para la fisiología de esta estructura: 1) el circuito

cortical es el mismo en todas las partes del cortex y todas las eferencias corticales, tanto las que alcanzan a los Núcleos Profundos como a los Núcleos Vestibulares son inhibitoras; 2) todas las eferencias nucleares, sea cual sea su destino, son excitadoras; 3) todas las aferencias al Cerebelo (cortex y Núcleos) comprenden dos tipos de fibras, musgosas y trepadoras, y ambas son excitadoras; 4) las células de Purkinje reciben dos señales excitadoras que difieren marcadamente en la distribución y en la acción sobre ellas, las fibras paralelas y las fibras trepadoras.

Por último, mencionar que las cuatro células inhibitoras del cortex cerebelar (células de Purkinje y las tres interneuronas, células de Golgi, en cesto y estrelladas) utilizan GABA como neurotransmisor, aunque las células de Golgi poseen también glicina y, quizá, acetilcolina (Ottersen, 1993).

## NÚCLEOS CEREBELOSOS INTERNOS

Situados ventralmente a la corteza del Cerebelo existen cuatro masas de sustancia gris llamadas Núcleos Cerebelosos Profundos o Internos que se sitúan a ambos lados de la línea media y que en el hombre, de más lateral a más medial, se denominan Dentado, Emboliforme, Globoso y Fastigial. En animales no primates el Núcleo Dentado se denomina Lateral, el Emboliforme y Globoso forman el Núcleo Interpósito (anterior y posterior) y el Núcleo Fastigial sería el Núcleo Medial. Realmente, estos núcleos forman parte de un continuo por lo que a menudo los límites entre ellos se señalan de manera arbitraria (Voogd et al., 1990; Brodal, 1981).

En cada uno de estos núcleos, al igual que en el cortex cerebelar, existe una organización somatotópica bastante precisa del cuerpo entero (Thach y Montgomery, 1990).

Las señales originadas en la corteza cerebelar son procesadas para su posterior salida a los Núcleos Cerebelosos Internos. Así, el vermis se proyecta al Núcleo Fastigial, la zona paravermal al Interpósito y los hemisferios laterales al Núcleo Dentado constituyendo el neocerebelo. Como excepción, hay que citar algunas fibras que salen del cortex del lóbulo floculonodular y pasan de largo de estos núcleos proyectándose directamente en los Núcleos Vestibulares. Con todo, puede decirse que las principales aferencias a los Núcleos Profundos son axones de células de Purkinje que, como hemos visto, ejercen una acción inhibitora. A pesar de esta inhibición, la actividad espontánea de los Núcleos es elevada debido a la excitación proporcionada por otros sistemas aferentes (Massion, 1993).

Esas otras aferencias a los Núcleos son colaterales de las fibras trepadoras y musgosas que se dirigen hacia el cortex cerebelar por lo que estos núcleos cuentan con la misma información que recibe la corteza y puede compararse a ambas. Además, estos núcleos proyectan hacia atrás, hacia las mismas zonas de las que reciben los axones de las células de Purkinje.

Por último, como ya se ha dicho, todas las fibras eferentes del Cerebelo son axones de células de los Núcleos Internos.

En general, parece que las lesiones limitadas a los Núcleos Profundos producen deterioros más severos y duraderos que las lesiones del cortex cerebelar. La lesión del Núcleo Fastigial (medial) se traduce en dificultades para permanecer de pie y en la marcha. La inactivación del Interpósito destruye la regularidad de la amplitud y de la medida que se manifiesta en la habilidad de ejecutar movimientos alternantes rápidos de flexión y extensión, por ejemplo, y origina también el llamado temblor intencional cerebelar. La inactivación del Núcleo Dentado, por su parte, parece demorar los movimientos voluntarios. Hay que tener presente, sin embargo, que difícilmente las lesiones en el hombre respetan los límites de los Núcleos Profundos y que, a excepción de los Núcleos Vestibulares y Fastigial, no existen reglas generales para distinguir los síntomas de lesiones nucleares de los síntomas corticales (Thach y Montgomery, 1990).

En cuanto a la presencia de neurotransmisores en los Núcleos Profundos, parece confirmado que en algunas pequeñas células de estos núcleos coexisten glicina y GABA aunque son liberadas en distintos lugares; en neuronas más grandes del Núcleo Fastigial, por otra parte, se han detectado glicina y aspartato (Chen y Hillman, 1993).

## PEDÚNCULOS CEREBELOSOS

El Cerebelo se une al Tronco Cerebral a través de fibras aferentes y eferentes que forman tres pares de masivos haces de fibras situados a ambos lados y que se denominan pedúnculos cerebelares:

*Pedúnculo Cerebelar Inferior* (o Cuerpo Restiforme), compuesto principalmente de aferencias desde el Tronco Cerebral y la Médula Espinal.

*Pedúnculo Cerebelar Medio* (o Brachium Pontis). Es puramente aferente y contiene fibras



que se originan en Núcleos Pontinos contralaterales. Es el pedúnculo con mayor número de fibras, en el hombre podría contar con 20 millones.

*Pedúnculo Cerebelar Superior* (o *Brachium Conjunctivum*). Contiene la mayoría de las aferencias cerebelares que se originan en los Núcleos Profundos y que se proyectan a estructuras en el Tronco Cerebral finalizando en el Tálamo. También tiene unas pocas aferencias como las del Tracto Espinocerebelar anterior.

### **División zonal longitudinal del Cerebelo**

En los últimos años se ha puesto de manifiesto que existe en el cortex cerebelar de diversas especies un patrón de organización longitudinal además de la clásica división en lóbulos y lobulillos. El estudio de las proyecciones del cortex a los Núcleos Internos llevó a Jansen y Brodal a proponer en 1940 una subdivisión del cortex cerebelar en tres zonas, una zona medial (vermis) que proyecta al Núcleo Fastigial, una zona intermedia que proyecta al Núcleo Interpósito y una zona lateral con proyecciones al Núcleo Dentado (Brodal, 1981). Estudios posteriores distinguieron dos zonas longitudinales en la parte intermedia y tres zonas en la parte medial. El cortex cerebelar ha sido así dividido en zonas longitudinales que se distinguen la una de la otra en el origen de las fibras trepadoras y en las proyecciones nucleares.

La distinción de las zonas longitudinales se ha fundamentado, además de la descripción de las aferencias y eferencias, en estudios embriológicos e histoquímicos, siendo Voogd el autor que ha proporcionado el mapa más detallado de dichas subdivisiones (Groenewegen y Voogd, 1977; Brodal, 1981) proponiendo la existencia de 4 zonas principales denominadas, de medial a lateral, zona A, B, C, y D. Recientemente se ha realizado un estudio encaminado a describir el patrón de organización de las conexiones olivo-corticonucleares en la rata intentando deducir las consecuencias funcionales de dicha organización (Buisseret-Delmás y Angaut, 1993). Una estructura zonal del Cerebelo puede ser también revelada electrofisiológicamente ya que cuando se registra con un microelectrodo la respuesta de las células de Purkinje a las fibras trepadoras, esa respuesta es uniforme en una zona, pero varía de una zona a otra (Ito, 1993c).

Cada zona longitudinal del cortex cerebelar aparecería además organizada en microzonas, cada una de las cuales, en conjunción con un pequeño grupo de células nucleares y células de la Oliva Inferior, constituiría un microcomplejo corticonuclear que para algunos

autores representaría la unidad funcional del Cerebelo (Ito, 1993a y d).

No hay todavía confirmación plena de la existencia de una división zonal semejante en el Cerebelo humano aunque los estudios sobre el desarrollo del Cerebelo podrían aportar evidencia en ese sentido (Voogd et al., 1990).

### CONEXIONES CEREBELARES AFERENTES

Como hemos visto, las fibras aferentes al Cerebelo llegan a través de los tres pares de pedúnculos cerebelares y son:

*Fibras musgosas* desde Médula Espinal, Sistema Vestibular, Formación Reticular, Núcleos Pontinos y Núcleos cerebelares profundos. Cada fibra musgosa se divide en el interior del lóbulo de manera divergente ya que entra en contacto con varias células granulares. Pero a pesar de esta divergencia, los mensajes transmitidos conservan su identidad a su llegada al cortex cerebelar de manera que se conserva la especificidad funcional del territorio periférico de origen (Massion, 1993).

*Fibras Trepadoras* desde la Oliva Inferior, centro integrador de la información que llega desde la Médula, el Tronco Cerebral y el cerebro anterior.

*Fibras Aminérgicas*: De Serotonina que se originan en los Núcleos del Raphe del Tronco Cerebral y que en el Cerebelo podrían tener una función en la neurogénesis, y de Norepinefrina que se originan en el Locus Coeruleus pudiendo estar relacionadas con las influencias autonómicas del Cerebelo (Brooks, 1986). La Norepinefrina, además, actúa en el cortex cerebelar como un neuromodulador aumentando la acción de GABA y otros neurotransmisores proporcionando quizá una señal que consolide los cambios eficaces, es decir, interviniendo en el aprendizaje motor (Gilbert, 1993; Bickford, 1993).

Así pues, las principales vías por las que llega la información al Cerebelo son las que se describen a continuación (Figura 3).

### Tractos Espinocerebelares

A través de ellos el Cerebelo recibe información somatosensorial desde mecanorreceptores



de la piel, músculos y articulaciones, información que acaba en el cortex vermal y paravermal mapeando somatotópicamente el cuerpo, una vez en el lóbulo anterior y bilateralmente en el posterior, con la cabeza cerca de la fisura primaria y el tronco adyacente a la línea media.

Todos los caminos espinocerebelares (dorsal, rostral) llegan al Cerebelo a través del Pedúnculo Cerebelar Inferior, a excepción del tracto espinocerebelar ventral que lo hace a través del Superior.

### **Vía Corticopontocerebelar**

Varias áreas del cortex cerebral proyectan a los Núcleos Pontinos pero predominan las zonas próximas al surco central (área motora primaria, premotora y suplementaria, cortex somatosensorial y partes adyacentes del lóbulo parietal). Esta información acaba en el Cerebelo en las mismas zonas que la procedente de la médula (vermis y zona intermedia).

En la actualidad se está prestando mucha atención a las conexiones que el Cerebelo mantiene con el cortex prefrontal (áreas 8, 9, 10, 44 y 45 de Brodmann) y se ha relacionado el desarrollo filogenético de las partes más laterales del Cerebelo (hemisferios y Núcleo Dentado) con la expansión de este cortex (Leiner et al., 1989; Brooks, 1986). Partiendo del hecho de que lesiones limitadas a estas zonas laterales del Cerebelo no producen deterioro motor evidente (Brooks, 1986) y de la relación anatómica que esta estructura mantiene con zonas no motoras del cortex cerebral, es por lo que algunos autores han propuesto un papel para el Cerebelo en funciones cognitivas (Leiner et al., 1993). Se confirmen o no estas propuestas, lo que sí es cierto es que el cortex cerebelar recibe una cantidad ingente de información de los principales lóbulos del cortex cerebral a través de la vía corticopontocerebelar.

### **Sistema Vestibular**

Algunas fibras del Nervio Vestibular (aferencias vestibulares primarias) penetran en el Cerebelo como fibras musgosas terminando en el lóbulo floclunoular y en el Núcleo Fastigial. Se ha sugerido la posibilidad que algunas de estas aferencias alcancen también al vermis en su totalidad (Brodal, 1981).

Fibras secundarias desde los Núcleos Vestibulares también acaban en el lóbulo flocculonodular y en el vermis.

La información sensorial que el Sistema Vestibular transmite acerca de la posición de la cabeza y del movimiento de los ojos, es fundamental para el mantenimiento del equilibrio. Por ello, como se dijo más arriba, el síntoma más característico de la lesión del vestibulocerebelum es la dificultad para andar y mantenerse erecto y la alteración del reflejo vestibuloocular (Thach y Montgomery, 1990).

### Vía Olivocerebelar

Las aferencias que provienen del Núcleo de la Oliva Inferior entran a través del Pedúnculo Cerebelar Inferior contralateral y cubren por completo el cortex cerebelar con fibras trepadoras, recibiendo cada lóbulo cerebelar fibras de varias regiones del complejo olivar. Además, una región olivar particular no proyecta a un sólo lóbulo sino a varios (Brodal, 1981). Este patrón lobular ha sido superado en los últimos años al confirmarse que cada zona longitudinal del cortex cerebelar recibe fibras de una región particular de la Oliva Inferior siguiendo un patrón topográfico extremadamente preciso (Groenewegen y Voogd, 1977; Brodal, 1981; Voogd et al, 1990).

Diferentes zonas de la Oliva alcanzan también, mediante colaterales de las fibras que se dirigen al cortex, cada uno de los Núcleos Profundos contralaterales. Así, el Núcleo Dentado recibe fibras de la Oliva principal, el Núcleo Interpósito anterior de la parte rostromedial de la Oliva dorsal accesoria y el Núcleo Fastigial de la zona caudal de la Oliva accesoria dorsal (Brodal, 1981).

La información que llevan estas fibras vienen de varias fuentes: médula espinal, Núcleo Rojo, cortex cerebral (principalmente cortex motor), Formación Reticular, Colículo Superior y del cerebelo mismo (Núcleos Dentado e Interpósito contralaterales utilizando GABA como neurotransmisor). Las conexiones entre la Oliva Inferior y los Núcleos Profundos son, en gran parte, recíprocas (Brodal, 1981; Voogd et al., 1990).

Por todo ello, al Núcleo de la Oliva Inferior se le considera un centro comparador de la información procedente de todas esas zonas. Si en esa comparación detecta alguna anomalía, lo comunica a las células de Purkinje que se encargarán de mandar señales correctoras tanto al cerebro como a los sistemas más inferiores (Brooks, 1986).

## Otras

Existe también una proyección autonómica hacia el vermis que viene desde el Núcleo del Tracto Solitario y que se ocupa de reflejos gustativos, cardiovasculares y respiratorios (Brooks, 1986).

## CONEXIONES CEREBELARES EFERENTES

Todas las eferencias cerebelares son axones de células de Purkinje. Algunos de estos parten del lóbulo floculonodular y de parte del vermis, dejan el Cerebelo por el cuerpo yustarestiforme y acaban en los Núcleos Vestibulares. Esta es la única vía de acceso directa del cortex cerebelar a las neuronas motoras de la Médula Espinal (mediante el tracto vestibuloespinal).

El resto de los axones de las células de Purkinje acaban en los Núcleos Cerebelosos Profundos como se describió más arriba, es decir, las partes más mediales del cortex cerebelar se proyectan en los Núcleos más mediales y las partes más laterales de los hemisferios acaban en los Núcleos más laterales (Dentado).

El lóbulo floculonodular manda también eferencias al Núcleo Dentado además de a los Núcleos Vestibulares.

Posteriormente, la información de todos los núcleos cerebelares (Dentado, Interpósito, Fastigial y el complejo vestibular) se une y desemboca en un campo talámico común finalizando directa y somatotópicamente en el cortex motor y, de forma más difusa, en otras zonas de la corteza cerebral (Thach, 1987). En general, puede decirse que las fibras eferentes de los núcleos cerebelares se distribuyen a numerosas zonas del Sistema Nervioso Central indicando que el Cerebelo puede controlar una variedad de funciones (Figura 3).

## Núcleo Fastigial

La salida de este núcleo se realiza directamente al Tronco Cerebral, acabando en los Núcleos Vestibulares de cada lado y en la Formación Reticular contralateral. Por último, algunas pocas fibras también se dirigen bilateralmente al tálamo contralateral y a la médula espinal

cervical también contralateral.

Este núcleo, al igual que el Interpósito y Dentado, proyecta en el tálamo una representación del cuerpo entero y no solamente de la musculatura troncal (Thach, 1987).

### Núcleos Dentado e Interpósito

La principal salida del Cerebelo viene de estos núcleos y se realiza a través del Pedúnculo Cerebelar Superior ipsilateral a nivel del Puente rostral. A este nivel algunas fibras descienden para acabar en la Formación Reticular y en el Núcleo de la Oliva Inferior.

Pero la mayoría de las fibras continúan rostralmente hacia el Núcleo Rojo (Padel, 1993) donde algunas terminan (principalmente las del Núcleo Interpósito) y otras continúan hasta el Tálamo (ventral fundamentalmente) y desde aquí al cortex motor (Angaut y Cicirata, 1994) y no motor (Middleton y Strick, 1994). Hay que señalar, asimismo, los circuitos cerebelomesencéfaloolivares formados por las conexiones recíprocas entre los Núcleos Profundos y olivares y la conexión Dentado-Núcleo Rojo-Oliva Principal (Voogd et al., 1990).

En cuanto a las implicaciones funcionales de estos núcleos en control motor se ha visto, al medir tiempos de reacción con microelectrodos en el Núcleo Dentado y en el cortex motor en una tarea de flexión y extensión de la muñeca, que el dentado entra en acción antes que el cortex motor. De esta observación y de los resultados de inactivar el Dentado, se deduce que este núcleo no es necesario para la activación del cortex motor pero si lo es para mantener un menor tiempo de reacción (Thach, 1987).

Por otra parte, al utilizar el paradigma de Tanji-Evarts (Tanji, 1987), se ha comprobado que, ante la luz que anuncia la preparación para la acción, el Interpósito entra en acción 26 ms. después que el dentado y 10 ms. después que el cortex motor. Sin embargo, cuando la señal actúa sobre el mismo miembro para que éste entre en acción inmediatamente, los cambios en el interpósito preceden a ambos, al dentado y al cortex motor. El interpósito parece tener pues, un papel en el control del mantenimiento del movimiento en curso (Thach, 1987).

Si estos núcleos y el Cerebelo en su totalidad tienen otras funciones además de las motoras analizadas hasta ahora, será objeto de análisis a lo largo del presente trabajo.

## FUNCIONES DEL CEREBELO

El Cerebelo es un órgano que ha intrigado siempre y ello por varias razones. En primer lugar, por su localización ya que a pesar de estar situado sobre el Tronco Cerebral, no es lugar de paso obligado de ninguna vía sensorial o motora sino que se sitúa en paralelo a esas vías. Por ello, han sido numerosas, y a veces especulativas, las hipótesis sobre su función; recordemos, por ejemplo, que para Gall y sus seguidores el Cerebelo sería el lugar anatómico del amor sexual frente al lóbulo occipital donde se situaría el amor maternal (ver Macklis y Macklis, 1992). En segundo lugar, por su muy particular estructura histológica, cuya organización geométrica fue inicialmente descrita por Ramón y Cajal en 1911 y que ha dado pie igualmente a numerosas hipótesis y controversias durante los últimos treinta años. Y, por último, por su función, considerada inicialmente como una estructura esencialmente motora, se cuestiona ahora que ese y únicamente ese sea su papel (Massion, 1993; Paulin, 1993). Expondremos a continuación algunas de las numerosas hipótesis propuestas actualmente sobre la función del Cerebelo.

### FUNCIONES MOTORAS

La idea de que el Cerebelo está dedicado al control y coordinación de los movimientos se basa en varias líneas de evidencia (Paulin, 1993). En primer lugar, la constatación de que el daño en el Cerebelo causa fundamentalmente un deterioro en control motor y coordinación. En segundo lugar, la apreciación de que la actividad de neuronas en el Cerebelo se relaciona con patrones de movimiento, así, se sabe, por ejemplo, que en determinados movimientos intencionales el Núcleo Dentado podría activarse antes incluso que la corteza motora por lo que el Cerebelo podría participar no sólo en la ejecución de un acto motor, sino también en la programación motora que precede a un movimiento dado (Thach, 1987). Además, la utilización de técnicas actuales como el PET (Fox et al., 1985; Petersen y Fiez, 1993) o la medida del flujo sanguíneo cerebral (Decety et al., 1990) que posibilitan el estudio de las relaciones anatómicas-funcionales en el Cerebelo humano, implican a éste en la regulación de toda la actividad motora que desarrolla el Sistema Nervioso Central, incluyendo la mera imaginación del movimiento mismo. En tercer lugar, estaría el hecho de que la información que parte del Cerebelo alcanza regiones motoras y premotoras de la corteza cerebral, regiones que, a su vez, son fuente relevante de información hacia el Cerebelo y, como se ha puesto de manifiesto en el apartado anterior dedicado a la anatomía de dicha estructura, una organización somatotópica motora ha sido puesta de manifiesto en diversas zonas cerebelares como el Núcleo Dentado (Angaut y Cicirata, 1994). Toda esta evidencia prueba que el Cerebelo juega un papel motor importante, de hecho, hay quien

considera que su función consistiría exclusivamente en el control del movimiento (Thach y Montgomery, 1990).

Como decimos, los conceptos actuales acerca de las funciones fisiológicas del Cerebelo en el control del movimiento derivan en gran medida de las observaciones de los desórdenes resultantes tras lesiones cerebelares tanto en animales de experimentación como humanos. Estas alteraciones fueron ya descritas durante la primera Guerra Mundial por Gordon Holmes quien concluyó que las principales manifestaciones tras lesiones cerebelares en humanos eran la ataxia (descoordinación del movimiento) y el temblor intencional (movimientos correctores inexactos hacia posiciones deseadas de un miembro o del cuerpo entero). Las manifestaciones de la ataxia se han subdividido en dismetría (errores de cálculo en las trayectorias de los movimientos que llevan a sobrepasar o no alcanzar el objeto propuesto), disdiadocokinesias (inhabilidad para hacer movimientos alternativos rápidos) y disinergia (pérdida de coordinación en los movimientos en los que intervienen varias articulaciones). Holmes también describió otras alteraciones en estos pacientes como la dificultad en iniciar o parar el movimiento, movimientos oculares anormales y disartría (habla lenta y costosa). En definitiva, Holmes utilizó la expresión "descomposición del movimiento" para describir la degradación de movimientos complejos en componentes irregulares de esos movimientos (Gilman, 1994). Posteriormente, se ha comprobado que los síntomas descritos por Holmes pueden ser reproducidos por inactivación temporal del Cerebelo lateral (hemisferios-Dentado) (Brooks, 1986) que estaría más especializado en el movimiento habilidoso, secuencial y que programaría los parámetros de movimiento antes de su iniciación (Thach, 1987). En cuanto a la parte medial del Cerebelo (paravermis-interpósito), participaría preferentemente en el mantenimiento del equilibrio y la postura (Stein y Glickstein, 1992; Lalonde y Botez, 1990) interviniendo en los movimientos en curso (Thach, 1987) y recibiendo para ello información acerca de la posición, velocidad y dirección del movimiento efectuado por las articulaciones (Van Kan et al., 1993).

Estas observaciones junto al hecho de que las lesiones cerebelares no eliminan los movimientos y que la estimulación del Cerebelo solamente produce un limitado repertorio de movimientos (Brooks, 1986; Swain et al., 1992) hacen que en la actualidad exista un acuerdo general acerca de que la pérdida de coordinación sea el síntoma principal de las alteraciones motoras del Cerebelo, aunque aún está por establecerse el papel preciso de esta estructura en el control del movimiento (Gilman, 1994). Así, para Brooks (1986) el Cerebelo ejecutaría un papel regulador, coordinando y ajustando las respuestas de estructuras de nivel medio y bajo a las órdenes recibidas desde los niveles más altos o, dicho de otra forma, las funciones del Cerebelo consistirían en comparar las ordenes motoras centrales con los



informes somatosensoriales, vestibulares y visuales que alcanzan al Cerebelo desde la periferia y el sistema nervioso central de manera que los movimientos resulten hábiles, fluidos y coordinados. En otras palabras, podría considerarse como un "metasistema" conectado en paralelo con vías primarias que ajustase parámetros de cara a conseguir una ejecución óptima (Stein y Glickstein, 1992).

Ivry y Keele (1989) han abordado el conocimiento de las funciones del Cerebelo intentando descomponer el término "coordinación" en operaciones separadas que describan mejor las características de una conducta motora diestra. Para ello se han centrado en el estudio del control temporal y han podido comprobar que los pacientes cerebelares tienen alterada tanto la percepción como la producción del tiempo (Ivry y Keele, 1989). La ejecución diestra de una habilidad motora implica la coordinación temporal de múltiples movimientos pudiendo residir el mecanismo temporizador en el Cerebelo. Para Ivry y Keele ese papel no estaría limitado al sistema motor, sino que podría ser utilizado por otros sistemas perceptivos y cognitivos cuando fuesen necesarios análisis temporales como, por ejemplo, en el condicionamiento clásico ya que el sentido adaptativo de la respuesta condicionada estriba en que se prevea el momento de aparición del estímulo incondicionado (Ivry y Keele, 1989).

La probable participación del Cerebelo en otras funciones distintas a la motora y la posibilidad, apuntada por algunos autores, de que las deficiencias motoras que presentan los pacientes con daño cerebelar hayan enmascarado otro tipo de déficits (visuoespaciales, de aprendizaje espacial, aprendizaje discriminativo, etc.) que, sin embargo, se pondrían de manifiesto al aplicar las pruebas adecuadas, es lo que vamos a exponer a continuación.

#### **FUNCIONES NO MOTORAS**

En 1978 Watson no consideraba exagerado afirmar que el Cerebelo era "una de las más y una de las menos estudiadas estructuras cerebrales". Esta afirmación hacía referencia, por una parte, a la existencia de numerosas investigaciones acerca de la anatomía y de las funciones motoras del Cerebelo y, por otra, a la poca atención que habían recibido las contribuciones cerebelares a otras conductas distintas a la puramente motora. Watson intentó compensar esta carencia en su artículo de revisión de las funciones no motoras del Cerebelo y llegó a la conclusión de que esta estructura podía intervenir en procesamiento sensorial (auditivo, visual, táctil,...), en aprendizaje (Marr, Albus, Eccles y otros autores habían ya



desarrollado sus teorías acerca del papel de la corteza cerebelar en aprendizaje de destrezas motoras), y en emoción, motivación y recompensa a través de las conexiones anatómicas que el Cerebelo mantiene con estructuras límbicas e hipotalámicas (Watson, 1978).

El problema que una revisión de este tipo planteaba en la década de los 70, además del escaso número de observaciones al respecto, era que muchas de estas observaciones eran anecdóticas o circunstanciales mientras que otras, sobre todo las observaciones clínicas, no habían sido adecuadamente verificadas (Watson, 1978; Schmahmann, 1991). A ello se añadía las dificultades conceptuales y metodológicas para estudiar algunas de las funciones como era el caso de la comprobación de las teorías de aprendizaje motor (Watson, 1978; Lalonde y Botez, 1990). Algunas de estas dificultades han sido resueltas en años recientes proporcionando cada vez más argumentos a los que piensan que el Cerebelo podría intervenir en otras funciones distintas del control e integración del movimiento.

### **Funciones cognitivas**

Durante la década de los 80 se ha intentado depurar algunas de las dificultades mencionadas más arriba, de manera que, por ejemplo, los estudios neuropsicológicos de pacientes con trastornos cerebelares han sido más exhaustivos tanto en el análisis de las habilidades de los sujetos como en la delimitación anatómica de las lesiones. Estos estudios recientes han puesto así de manifiesto la probable intervención del Cerebelo en funciones superiores al detectarse tras lesiones cerebelares dificultades en operaciones espaciales y constructivas (Wallesch y Horn, 1990; Atting et al., 1991; Botez, 1992; Botez-Marquard, 1993; Daum et al, 1993a), en planificar y programar actividades diarias (Botez, 1992), en el cambio voluntario de atención selectiva entre modalidades sensoriales (Akshoomff y Courchesne, 1992), en lenguaje (Leiner et al., 1993; Leiner et al., 1989), en juzgar y en ejecutar intervalos de tiempo (Ivry y Keele, 1989; Ivry y Baldo, 1992) y en diversos procesos de aprendizaje y memoria cuyo estudio analizaremos detalladamente más adelante.

Hay que mencionar asimismo las alteraciones de distinto tipo observadas en el Cerebelo de determinadas patologías clínicas como la enfermedad de Alzheimer en la que, a pesar de los primeros resultados negativos (ver Woodruff-Pak et al., 1990), comienza a constatarse la existencia de placas amiloides también en el Cerebelo (ver Schmahmann, 1991). De igual modo, algunos autores han apreciado anomalías en los hemisferios y el vermis de pacientes autistas relacionando los déficits cognitivos de estos pacientes a dicha hipoplasia cerebelar (Murakami et al., 1989). Sin embargo, otros estudios no han podido

confirmar la existencia de daño cerebelar en estructuras de la fosa posterior incluyendo el Cerebelo (Kleiman et al., 1992) por lo que esta cuestión permanece abierta.

La manera en la que el Cerebelo participaría en conductas no motoras sigue discutiéndose en la actualidad. Las características de algunas de las incapacidades mostradas por los pacientes cerebelares han llevado a algunos autores a hablar de que en el Cerebelo se produciría un síndrome similar al parietal o al frontal (Botez-Marquard y Botez, 1993) y se apoyan para ello en las conexiones anatómicas que se establecen entre estas zonas (Walleh y Horn, 1990; Leiner et al., 1989). En ese sentido, estudios anatómicos recientes han podido establecer conexiones entre el Núcleo Dentado y el cortex prefrontal dorsolateral (Middleton y Strick, 1994) conocido por participar en funciones no motoras como la memoria funcional espacial (Goldman-Rakic, 1992). De igual manera, en el caso del lenguaje, la participación del Cerebelo, que se ha comprobado mediante técnicas como el PET (Petersen y Fiez, 1993), se intenta explicar por medio del desarrollo evolutivo que han experimentado las zonas filogenéticamente más nuevas; la expansión de los hemisferios cerebelares y del Núcleo Dentado en el hombre estaría, según esta teoría, relacionada con el desarrollo del lenguaje humano y, en concreto, sería el circuito establecido entre el Núcleo de la Oliva Inferior - Núcleo Dentado - Núcleo Rojo - Núcleo de la Oliva Inferior el que participaría en el proceso cognitivo de reconocer las palabras y en el proceso motor de expresarlas (Leiner et al., 1993). Esta explicación, sin embargo, no es totalmente aceptada por otros autores que también fallan a la hora de encontrar algunos de los impedimentos mencionados anteriormente poniendo en duda las condiciones metodológicas en la que estos estudios se llevaron a cabo (Daum et al., 1993a). Para ellos, el Cerebelo intervendría sólo indirectamente en procesos cognitivos a través de las conexiones cerebeloparietal y cerebelofrontal mientras que intervendría directamente en procesos básicos de aprendizaje asociativo y en la rapidez de procesamiento informativo (Botez, 1992; Bracke-Tolkmitt et al., 1989; Daum et al., 1993a).

Otra hipótesis funcional del papel llevado a cabo por el Cerebelo es la que considera a esta estructura como un mecanismo interno temporal que sería necesario en todas aquellas habilidades, motoras y no motoras, que requieran un control preciso del tiempo (Keely y Ivry, 1990; Ivry y Baldo, 1992).

En resumen, puede decirse que, salvo excepciones (Glickstein, 1993), hay acuerdo general, basado en los estudios antes citados, en atribuir al neocerebelo funciones mentales complejas y en el requerimiento de esfuerzos adicionales para determinar en qué tareas complejas participa el Cerebelo y de qué manera lo hace.

## Emoción y Motivación

La posible implicación del Cerebelo en estados emocionales no puede establecerse claramente a partir de los datos clínicos. Efectivamente, existen estudios clásicos que relacionan al Cerebelo con manifestaciones emocionales al comprobar que tras la estimulación eléctrica de la corteza cerebelar en pacientes epilépticos desaparecían no sólo las manifestaciones epilépticas sino también la depresión, la angustia y la agresión (ver Watson, 1978; Schmahmann, 1991). Estudios más recientes han fallado, sin embargo, a la hora de detectar alteraciones emocionales en pacientes con patología cerebelar (Botez, 1992; Appollonio et al., 1993).

No obstante, resultados más contundentes aparecen al revisar la investigación experimental con animales que ha tratado de comprobar la posibilidad de que ciertas zonas del Cerebelo, concretamente el cortex vermal y el núcleo Fastigial, interviniesen en funciones autonómicas y en conductas emocionales y motivacionales. Esta hipótesis se fundamenta, como se dijo más arriba, en las conexiones que el Cerebelo mantiene con el Hipotálamo y con estructuras del Sistema Límbico (Lalonde y Botez, 1990). Así, los estudios anatómicos han puesto de manifiesto no sólo conexiones directas y recíprocas entre el Hipotálamo y el Cerebelo (Haines y Dietrichs, 1990) sino que fibras procedentes de núcleos hipotalámicos que alcanzan la Amígdala envían colaterales hacia el Cerebelo (Dietrichs y Haines, 1986). Además de estos estudios anatómicos, las relaciones funcionales entre Hipotálamo y Cerebelo han podido ser establecidas recientemente mediante estudios electrofisiológicos que han registrado actividad en células de Purkinje del vermis anterior tras estimulación eléctrica del Hipotálamo, prestando así apoyo adicional a la posibilidad de intervención del Cerebelo en respuestas emocionales y autonómicas (Supple, 1993).

Estudios realizados con lesiones o estimulación del vermis cerebelar han comprobado igualmente cambios en respuestas emocionales específicas confirmando que esta zona podría participar en el control y expresión de conductas emocionales (Supple et al., 1987), así como en respuestas autonómicas (Bradley et al., 1987), algunas de las cuales se relacionan con la manifestación de estados de miedo (Supple et al., 1993; Supple y Leaton, 1990). Alteraciones en conductas motivacionales como nutrición, por ejemplo, han sido también observadas recientemente en animales cerebelectomizados (D'Agata et al., 1993; Mahler, et al., 1993).

En resumen, desde que Moruzzi en 1940 propuso la intervención del Cerebelo en funciones autonómicas se han sucedido los estudios anatómicos, electrofisiológicos y

conductuales que han ido confirmando esta propuesta. Esta posibilidad funcional del Cerebelo está íntimamente relacionada con aspectos centrales del presente trabajo por lo que volveremos a analizarla repetidamente.

### **Aprendizaje y Memoria**

Desde finales de 1960 se han desarrollado diversas teorías intentando implicar al Cerebelo en el aprendizaje de destrezas motoras. Según estas teorías (Marr, 1969; Eccles, 1977; Ito, 1982), del Cerebelo no dependería tanto la adquisición de una secuencia de movimientos como el que éstos aparecieran fluidos y diestros, es decir, bien aprendidos. La participación del Cerebelo en procesos de aprendizaje y memoria es, de todas las funciones no motoras atribuidas en los últimos años a esta estructura, la que más atención y más evidencia experimental ha recibido (Lalonde y Botez, 1990; Ito, 1993a; Gilbert, 1993; Bloedel, 1992b; Ivry y Baldo, 1992; Kawato y Gomi, 1992; Glickstein y Yeo, 1990; Glickstein, 1992; Thompson, 1988; Lavond et al, 1993; Lalonde, 1994). Esto no quiere decir, sin embargo, que haya un acuerdo total entre todos los investigadores acerca del papel, del peso específico o de la forma en la que el Cerebelo intervendría en aprendizaje y en memoria. Analizaremos las principales controversias que existen en este punto a lo largo de este apartado y del presente trabajo en general.

La elaboración de una teoría que explicase cómo el cortex cerebelar podía ser el lugar anatómico donde se produjera el aprendizaje de movimientos diestros y hábiles fue llevada a cabo en primer lugar por David Marr en 1969 en base a datos neuroanatómicos y neurofisiológicos. La principal implicación del modelo cortical propuesto por Marr es que el Cerebelo aprende a ejecutar destrezas motoras y que, cuando eso ocurre, un simple o incompleto mensaje del Cerebro puede provocar su ejecución. Marr habló de dos sistemas, uno que funcionaría para los movimientos aprendidos (acciones) y otro para el aprendizaje del mantenimiento de la postura y del equilibrio.

En el primer sistema, una célula del Núcleo de la Oliva Inferior (O.I) respondería a una orden cerebral respecto de un movimiento determinado, mensaje que llegaría después, mediante las fibras trepadoras, a la célula de Purkinje correspondiente que sería la encargada de dar la orden para la iniciación de ese movimiento. Pero esa célula de Purkinje tendría además información, gracias a las fibras musgosas, del contexto en el que la célula de la Oliva Inferior se ha disparado. Cuando esta asociación se repite, la célula de Purkinje aprende a reconocer ese contexto, de manera que posteriormente la sólo ocurrencia de dicho

contexto, basta para que la célula de Purkinje se dispare.

El segundo sistema entraría en juego cuando el Núcleo de la Oliva Inferior recibiera información no del cerebro sino de receptores de diferentes tipos mediante la vía ascendente o espinal. La actividad de las células de Purkinje tendría entonces como consecuencia, según Marr, la reducción de la excitación que recibe de la Oliva Inferior. Así, el sistema receptor-célula O.I.-célula de Purkinje-efector, formaría un reflejo estabilizante que sería un reflejo condicionado aprendido y que serviría para regular la postura y el equilibrio.

En síntesis, la hipótesis fundamental de la teoría de Marr afirma, por tanto, que si una fibra paralela realiza una sinapsis al mismo tiempo (o con un intervalo de entre 50-100 mseg.) que una fibra trepadora y en la misma célula de Purkinje, entonces la eficacia de la sinapsis aumenta siendo para Marr ésta la única sinapsis cerebelar modificable.

La intervención del Cerebelo en el aprendizaje de habilidades motoras ya había sido propuesta por Brindley en 1964 y, después de la formulación del modelo cortical de Marr, se sucedieron las extensiones y variaciones de esta propuesta básica plasmándose en teorías como la de Albus en 1971 (según él se modificaría también la sinapsis de las células en cesta; con frecuencia se alude al modelo Albus-Marr al hacer referencia a los primeros modelos sobre aprendizaje motor en el Cerebelo), Gilbert en 1974 (propuso que el input noradrenérgico al Cerebelo podría ayudar a la consolidación de la señal motora), Eccles en 1977 (teoría de la selección-instrucción) o Ito en 1982 (demostró la depresión que ocurre en las células de Purkinje tras repetirse la estimulación eléctrica conjunta del Nervio Vestibular y la Oliva Inferior y, por tanto, la existencia en el Cerebelo del fenómeno de la Depresión a Largo Plazo -LTD-).

A pesar del evidente atractivo de estas teorías y a pesar, como se ha dicho, de estar basadas en datos anatómicos y fisiológicos, su comprobación en el laboratorio no ha sido fácil debido principalmente a la dificultad para diferenciar las deficiencias de aprendizaje de las meras incapacidades motoras (Watson, 1978; Lalonde y Botez, 1990; Lalonde, 1994). Sin embargo, varias líneas de investigación están actualmente poniendo de manifiesto la existencia de plasticidad sináptica en el Cerebelo como prueba de la participación del mismo en procesos adquisitivos con independencia del componente motor. Consideraremos ahora algunas de estas investigaciones.



## REFLEJO VESTIBULOOCULAR

Cuando la cabeza de un organismo gira hacia un lado, el reflejo vestibuloocular (VOR) genera unos movimientos compensatorios que son igualmente rápidos y en dirección opuesta al movimiento de la cabeza. En suma, la misión de este reflejo es prevenir la aparición de imágenes borrosas en la retina, asegurando así una buena visión.

Es un reflejo de circuito abierto, es decir, carece de feedback, por lo tanto debe ser susceptible de calibración. Y efectivamente, este reflejo puede modificarse mediante la práctica o, lo que es lo mismo, puede ser aprendido.

De hecho, se ha comprobado en primates que al utilizarse gafas que aumentan dos veces la imagen, se producía un lógico desajuste entre los estímulos visuales y vestibulares, desajuste que desaparecía a los pocos días, ya que la medida del VOR (definida como la velocidad compensatoria del ojo dividida por la velocidad de la cabeza y que en condiciones normales se acerca a 1.0) se incrementaba hasta 1,8 de su primitivo valor. Del mismo modo, si se utilizaban gafas que disminuían la imagen en 1/4, el valor de VOR descendía hasta 0,3 (Lisberger, 1988a). Esta plasticidad requiere la participación del Cerebelo ya que la ablación bilateral del flóculo impide nuevas modificaciones del VOR, así como las aprendidas con anterioridad, aunque no afecta al normal VOR (Lisberger, 1988a, b).

Sin embargo, el lugar exacto donde se produce la modificación sináptica no se conoce con exactitud. Para unos se situaría en las células de Purkinje y se ajustaría a los principios de las teorías de Marr y Albus tal y como defiende, por ejemplo, "la hipótesis floclular" de Ito (ver Ito, 1993b y c). Lisberger, por el contrario, sostiene que esa modificación se produce en el Tronco Cerebral, concretamente en las neuronas dianas del flóculo (FTN) (Lisberger, 1988b).

Para este autor, el papel del flóculo sería el de proporcionar señales que guiaran el proceso de aprendizaje y, puesto que el aprendizaje necesita la convergencia de señales visuales y vestibulares, el flóculo aportaría el componente visual. Esto explicaría que las lesiones del flóculo impedirían el aprendizaje al interrumpir el input visual y ello a pesar de que permaneciera intacto el lugar donde ocurriera el aprendizaje motor.

Lisberger intenta generalizar sus resultados al afirmar que, aunque localizadas en el Núcleo Vestibular del Tronco Cerebral, las FTN forman parte de los Núcleos cerebelares profundos del flóculo, ya que reciben inhibición monosináptica desde las células de Purkinje.

Según él, esto aumenta la posibilidad de que los Núcleos cerebelares profundos sean el lugar del aprendizaje en muchos sistemas motores. Sin embargo, siguen sin resolverse algunas discrepancias entre las propuestas de este autor y la "hipótesis flocular" de Ito (ver Ito, 1993b y c y Lisberger y Sejnowski, 1993).

En adición a estos estudios, han sido propuestos recientemente modelos computacionales encaminados a explicar los procesos fisiológicos que podrían subyacer a los fenómenos de plasticidad en el Cerebelo y, en concreto, a la modificación de VOR (Kawato y Gomi, 1992; Ito, 1993a).

#### MODIFICACIONES CELULARES DURANTE EL APRENDIZAJE MOTOR

Estos estudios han sido relevantes no sólo por detectar cambios neurobiológicos como consecuencia del aprendizaje sino que además han conseguido superar la limitación mencionada anteriormente respecto a la dificultad de diferenciar entre consecuencias motoras o adquisitivas tras manipulaciones en el Cerebelo. Así, registros neurofisiológicos de células de Purkinje del Lóbulo HVI han detectado un incremento en la excitabilidad de las dendritas de estas células específicamente asociado al condicionamiento de la membrana nictitante de conejos (Schreurs et al., 1991).

Asimismo, otra prueba de la implicación del Cerebelo en el aprendizaje motor la proporcionó el hecho de que, tras este tipo de aprendizaje, se produjera sinaptogénesis en el cortex cerebelar, lo que fue puesto de manifiesto por Black et al. (1990) en un estudio en el que sometieron a grupos de ratas a tareas motoras con diferente nivel de exigencia: aprendizaje de nuevas destrezas motoras, ejercicio motor forzado, ejercicio motor voluntario e inactividad. El análisis histológico de los Lóbulos Paramedianos (LPM), regiones asociadas al movimiento de los miembros, reveló que el número de sinapsis por cada célula de Purkinje había aumentado en un 25% solamente en la primera condición aunque no había incremento en la densidad vascular. En el resto de las condiciones no había aumento alguno de sinapsis, siendo su número similar en las tres condiciones. En las condiciones de ejercicio forzado y voluntario hubo un incremento en la densidad de los capilares de LPM probablemente para mantener el incremento metabólico asociado a los altos niveles de actividad neuronal que se daba con la repetición exhaustiva de movimiento. Los resultados ponen de manifiesto, por tanto, que la mera activación repetitiva neuronal o el uso de sinapsis preexistentes, no genera nuevas sinapsis en esta región; solamente cuando existe la necesidad de utilizar movimientos hábiles y bien aprendidos es cuando ocurren las alteraciones en las conexiones sinápticas



(Black et al., 1990).

De igual modo, cambios neurobiológicos en células de Purkinje de los Lóbulos VI y VII del vermis de ratas de edad avanzada consistentes en una pérdida de la función moduladora beta-noradrenérgica, han sido también encontrados y relacionados con la mayor dificultad para tareas de aprendizaje motor observada en estas ratas (Bickford, 1993).

#### CONDICIONAMIENTO CLÁSICO

En este apartado es donde se han obtenido las pruebas más concluyentes de la implicación del Cerebelo en aprendizaje motor, a través, fundamentalmente, del estudio del condicionamiento de la membrana nictitante, un párpado cartilaginoso que poseen algunos animales, entre ellos el conejo.

Hilgard y Marquis utilizaron en 1935 por primera vez el condicionamiento clásico (C.C.) del párpado en perros y monos. En esencia, el paradigma es el mismo que se utiliza para el condicionamiento de la membrana nictitante en conejos, respuesta ampliamente estudiada por Gormezano (Thompson et al, 1987) y que se produce cuando un estímulo incondicionado (E.I.), por ejemplo un soplo o un shock eléctrico periorbital, se asocia con un estímulo condicionado (E.C.), una luz o un sonido, hasta que el E.C. por sí solo elicitaba la respuesta condicionada (R.C.), es decir, el cierre del párpado externo del conejo y el deslizamiento de la membrana nictitante. El intervalo óptimo entre el EC y el EI es de 400 mseg. (Woodruff-Pak et al., 1990). Este modelo ha demostrado ser de gran utilidad para el estudio de la neurobiología del aprendizaje y de la memoria ya que, por una parte, el circuito neural que sustenta esta forma simple de aprendizaje ha sido casi completamente identificado y, además, por el gran paralelismo que existe en el condicionamiento del párpado entre conejos y humanos.

En los últimos diez años se han sucedido las investigaciones encaminadas a delimitar la estructura o estructuras necesarias y suficientes que subyacen a este aprendizaje. Así, Thompson (1984b; 1988) desarrolló la idea de que esta elemental forma de movimiento hábil aprendido podía depender del Cerebelo basándose en dos tipos de observaciones:

1) Se había observado que en el Hipocampo existía un notable paralelismo entre la actividad celular y el desarrollo de CC. Sin embargo, animales con lesiones en el Hipocampo mantenían esta R.C., y lo mismo ocurría en animales descorticados y descerebrados. Los

circuitos esenciales para mantener ese trazo de la memoria debían encontrarse, pues, a niveles más bajos del Tálamo (Woodruff-Pak et al., 1990).

2) Thompson y asociados adoptaron como estrategia general el registrar la actividad neuronal de un conejo entrenado en condicionamiento parpebral como método de muestreo para identificar posibles lugares de almacenamiento de memoria. Estos registros electrofisiológicos pusieron de manifiesto que el condicionamiento de esta respuesta aprendida se reflejaba en la actividad de neuronas situadas en el Hipocampo, en el Cerebelo (cortex y Núcleos Dentado e Interpósito) y en distintos lugares del Tronco Cerebral como el Colículo Superior, Sustancia Gris Central, Núcleos Pontinos, Núcleo Rojo, Núcleo Tegmental Reticular y Oliva Inferior (Thompson et al., 1984a y b; Thompson et al., 1987). Es decir, la actividad neuronal de estas zonas correspondía a los requisitos que se consideraban característicos del trazo de memoria ya que el patrón de descarga neuronal precedía a la respuesta conductual aprendida como mucho en 60 mseg., pero no precedía a la respuesta refleja y, además, crecía en el curso del entrenamiento, es decir, precedía el aprendizaje conductual (Thompson et al., 1984a,b; Woodruff-Pak et al., 1990).

La comprobación, además, de que la estimulación del Núcleo Interpósito del Cerebelo producía el cierre del párpado ipsilateral (McCormick y Thompson, 1984) y de que pequeñas lesiones (1mm) situadas en esa misma zona (Lavond et al., 1985) interrumpían el condicionamiento de la membrana nictitante sin afectar a la respuesta incondicionada y sin impedir el aprendizaje en el lado contralateral del cuerpo, convirtió a esta estructura en la candidata idónea para explicar este aprendizaje y llevó a Thompson a elaborar el circuito anatómico potencial para dicha respuesta (Thompson, 1986; Thompson, 1988) que, en esencia, se ajusta al modelo propuesto por Marr al considerar que el aprendizaje de dicha respuesta se localizaría en neuronas que recibirían activación convergente de fibras musgosas-paralelas activadas por el EC y fibras trepadoras activadas por el EI:

*Vía del E.I.:* La evidencia que proviene de estudios con lesiones y microestimulación sugiere que el camino para el E.I. son las fibras trepadoras. Estas fibras se originarían principalmente en una región del Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.), concretamente en el lado medio de la Oliva principal y dorsalmente en la Oliva accesoria. Estas áreas olivares son activadas por aferencias del Trigémino procedentes de zonas alrededor de los ojos (Glickstein y Yeo, 1990). Las fibras trepadoras, a través del Pedúnculo Cerebelar Inferior llegan hasta la zona HVI del cortex cerebelar (Van Ham y Yeo, 1992); igualmente se han establecido conexiones entre el Núcleo de la Oliva Inferior y los Núcleos Profundos del Cerebelo (Kitai et al., 1977; Courville et al., 1977; Steinmetz y Sengelaub, 1992; Gould et al., 1993).

De esta forma, si se lesiona O.I., se impide la adquisición de la R.C. y se produce la extinción de R.Cs. ya establecidas (McCormick et al., 1985). Además, estimulación eléctrica de esta zona así como del lóbulo HVI del cortex cerebelar sirve como un efectivo E.I. para el aprendizaje normal de R.C. (Swain et al., 1992). Por el contrario, ni la estimulación directa del Núcleo Rojo ni del Núcleo Interpósito sirven como E.I. (Chapman et al., 1988) aunque la intervención del Núcleo Rojo en CC ha sido plenamente probada (Tsukahara, 1984).

*Vía del E.C.:* Thompson sugirió que la transmisión del E.C. correría a cargo de las fibras musgosas que llegan al Cerebelo desde áreas visuales y auditivas de los Núcleos Pontinos. Por ello, la estimulación eléctrica de diversas fuentes de dichas fibras así como del Pedúnculo Cerebelar Medio sirve como un eficaz E.C. para el establecimiento del CC de la membrana nictitante, aprendizaje que se ve interrumpido con la lesión del Núcleo Interpósito (Steinmetz et al., 1986; Lavond et al., 1987). Existe asimismo confirmación anatómica de la relación entre los Núcleos Pontinos origen de fibras musgosas y el Cerebelo (Cortex y Núcleos Profundos) (Shinoda et al., 1992; Steinmetz y Sengelaub, 1992; Gould et al., 1993).

*Vía de la R.C.:* Las fibras con esta información irían desde el Núcleo Interpósito ipsilateral al lado entrenado del cuerpo y, a través del Pedúnculo Cerebelar Superior, llegarían a la división magnocelular contralateral del Núcleo Rojo hasta actuar, por último, en neuronas motoras (Thompson, 1988). Por ello, como hemos dicho, lesiones del área Interpósito-Dentado y también del Núcleo Rojo (Chapman et al., 1988) impiden el condicionamiento de la membrana nictitante, respetando la respuesta incondicionada.

Para Thompson, por tanto, la asociación repetida de una fibra musgosa llevando el E.C. y una fibra trepadora llevando el E.I., llevaría al aprendizaje de la respuesta elicitada al principio tan solo por la estimulación de las fibras trepadoras (Thompson, 1988).

Es decir, de acuerdo a las teorías de Marr, ocurriría un cambio en la eficiencia sináptica de la conexión entre las fibras paralelas y las células de Purkinje (según Albus e Ito, ese cambio consistiría en una disminución de la eficacia sináptica). De manera que presentando el E.C. sólo, se obtendría un nivel de disparo más bajo de la célula de Purkinje y puesto que ésta es inhibitoria, las células de los núcleos que reciben sus impulsos deberían aumentar su actividad con lo que llegaríamos a que un E.C., neutro en principio, elicitará por sí solo un movimiento (Glickstein y Yeo, 1990). Las huellas de memoria se formarían, según estas propuestas, en neuronas que recibieran activación convergente de fibras paralelas-musgosas y trepadoras, las células de Purkinje en el cortex cerebelar y, según Thompson,

las células principales del Núcleo Interpósito (Woodruff-Pak et al., 1990).

Estudios sucesivos parecen apoyar las propuestas de Thompson ya que tanto las lesiones electrolíticas como la administración de ácido Kaínico y de Haloperidol en la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo impiden la adquisición (Sears y Steinmetz, 1990a) y bloquean el condicionamiento sin afectar a la respuesta incondicionada tanto de la membrana nictitante de conejos (Sears y Steinmetz, 1990b; Lavond et al., 1985), como del reflejo parpebral de ratas (Skelton, 1988). Estas lesiones impiden la reaparición de las respuestas condicionadas incluso diez meses después de la lesión y tras un entrenamiento intensivo (Steinmetz, et al., 1992). La integridad del Cerebelo y de sus circuitos asociados también podría ser esencial para la adquisición del condicionamiento parpebral en humanos (Lye et al., 1988; Daum et al., 1993b; Solomon et al., 1989; Topka et al., 1993) así como para otras preparaciones de condicionamiento como el CC de la flexión patelar (Marchetti-Gauthier et al., 1990), la bradicardia aprendida (Supple y Leaton, 1990; Kapp y Supple, 1992; Supple y Kapp, 1993; Supple et al., 1993), o el condicionamiento de tareas de evitación (Schneiderman-Fish et al., 1979).

Sin embargo, y a pesar de todos estos datos, hay todavía cuestiones sin aclarar acerca del papel exacto que ejerce el Cerebelo en aprendizaje. Una de ellas es la relativa a la participación de la corteza cerebelar en el CC de la membrana nictitante debido a las discrepancias de resultados entre el laboratorio inglés de Yeo y colaboradores y el americano de Thompson. Así, lesiones restringidas al lóbulo simplex (lóbulo HVI) realizadas en el laboratorio inglés consiguen eliminar las RCs e impedir su readquisición pero Thompson y col., sin embargo, no consiguen replicar estos mismos resultados (McCormick y Thompson, 1984 y revisiones en Perret et al., 1993; Glickstein, 1992; Hardiman y Yeo, 1992; Lavond et al., 1993 y Thompson y Krupa, 1994).

También han surgido dudas acerca de que el Cerebelo sea, como afirma Thompson, esencial y suficiente para la expresión de este condicionamiento. En ese sentido, se ha comunicado que animales descerebelados son capaces de manifestar en algún grado RCs (Kelly et al., 1990) al igual que pacientes con degeneración cerebelar (Topka et al., 1993) y se ha asegurado incluso que el Núcleo Interpósito del Cerebelo tan sólo intervendría en la manifestación motora de dichas RCs pero no sería el lugar donde se produjera el aprendizaje (Welsh y Harvey, 1991). Otros, por último, creen que el Núcleo Interpósito podría resultar esencial para la adquisición de un aprendizaje asociativo pero no lo sería para la retención del mismo (Marchetti-Gauthier et al., 1990) y que el Cerebelo podría participar en el proceso de consolidación pero no en el almacenamiento de la memoria (Guillaumin et al., 1991;

Bloedel, 1992a y b).

A pesar de estas controversias, realmente son cada vez más numerosas las evidencias que apoyan la consideración del Cerebelo como una "máquina de aprender", tal y como lo definen las teorías ya clásicas (Marr, 1969; Eccles, 1977), y que podría servir para atender todo tipo de control neural, autonómico, motor o mental (verbal o no verbal) (Ito, 1993a).

## HIPOTESIS GENERAL

Esta última posibilidad funcional del Cerebelo probablemente fuera suficiente para justificar por sí sola el estudio de la participación del Cerebelo en el Aprendizaje Interoceptivo. Pero, aún en el caso de que no fuese así, existen numerosas razones que apoyan un esfuerzo en ese sentido. Se han descrito ya diversos estudios confirmando el papel autonómico del Cerebelo apuntado en primer lugar por Moruzzi (Bradley et al., 1987; Supple et al., 1993; Supple y Leaton, 1990), y las relaciones de este centro con el Hipotálamo (Dietrichs y Haines, 1986; Haines y Dietrichs, 1990; Supple, 1993).

En el mismo sentido, se ha aportado el dato conocido desde hace tiempo y que establece que aferencias cerebelares de carácter visceral vagal discurren desde el Núcleo Dentado hasta el Tálamo (Dell y Olson, 1951). Asimismo, datos más actuales confirman que aferencias vagales alcanzan a las células de Purkinje del vermis y de la zona Intermedia (Tong et al., 1991) y que esas aferencias llegan tanto a través de las fibras trepadoras como de las musgosas (Perrin y Crousillat, 1985).

En el Cerebelo se ha confirmado también la existencia de información gustativa ya que células de Purkinje que responden a estimulación eléctrica del Nervio Glossofaríngeo (IX par craneal) cambian su actividad al ser manipulada la sensibilidad gustativa (Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986), sensibilidad que se ve alterada por lesiones del cortex cerebelar (Scalera y Benassi, 1989). De qué modo alcanzan las aferencias gustativas al Cerebelo se desconoce hasta la fecha, aunque se ha sugerido (Brooks, 1986) que podría realizarse a través de una conexión directa que se origina en el NTS y que alcanza a las fibras musgosas (Perrin y Crousillat, 1985).

Por otra parte, el Cerebelo mantiene conexiones recíprocas con NTS y PBN (Supple y Leaton, 1990; Cholley et al., 1989; Perrin y Crousillat, 1985; Paton et al., 1991), áreas cuya implicación en AAG se ha sugerido repetidamente y que hemos visto confirmada en nuestro laboratorio.

Por último, está la convicción de algunos autores de que los núcleos profundos del Cerebelo deben de contar con muchas más aferencias directas desde el tronco cerebral de las conocidas hasta ahora (Dietrichs y Walberg, 1987; Kitai et al., 1977; McCrea et al., 1977) y, de hecho, estudios recientes parecen confirmar esa opinión (Shinoda et al., 1992; Steinmetz y Sengelaub, 1992; Gould et al., 1993). Cabe la posibilidad de que estudios posteriores en esta dirección permitan contar con la evidencia anatómica que apunte al



Cerebelo como zona de convergencia de información gustativa (a través de fibras musgosas quizás) y de información visceral (probablemente a través de aferencias vagales que alcanzaran fibras trepadoras).

Mientras se produce esa confirmación anatómica, pueden realizarse pruebas conductuales que permitan confirmar o no esa idea. Pero, lamentablemente, los estudios en AAG realizados hasta ahora en Cerebelo no han podido demostrar que se trate de un centro esencial para este tipo de aprendizaje. En concreto, Supple et al., (1987), tras lesionar el vermis de ratas, siguieron observando la existencia de un consistente AAG. Estos autores, sin embargo, utilizaron un paradigma de aprendizaje a Largo plazo (30 minutos de dilación), pero ¿qué ocurriría con un paradigma que se ajustase más a los requisitos temporales del CC? ¿Y qué ocurriría si la lesión se realizara en zonas más laterales del Cerebelo, como es la zona Interpósito-Dentado? Y en el supuesto que viesemos confirmada la participación del Cerebelo en AAG, ¿intervendrían de la misma manera en dicho aprendizaje las aferencias y eferencias cerebelares?

Para responder a estas y a otras cuestiones planteadas hasta ahora se llevó a cabo la siguiente Tesis Doctoral.





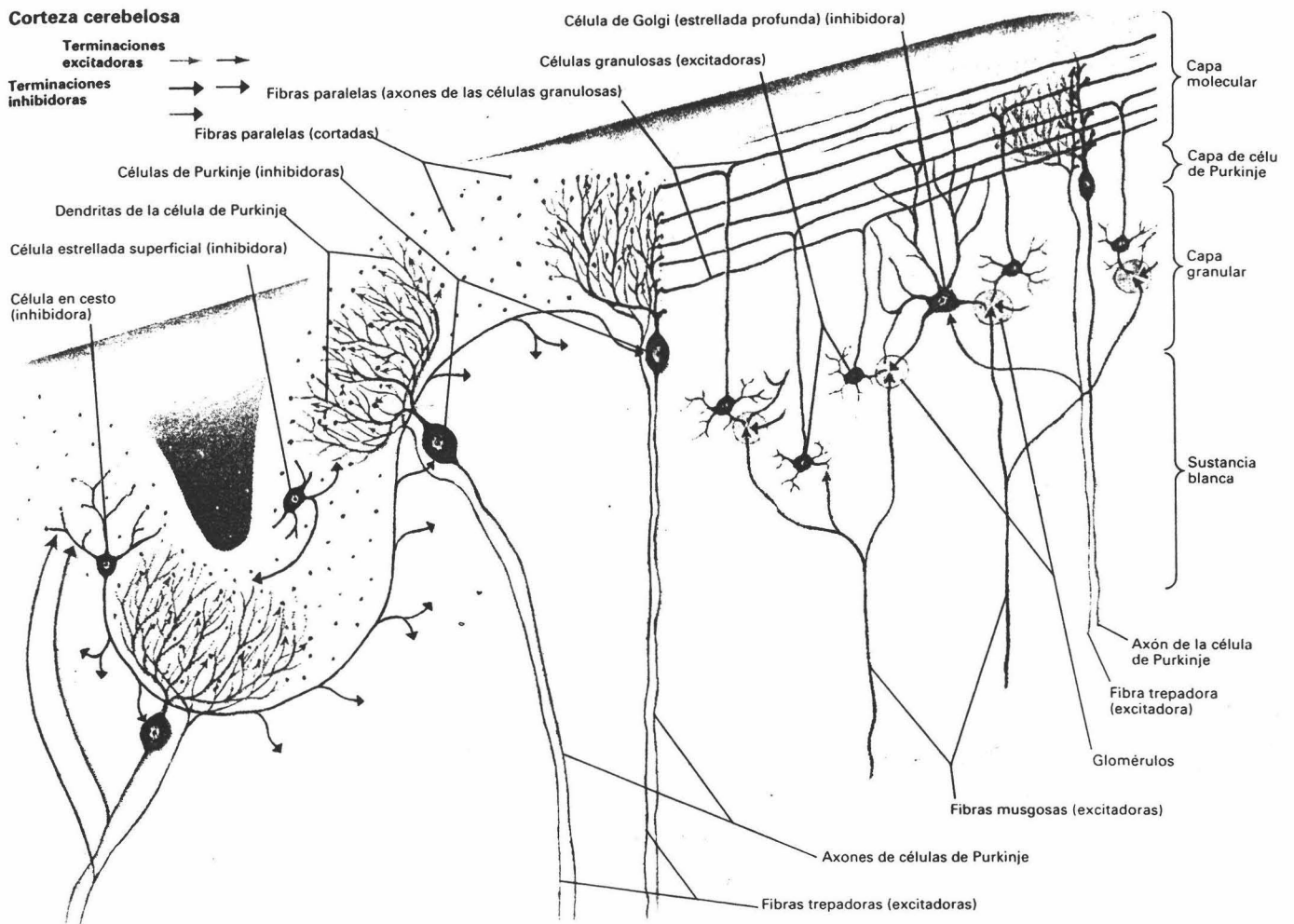
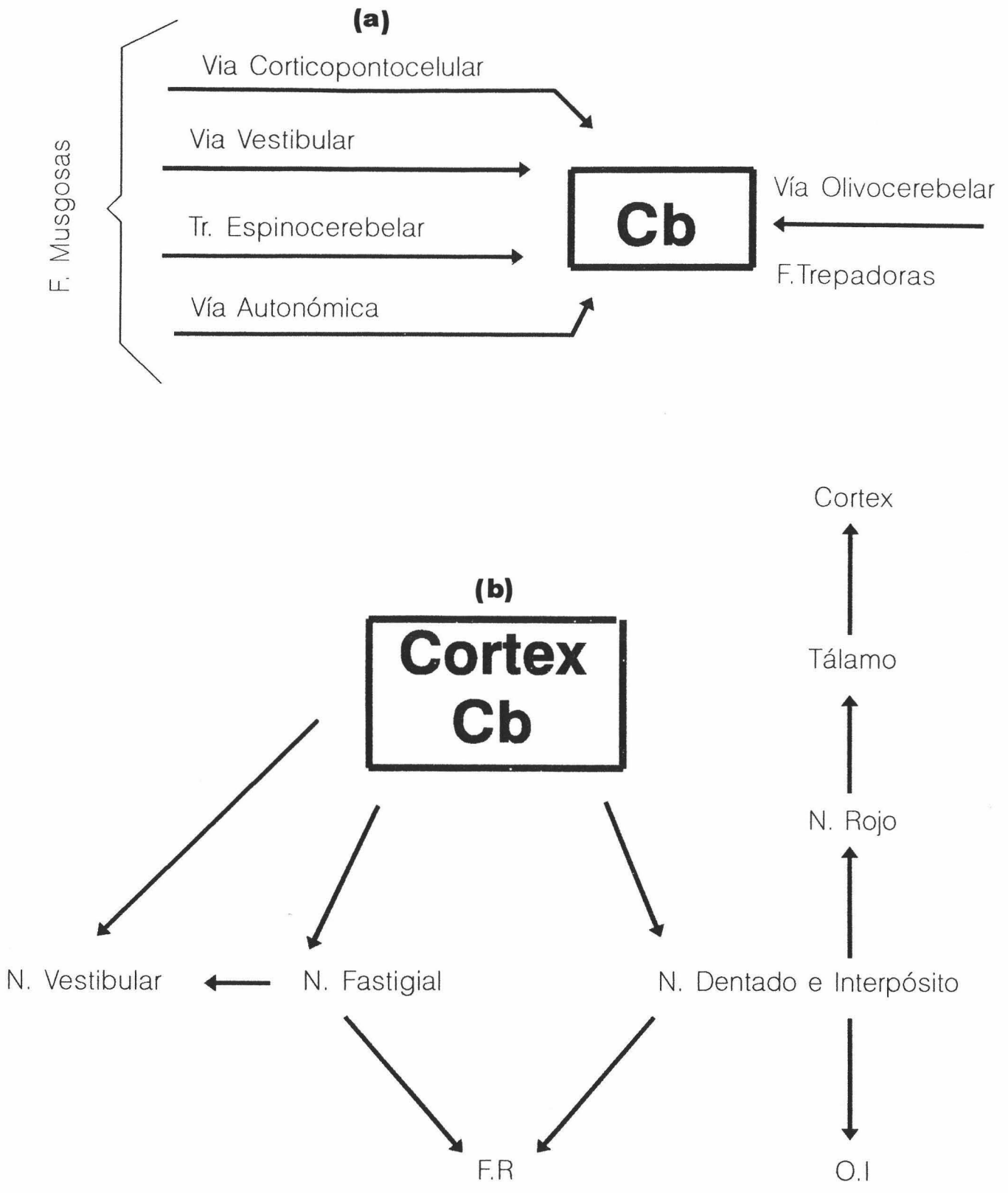


Figura 2.- Capas y circuitos del cortex cerebelar (Netter, 1987)



**Figura 3.-** Conexiones Aferentes (a) y Eferentes (b) del Cerebelo

CAPITULO I. INTERVENCIÓN DE LOS NÚCLEOS PROFUNDOS DEL CEREBELO EN  
EL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO

## EXPERIMENTO 1a

### Aprendizaje Aversivo Gustativo (AAG) a Corto Plazo en Animales con Lesión de la Zona Interpósito-Dentado y en Animales Controles (Lesión Ficticia).

#### Introducción

Según nuestra hipótesis de trabajo, el Cerebelo podría participar en alguna medida en AAG y parece lógico suponer que lo haría en aquella modalidad que comparte características con el CC y ello por dos razones:

- 1) Los trabajos de Thompson, Yeo y otros autores utilizan paradigmas de Condicionamiento Clásico para demostrar la intervención del Cerebelo en aprendizaje motor (Thompson, 1986; Glickstein y Yeo, 1990).
- 2) La existencia, comprobada recientemente como se ha visto, de aferencias al Cerebelo mediadas por el Nervio Vago (Tong et al., 1991; Perrin y Crousillat, 1985), aportan el posible sustrato para que la información visceral alcance rápidamente el Cerebelo.

Estas razones determinan, por tanto, la utilización de un paradigma de AAG a Corto Plazo. En él, la ingestión del estímulo gustativo va acompañada de forma simultánea con la administración del estímulo aversivo (CINa hipertónico). La simultaneidad en la presentación de los estímulos aproxima este paradigma a los requisitos temporales del CC, como ya se dijo.

La utilización de CINa como estímulo aversivo, por su parte, viene respaldada por estudios realizados previamente en nuestro laboratorio (Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Agüero et. al., 1991). Estos estudios indican que este producto cumple todos los requisitos para ser detectado por receptores periféricos situados en la cavidad gástrica. Esos receptores pueden enviar esa información visceral (irritación y malestar gástrico) a estructuras superiores a través del Nervio Vago (Simansky et al., 1982; Jerome y Smith, 1982; Jerome y Smith, 1984; Sakaguchi y Yamazaki, 1986).

En este estudio y mediante el implante de dos catéteres, uno por cada producto (vease procedimiento), se intenta anular la información somatosensorial que el paso de líquido a través de la fístula pudiera proporcionar al animal.

El lugar de lesión elegido se corresponde con la zona Interpósito-Dentado, región que ha sido prioritariamente implicada en el condicionamiento parpebral (Lavond et al., 1985; Thompson, 1988; Skelton, 1988; Sears y Steinmetz, 1990a y b).

## Método

### SUJETOS

Se emplearon 16 ratas macho de la raza Wistar suministradas por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos, al principio del estudio, oscilaban entre 270-340 gr. De estos animales, la mitad correspondería al grupo lesionado (zona Interpósito-Dentado) y la otra mitad formaría el grupo control (lesión ficticia).

Los animales fueron colocados individualmente en jaulas de metacrilato de 15x30x15 cms. Los laterales de estas jaulas eran negros y opacos, mientras que ambos frontales eran transparentes. El suelo consistía en una bandeja blanca, también de metacrilato, cubierta con serrín. Uno de los dos frontales de las jaulas presenta dos orificios de 1.6 cms de diámetro situados a la misma distancia del centro y de los extremos y a igual altura del suelo de la jaula. A través de estos orificios se suministra el estímulo gustativo líquido a los animales mediante boquillas unidas a buretas cilíndricas graduadas.

La temperatura de la habitación se mantuvo entre 21°-24° y con períodos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno. Las luces se encendían de 9 a.m. a 9 p.m. realizándose entonces todas las pruebas experimentales.

Se concedió un período de adaptación de 2-3 días, durante el cual los animales permanecieron en sus jaulas con comida y agua ad libitum hasta el momento de ser intervenidos quirúrgicamente.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

#### *Lesión Electrolítica de la Zona Interpósito-Dentado*

Se efectuó bajo anestesia con pentotal sódico (Tiopental sódico, Lab. Abbot) i.p. a una dosis

de 50 mg/Kg.

Los animales, anestesiados y con la parte superior de la cabeza afeitada, fueron colocados en un aparato estereotáxico (Stoelting Co. Estereotáxico 51.600). Después de practicar una incisión de aproximadamente 16 mm. de largo y de retirar el tejido conjuntivo perióstico adherido al cráneo, se realizaron dos pequeños orificios en la zona correspondiente a las coordenadas anteroposterior y lateral.

Una vez seccionada la duramadre, se procedió a introducir el electrodo hasta un punto determinado por la coordenada vertical. Allí se aplicó, bilateralmente y durante 10 segundos, una corriente continua catódica de 3 mA, suministrada por un generador de lesiones modelo DCML-5 (Grass Instruments Corp., Quincy, Mass, USA).

La corriente se aplicó a través de un electrodo monopolar de, aproximadamente, 200 micras de diámetro, aislado con INSL-X en toda su longitud, a excepción de los 0.5 mm. distales. Cerraba el circuito eléctrico un electrodo masa situado en la periferia del animal.

Las coordenadas estereotáxicas utilizadas para realizar la lesión se basan en el atlas estereotáxico de Paxinos (Paxinos y Watson, 1986) y fueron:

A-P : - 2.2      L :  $\pm$  3.0      V : 4.0

Para la lesión ficticia de los animales controles, se reprodujeron todos los pasos anteriores, pero, en este caso, la coordenada vertical que se usó fue de 5.2 y no hubo paso de corriente a través del electrodo.

Extraído el electrodo del cerebro, se suturó la herida (a excepción de una pequeña abertura), se retiró al animal del marco estereotáxico y se procedió a realizar la correspondiente cirugía periférica tanto para los animales experimentales como para los controles.

#### *Implantación de dos Catéteres Intragástricos*

Una vez realizada la operación a nivel central y con el animal todavía anestesiado (en ocasiones fue necesario administrar adicionalmente éter etílico -Lab. Quimón. Barcelona-), se le afeita el abdomen y, con todo el material quirúrgico esterilizado, se practica a lo largo



de la línea media de la pared abdominal, una incisión de aproximadamente 3 cms de longitud.

Localizado el estómago, se extrae con cuidado fuera de la cavidad abdominal. A través de una pequeña sección (2 mm) en la superficie ventral de la zona del cardias del estómago, se introduce el extremo de una fístula (Silastic. Silastic-Medical Grade Tubing. Dow Corning Corp., Michigan, USA.) que característicamente presenta un pequeño abultamiento realizado con adhesivo quirúrgico (Medical Adhesive Silicone. Type A. Dow Corning Corp. Michigan, USA.). Este ensanchamiento de la fístula tiene por objeto el impedir su desprendimiento del estómago una vez que la incisión se cierra alrededor de ella.

Un segundo catéter es implantado de forma análoga, a través de una incisión contigua a la anterior. Una vez que las dos fístulas han sido firmemente aseguradas dentro del estómago, éste es situado nuevamente en el interior de la cavidad abdominal en la posición original.

Durante todo el tiempo de la intervención quirúrgica y mientras el estómago permanece fuera de la cavidad abdominal, se le mantiene constantemente irrigado con Suero Fisiológico Isotónico (Apiroserum. Lab. YBIS, Madrid).

Posteriormente, y a través de una pequeña abertura dorsal (inmediatamente debajo de la cabeza), se realizan dos túneles subcutáneos (uno a cada lado del animal) por el que se exteriorizan los extremos libres de las fístulas, alrededor de los cuales se crea un nuevo abultamiento de adhesivo quirúrgico, dándose posteriormente los puntos de sutura necesarios para permitir cerrar la herida. Finalmente, las paredes abdominales se cierran mediante una serie de puntos de sutura.

Para evitar posibles infecciones, tanto los animales experimentales como los controles, reciben una dosis intramuscular de 0.1 de una solución de penicilina (Penilevel retard. Lab. Level, S.A. Barcelona) a la concentración de 250.000 U.I./ml.

*Período de recuperación:* Concluido el proceso quirúrgico, los animales son devueltos a sus jaulas, con comida y agua ad libitum, concediéndoseles un período de recuperación de 7-10 días.

*Período de preentrenamiento:* Una vez concluido el período anterior, se les retira el agua, de manera que, a partir de entonces, tan sólo se les permite el acceso a ella durante

## N. INTERPOSITO

períodos de 7 minutos cada día. Durante este tiempo, el agua se les presenta mediante dos buretas simultáneamente, pudiendo beber libremente de cualquiera de ellas. Pasados los 7 minutos, las buretas son retiradas y aproximadamente 30 minutos después reciben 15 grs. de alimento sólido (Alimento de Laboratorio. Dietas Panlab. Panlab S.L. Barcelona). Este período se considera concluido cuando los animales aprenden a alternar y beben indistintamente de una y de otra bureta (3 días).

Tanto en este período como en el proceso experimental, se utiliza ruido blanco de fondo que amortiguará posibles ruidos fortuitos. Además, 30 minutos antes de ofrecerles la posibilidad de tomar agua y para evitar posibles obstrucciones, se les limpiaba diariamente los catéteres con agua (0.5 cc. aproximadamente) a temperatura ambiente.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

A los animales se les ofrece durante 7 minutos, dos buretas conteniendo cada una un estímulo gustativo distinto, Fresa (F) y Coco (C) (McCormick Co. INC. San Francisco. California. USA; a una concentración de 0.5 cc. por cada 100 cc. de agua). Ambos sabores son equivalentes para el animal en cuanto a preferencia inicial, novedad, y ausencia de propiedades nutritivas.

La ingestión de uno u otro de estos estímulos gustativos iba asociada a la administración intragástrica simultánea (mediante las fístulas implantadas) de uno u otro de los dos productos: ClNa hipertónico (5%. 0.85 M) y Suero Fisiológico Isotónico (SFI), balanceándolos de manera que la mitad de los animales (tanto en el grupo experimental como en el control) recibía la sustancia aversiva (ClNa hipertónico) al mismo tiempo que bebía uno de los estímulos gustativos y la neutra (SFI) simultáneamente a la ingestión del otro estímulo. La asociación se hacía al revés con el resto de los animales (Ver diagrama I).

La tasa de administración de ambos productos era de 0.5 cc. por 1 cc. de líquido ingerido y se realizaba a través de dos conectores de plástico con longitud suficiente para permitir la libertad de movimientos del animal.

En este paradigma de AAG a Corto Plazo, se considera a cada sesión experimental como una prueba de discriminación en sí misma, ya que el animal tiene que detectar de forma inmediata, cuál de los dos estímulos gustativos está asociado con el producto aversivo que le provoca la estimulación gastrointestinal.

Finalizados los 7 minutos correspondientes, se retiraban las buretas y se registraban las cantidades consumidas de cada estímulo gustativo. Se considera que los animales tienden a aprender si consumen significativamente menos del estímulo asociado con el CINa. Por el contrario, no habría aprendizaje si los animales bebían más del sabor asociado con el producto aversivo, o bebían cantidades iguales de ambos estímulos.

## Resultados

Los resultados se resumen en la gráfica 1. Tanto los datos del Grupo Experimental (Gráfica 2) como los del Grupo Control (Gráfica 3) se analizaron mediante ANOVA (Droga x Días). En el Grupo Experimental ni el efecto Droga  $F(1,7) = 4.77, p > 0.05$ , ni el efecto Días  $F(4,28) = 1.02, p > 0.05$  ni la interacción Droga x Días  $F(4,28) = 2.49, p > 0.05$  fueron significativos.

Por el contrario, el Grupo Control aprende correctamente la tarea discriminativa ya que la interacción Droga x Días resultó plenamente significativa  $F(4,28) = 3.56, p < 0.02$ .

## Discusión

Los resultados obtenidos en este experimento indican que la lesión de la región Interpósito-Dentado del Cerebelo en ratas interrumpe un Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo, caracterizado por la rapidez con que el animal debe procesar la información gustativa y visceral a fin de discriminar entre los estímulos negativos y los inocuos. Un aprendizaje que, por otra parte y a pesar de lo estricto de las demandas temporales, es plenamente logrado por el grupo control con falsa lesión. De hecho, y como puede comprobarse a través de las gráficas 1, 2 y 3, las preferencias de los grupos lesionado y control están invertidas.

Ya se ha demostrado previamente en nuestro laboratorio que este aprendizaje se basa en la detección interoceptiva visceral (vagal) del producto aversivo y no en otro tipo de índices somatosensoriales como pueden ser el paso del líquido por el catéter, la distensión gástrica, etc. (Arnedo et al., 1990). Pero el hecho de utilizar aquí dos fístulas elimina la posibilidad de que los animales utilicen ese otro tipo de señales exteroceptivas para establecer el aprendizaje. De esta manera, pues, se consigue igualar todas las condiciones, a excepción del producto que se administra, que en un caso (CINa) es aversivo para el organismo y en otro (SFI) es inocuo.

## N. INTERPOSITO

Nuestros resultados son, pues, parecidos a los obtenidos en otras modalidades de aprendizajes análogos. En efecto, lesiones bilaterales de la zona Interpósito-Dentado han resultado suficientes para interrumpir un CC previamente establecido en el párpado o en la membrana nictitante (Lavond et al., 1985; Thompson, 1988; Skelton, 1988; Steinmetz et al., 1992; Steinmetz et al., 1992; Ivkovich et al., 1993).

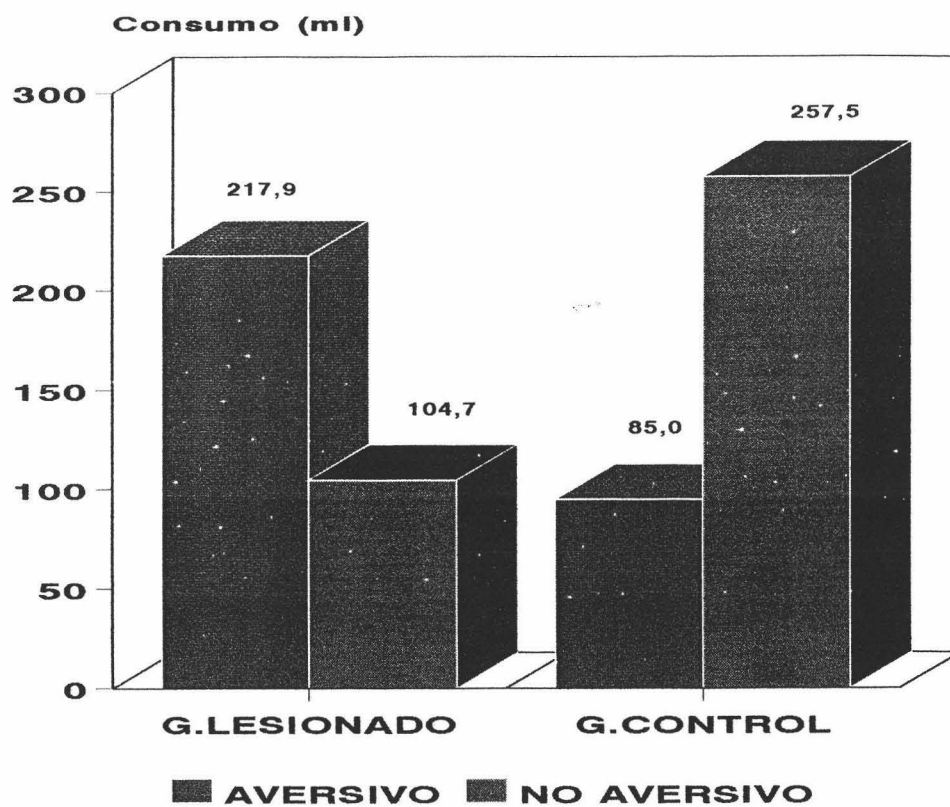
Hay que resaltar, sin embargo, que estudios en AAG similares al nuestro no se han llevado a cabo hasta la fecha en el Cerebelo por lo que es imposible comparar resultados. A pesar de ello, creemos que la lesión ha interrumpido específicamente esta modalidad de aprendizaje. Inicialmente, y a través de la observación de la actividad animal normal, se podría concluir que esta interrupción no parece ser consecuencia de una incapacidad motora o de otro tipo producida por la lesión, como tampoco parece serlo en el caso del aprendizaje de otros procesos adquisitivos estudiados con anterioridad (Thompson, 1988; Skelton et al., 1988; Glickstein y Yeo, 1990). Igualmente y a través del hecho de que las cantidades totales de líquido consumidas por ambos grupos (Lesionado y Control) (Gráfica 1) sean muy similares, se podría descartar, en principio, un malestar generalizado en los animales experimentales como resultado de la lesión. En cualquier caso, esta problemática ha sido analizada adicionalmente a través del siguiente experimento.

**Sujetos**

1 - 4		5 - 8	
Fi	Cd	Fi	Cd
CINa	SF	SF	CINa

**Diagrama I.-** Esquema del procedimiento seguido en el paradigma de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo, con la administración simultánea de CINa y Suero Fisiológico (SF).  
Fi = Fresa a la izquierda; Cd = Coco a la derecha.

## N. INTERPOSITO

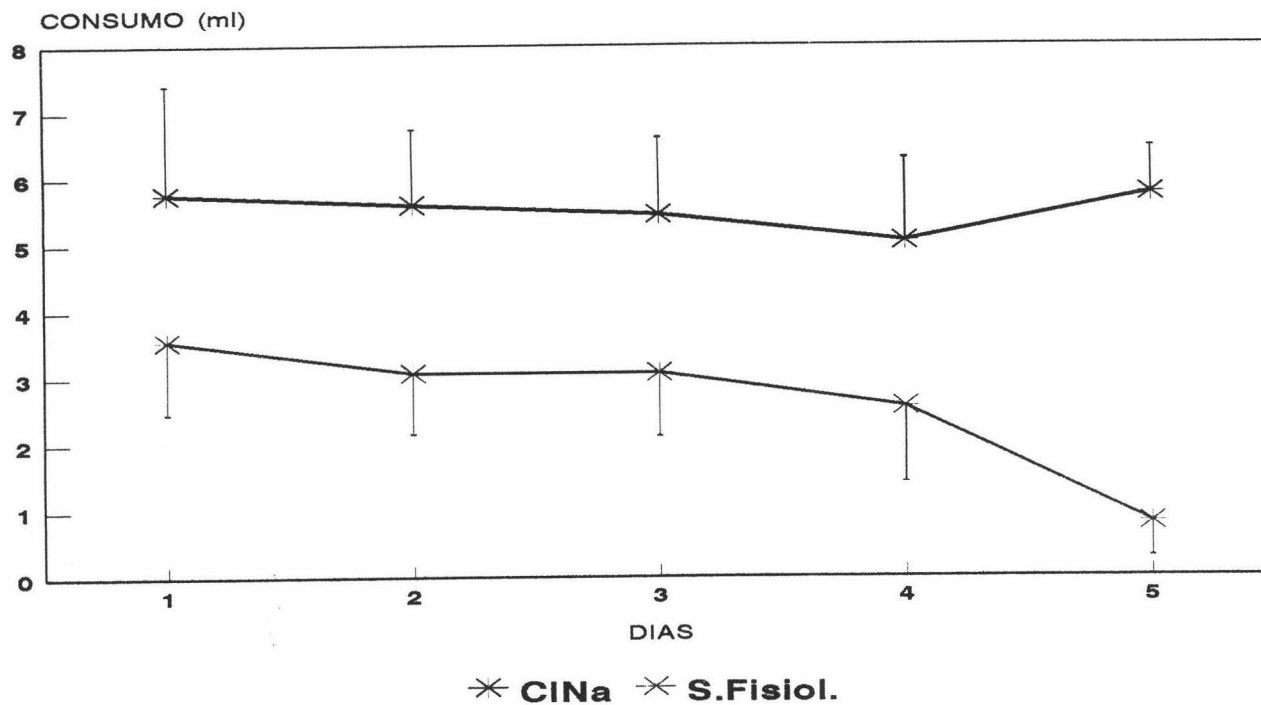


**Gráfica 1.-** Cantidades totales consumidas por ambos grupos (Lesionado y Control) de los estímulos gustativos asociados a ClNa (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en el Experimento 1a.



## N. INTERPOSITO

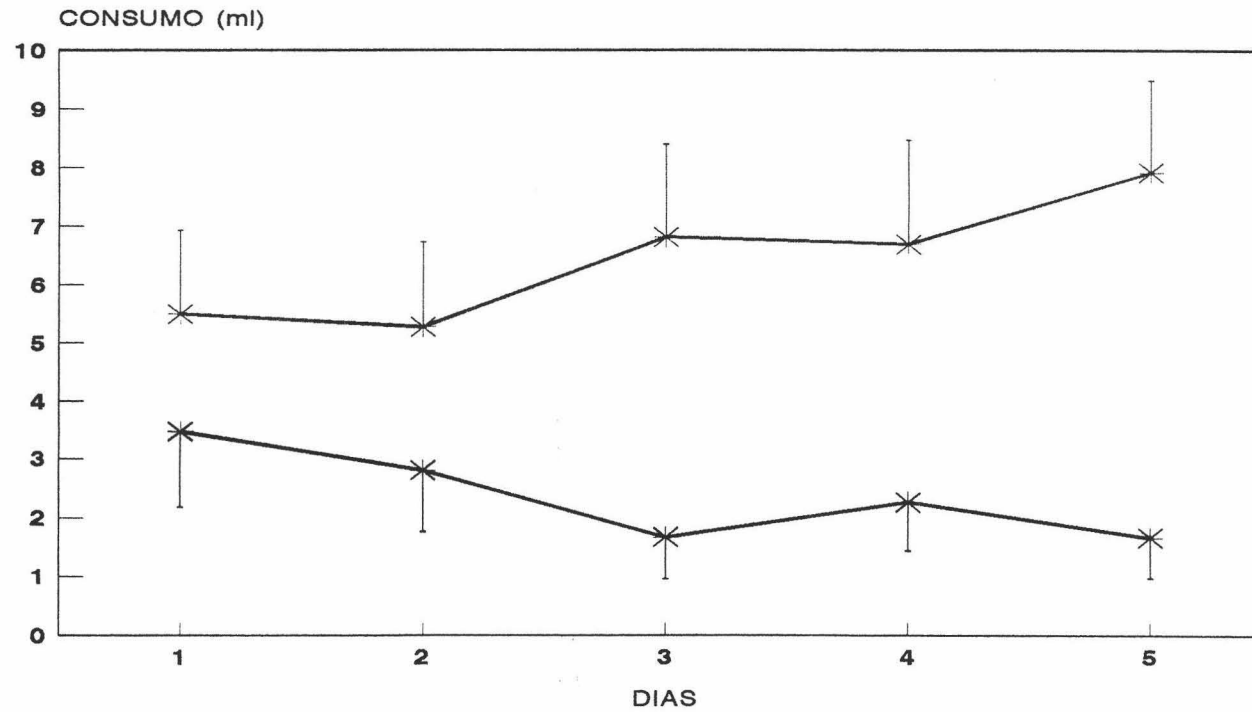
### G. LESIONADO



Gráfica 2.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas por el grupo Lesionado en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 1a.

# N. INTERPOSITO

## G. CONTROL



\* CNa \* S.Fisiol.

Gráfica 3.- Cantidades medias consumidas por el grupo Control en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 1a.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	46.0	28.4	44.8	24.6	43.6	24.6	40.2	20.5	46.0	6.6
$\bar{x}$	5.7	3.5	5.6	3.0	5.4	3.0	5.0	2.5	5.7	0.8
S.D.	4.6	3.0	3.2	2.5	3.3	2.6	3.5	3.2	1.9	1.5

**Tabla I.-** Cantidades (ml) correspondientes a la ingesta del Grupo Lesionado en una tarea de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo con administración de CINa y de Suero Fisiológico (SF).

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	27.8	43.9	22.4	42.2	13.4	54.5	18.1	53.4	13.3	63.4
$\bar{x}$	3.4	5.4	2.8	5.2	1.6	6.8	2.2	6.6	1.6	7.9
S.D.	3.6	4.0	2.9	4.1	2.0	4.5	2.3	5.0	1.9	4.4

**Tabla II.-** Cantidades (ml) correspondientes a la ingesta del Grupo Control en una tarea de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo con administración de CINa y de Suero Fisiológico (SF).

## EXPERIMENTO 1b

### Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo en Animales con Lesión de la Zona Interpósito-Dentado y en Animales Controles con Falsa Lesión.

#### Introducción

El Cerebelo es una estructura implicada en el comportamiento motor y éste puede verse afectado por las diversas lesiones cerebelares (Brooks, 1986). A pesar de ello, los estudios sobre aprendizaje realizados tras lesiones de la zona Interpósito-Dentado no suelen hacer referencia (ver Thompson et al, 1984b) a la existencia o no de déficits motores. Esta ausencia de referencias podría significar que, o bien tales déficits no existen, o que simplemente no son relevantes para estudiar el reflejo parpebral, el ritmo cardíaco o el reflejo vestibuloocular que son algunas de las respuestas que se han venido examinando.

En esta serie experimental la dificultad se ve aumentada por el hecho de que existen pocos estudios realizados con ratas. En efecto, la única referencia encontrada sobre este tema, afirma que tras la lesión de los núcleos cerebelares se observan déficits pasajeros en movimiento y postura. Estos déficits, sin embargo, son menos evidentes con el paso del tiempo y habrían desaparecido posteriormente (Schneiderman-Fish, et al., 1979). La misma recuperación se observa tras lesiones del vermis: la ataxia y el temblor que estas lesiones provocan desaparecen tres semanas después de la operación (Supple et al., 1987). Pero, en cualquier caso, sería conveniente demostrar que los resultados del Experimento 1a no son debidos a incapacidad motora o de otro tipo producida por la lesión electrolítica.

El hecho de que se hayan identificado dos posibles sistemas anatómicos diferentes como sustrato del Aprendizaje Interoceptivo, uno de los cuales utilizaría el Nervio Vago y PBN(m) (Arnedo et al., 1990; Agüero et al., 1991b) mientras que la otra vía implicaría al AP y PBN(l) (Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Agüero et al., 1991b), permite la posibilidad de interrumpir una u otra modalidad de aprendizaje dependiendo de las condiciones experimentales y la estructura nerviosa lesionada (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1990; Agüero et al., 1991b). Este hecho permite asimismo descartar cualquier interpretación de los resultados en función de una mayor dificultad en un paradigma u otro (Arnedo et al., 1990; Agüero et al., 1991b; Arnedo et al., 1993).

De acuerdo con estas premisas, el objetivo del presente experimento sería el

## N. INTERPOSITO

comprobar una vez más, ahora en el Cerebelo, si la interrupción del aprendizaje es específica a una sola de las modalidades, (aquella cuyos requisitos la aproximan a las características de CC), o si, por el contrario, es inespecífica para ambas modalidades incapacitando a los sujetos experimentales para todo tipo de proceso adquisitivo. Para ello, en la primera parte de este experimento, los animales han de aprender una tarea característica de AI a Largo Plazo (Ver procedimiento). Posteriormente y en la segunda prueba, los sujetos deben discriminar entre los dos estímulos gustativos con las posiciones invertidas. Esta segunda prueba supone una dificultad añadida para los programas motores que los animales han debido establecer durante el proceso de aprendizaje previo.

Dado que los animales utilizados en este experimento (con el fin de no introducir ninguna diferencia quirúrgica) son los mismos del estudio anterior, se emplean otros estímulos gustativos y aversivos. En concreto, el estímulo nocivo utilizado ahora es el CILi, producto frecuentemente utilizado para el establecimiento de AAG en ratas, animal en el que están perfectamente establecidos tanto el modo de administración como las consecuencias fisiológicas y conductuales del producto (Nachman y Ashe, 1973; Bernstein et al., 1992).

## Método

### SUJETOS

Los animales que se utilizaron en este experimento fueron los mismos del anterior, tanto en el grupo experimental como en el control, después de un período de 48 horas con comida y agua ad libitum.

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Pasado este período, se les retiró nuevamente el agua y 24 horas después se inició la primera sesión experimental (Ver diagrama II) en la modalidad de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo.

*Primera sesión (Día 1):* Consistía en la presentación a cada animal durante 7 minutos de una bureta, situada en el orificio de la izquierda, que contenía un nuevo estímulo gustativo, Vainilla (V) (McCormick Co. INC. San Francisco. California. USA; 0.5/100 ml). Concluido el tiempo, la bureta se retiraba y se anotaba la cantidad consumida.



## N. INTERPOSITO

Quince minutos más tarde de que la bureta hubiese sido retirada, la mitad de los animales recibía la administración intragástrica de 5 cc. de CILi (6.35 gr/l, 0.15 M, Gruppo Montedison. Carlo Erba, Milán). Del mismo modo, a la otra mitad de los sujetos se les inyecta también 5 cc. pero esta vez de SFI. Aproximadamente treinta minutos después, se les proporcionaba 15 gr. de comida sólida.

*Segunda sesión (Día 2):* En el orificio de la derecha se presentaba durante 7 minutos una bureta que contenía Limón (L), (McCormick Co. INC. San Francisco. California. USA; 0.5/100 ml). sabor asimismo igualado en cuanto a su preferencia con la Vainilla.

Quince minutos después de finalizar la toma del líquido, se inyectaban los mismos productos que en la sesión anterior pero de manera invertida, es decir, los animales que tras la ingestión de Vainilla se les inyectó CILi, ahora reciben SFI y al revés.

La tercera sesión (Día 3) fue exactamente similar a la primera y la cuarta (Día 4) lo fue a la segunda.

*Sesión de prueba (TEST 1):* Al quinto día se le presentaron a cada animal las dos buretas (V y L) simultáneamente y en la misma posición que habían tenido en las sesiones anteriores. Pasados los 7 minutos correspondientes, se registraron las cantidades consumidas de cada estímulo gustativo y 30 minutos más tarde se suministró 15 gr. de comida sólida. En esta sesión no hubo, por lo tanto, administración intragástrica de sustancia alguna.

*Prueba de Inversión (TEST 2):* Seis horas después de concluida la prueba anterior, los animales volvieron a tener acceso a las dos buretas, pero esta vez se les presentaron en una posición invertida a la habitual, es decir, V estaba en el orificio de la derecha y L en el de la izquierda.

## Resultados

Los resultados (Gráfica 4) se analizaron mediante una ANOVA (Condición aversiva vs no aversiva), siendo significativos tanto los resultados del Grupo Experimental  $F(1,7) = 6.89$ ,  $p < 0.04$ , como los del grupo Control  $F(1,7) = 325.0$ ,  $p < 0.0001$ . El aprendizaje se confirma plenamente en la prueba de Inversión en la que el 100% de los animales en ambos grupos

consumen mayores cantidades del estímulo asociado a SFI que del estímulo asociado a CILi (Grupo Experimental  $F(1,7) = 48.6, p < 0.001$ ; Grupo Control  $F(1,7) = 452.9, p < 0.0001$ ).

### Histología

Concluidas las experiencias anteriores, todos los animales son sacrificados con una sobredosis de pentotal sódico y perfundidos intracardialmente con 10 ml de suero salino isotónico seguido por formaldehído al 10%. Extraídos los cerebros, se introducen en formaldehído para su posterior laminación y examen microscópico. Las fotografías de los cortes histológicos (Figura 4) se realizaron mediante una cámara fotográfica Olympus, PM-6 (Tokio, Japón). Las lesiones en todos los casos incluían tanto al Núcleo Interpósito como al Dentado afectando a veces también al cortex situado dorsalmente a estas zonas. La magnitud de las lesiones electrolíticas no permiten, por tanto, delimitar el lugar crítico. Estas observaciones coinciden con las de Skelton (1988) lo que resulta lógico ya que en ambos estudios se han utilizados parámetros idénticos de lesión.

### Discusión

Los resultados obtenidos demuestran que los animales pertenecientes al grupo lesionado y al grupo control aprenden claramente la asociación entre estímulos gusto/olfativos y el malestar visceral provocado por la administración de CILi. En otras palabras, los animales con lesiones en la región Interpósito-Dentado se encuentran totalmente capacitados para establecer AAG según un paradigma standard, es decir, con dilación (15 minutos) entre estímulos y utilizando CILi como agente nocivo.

Estos resultados concuerdan con los de Supple et al. (1987) quienes afirmaban que lesiones cerebelares no interrumpen AAG, y así parece ser tanto en el caso de las lesiones vermales realizadas en su estudio, como con lesiones de la zona Interpósito-Dentado llevadas a cabo en este experimento.

Sin embargo, estas conclusiones no excluyen al Cerebelo de participar en otras modalidades de AI tal y como se comprobó en el experimento anterior. Las características del paradigma parecen ser determinantes en este sentido, de modo análogo a lo que sucede con otras estructuras examinadas en nuestro laboratorio, por ejemplo, el Complejo Parabraquial (Agüero, 1990).

Las dificultades para aprender la tarea a Corto Plazo no parecen deberse a una incapacidad sensorial puesto que en la prueba de Inversión se demuestra que el aprendizaje se realiza de acuerdo a la información gustativa y no en función de señales exteroceptivas o propioceptivas como son la posición de los estímulos gusto/olfatorios. De hecho, existen pruebas que demuestran que tanto las señales contextuales como la información olfativa no son utilizables en condiciones similares a las aquí utilizadas, es decir, número de ensayos o la demora entre estos estímulos y los visceros-nocivos (Panhuber, 1982; García, 1989; Bermudez-Rattoni et al., 1989)

Además, esta Prueba de Inversión habla en favor de la permanencia en los animales lesionados de una flexibilidad motora que permite a los sujetos experimentales cambiar los patrones motores que habían mantenido en la prueba anterior a la inversión y que habían desarrollado durante el proceso de adquisición.

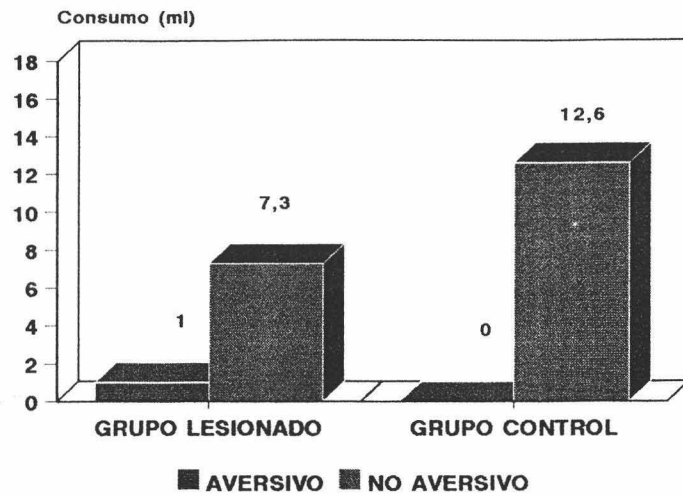
En fin, estos resultados sugieren que ambos grupos retienen capacidades para aprender y probablemente permiten reducir el déficit de los animales experimentales a una tarea específica como es el paradigma de aprendizaje a Corto Plazo. En nuestro caso, la lesión de la región Interpósito-Dentado no parece producir graves desórdenes motores o sensoriales. Por el contrario, y según los datos obtenidos, parece que el único proceso afectado sería la necesaria asociación que han de establecer los animales a fin de atribuir su malestar interno a uno u otro de los estímulos gustativos, algo que había pasado inadvertido hasta ahora en los estudios de Aprendizaje Aversivo Gustativo.

Sesiones	Sujetos	Estímulos Gust.	
	1 - 4	5 - 8	
Día 1	CILi	SF	Vainilla izquierda
Día 2	SF	CILi	Limón derecha
Día 3	CILi	SF	Vainilla izquierda
Día 4	SF	CILi	Limón derecha
Día 5 Test 1	Vainilla / Limón Izquierda / Derecha		
Día 5 Test 2	Limón / Vainilla Izquierda / Derecha		

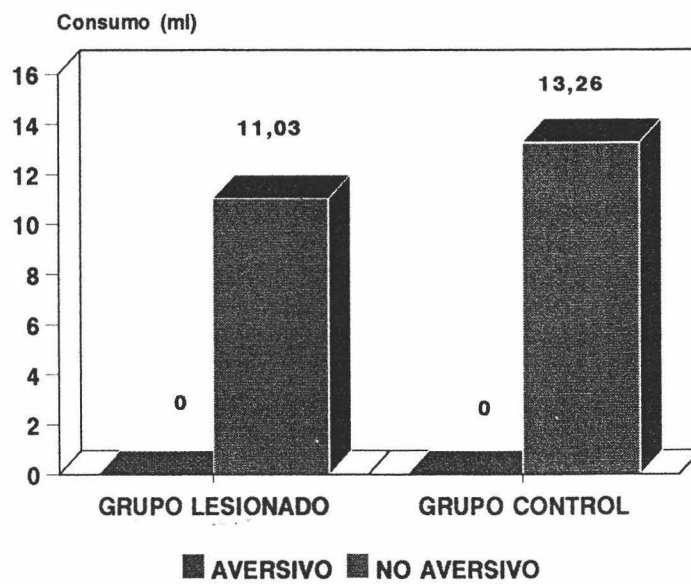
**Diagrama II.-** Esquema del procedimiento seguido en la prueba de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo, con administración de CILi y Suero Fisiológico.

# N. INTERPOSITO

## TEST 1



## TEST 2



Gráfica 4.- Cantidades medias ingeridas por ambos grupos, Lesionado y Control, en el Test 1 y en el Test 2 del Experimento 1b.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	8.5	59.1
$\bar{x}$	1.0	7.3
S.D.	3.0	4.4

Tabla III.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Lesionado en el Test 1.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	88.3
$\bar{x}$	0.0	11.0
S.D.	0.0	4.4

Tabla IV.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Lesionado en el Test 2.



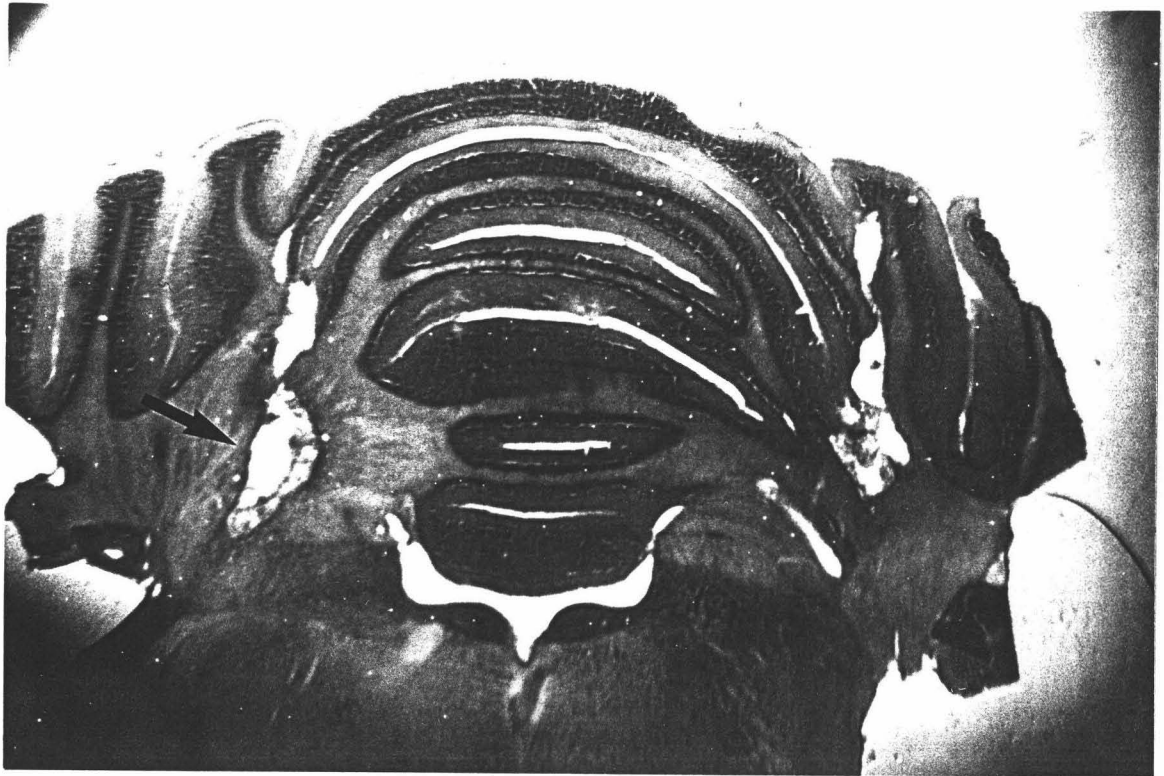
	CiLi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	101.4
$\bar{x}$	0.0	12.6
S.D.	0.0	1.9

Tabla V.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Control en el Test 1.

	CiLi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	106.1
$\bar{x}$	0.0	13.2
S.D.	0.0	1.7

Tabla VI.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Control en el Test 2.





**Figura 4.**- Sección transversal del Cerebelo donde se aprecian las lesiones electrolíticas de la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo.

## EXPERIMENTO 1c

### Características del AAG a Corto Plazo en Animales Intactos.

#### Introducción

Como se ha venido repitiendo a lo largo de la justificación teórica de esta Tesis, el Aprendizaje Interoceptivo puede ser establecido en el laboratorio siguiendo dos procedimientos experimentales distintos. Uno de ellos, denominado AAG a Largo Plazo o demorado, se caracteriza por su flexibilidad, puede establecerse tras una única presentación del estímulo aversivo y cuando entre la presentación del estímulo gustativo y del visceral transcurre un amplio período de tiempo. El AAG a Largo Plazo ha sido establecido en nuestro laboratorio utilizando distintos estímulos aversivos y tanto en animales intactos (Arnedo et al., 1990; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991; Agüero et al., 1993a y b; Grupo Control del Experimento 1), como vagotomizados (Martin et al., 1978; Arnedo et al., 1993; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991), y con lesiones electrolíticas de los Núcleos Profundos del Cerebelo (Grupo Experimental del Experimento 1b). Por el contrario, este AAG a Largo Plazo no se observa tras lesiones del Area Postrema (Gallo et al., 1986; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991; Ritter et al., 1980; Coil y Norgren, 1981; Bernstein et al., 1992) o del Núcleo Parabraquial Lateral (Agüero et al., 1993a y b).

Con respecto al otro procedimiento de AAG, denominado a Corto Plazo o simultáneo, se establece presentando simultáneamente el estímulo nocivo y el gustativo y habitualmente requiere de varios ensayos para poder ser desarrollado. Este paradigma de AAG puede establecerse asimismo en animales intactos (Arnedo et al., 1990; Grupo Control del Experimento 1a) y en animales lesionados en el Area Postrema (Arnedo et al., 1990) y en el Núcleo Parabraquial Lateral (Agüero et al., d, submitted). Por otro lado, la asociación requerida en este procedimiento de AAG es impedida tras vagotomías a distintos niveles (Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993) y tras lesiones electrolíticas del Núcleo Parabraquial Medial (Agüero et al., submitted) y de los Núcleos Profundos del Cerebelo (Grupo Experimental del Experimento 1).

De lo anterior se desprende que el AAG a Largo Plazo y el AAG a Corto Plazo cuentan con un sustrato anatómico distinto, lo que supone una prueba añadida de que ambos procedimientos representan dos procesos adquisitivos distintos, es decir, serían dos formas distintas de aprender.

La creencia de que la memoria no es un sistema único y que habría diversas formas de aprendizaje es hoy ampliamente aceptada por la mayoría de los autores y tendencias psicológicas (Nadel, 1992). Esta idea comenzó a tener entidad a partir de los trabajos pioneros de B. Milner con el paciente amnésico H.M. (Milner, 1962 y 1970). Después, la constatación de la existencia de memorias preservadas en todos los pacientes amnésicos llevó al reconocimiento de que habría múltiples formas de memoria y ha desencadenado en la última década un importante cuerpo de datos y teorías tratando de definir y describir las diversas clases de memorias. En concreto, se habla de Memoria Declarativa (también llamada explícita o relacional) y de Memoria No Declarativa (implícita) (ver Squire y Butters, 1984; Squire, 1987; Squire, 1992a y b; Squire et al., 1993). La Memoria Declarativa es la habilidad para almacenar información explícitamente de manera que resulte posteriormente accesible de una forma consciente (Squire y Zola-Morgan, 1988). Esta capacidad se encuentra ausente en los amnésicos y dependería de estructuras situadas en el Lóbulo Temporal Medial y en zonas diencefálicas como el Tálamo Medial (Stuss et al., 1988; Squire y Zola-Morgan, 1991; Squire et al., 1993; Zola-Morgan et al., 1992; Zola-Morgan et al., 1993). La Memoria No Declarativa, por su parte, incluye habilidades en las que la información está disponible a través de la ejecución misma y es adquirida como cambios conductuales independientemente de la memoria de la experiencia misma de aprendizaje; anatómicamente dependería de diferentes sistemas cerebrales (Squire, 1992b).

Aunque esta disociación tuvo su origen en pacientes amnésicos como ya se ha dicho, la existencia de estos dos tipos de memoria ha podido ser igualmente comprobada en sujetos normales y en otras especies animales como la rata o los primates (Squire, 1992b; Eichenbaum, 1992). Todo ello ha contribuido a delimitar las características tanto de la Memoria Declarativa (consciente, flexible, un único ensayo) como de la No Declarativa (no necesariamente consciente, inflexible, acumulativa) (Squire, 1992b) y son esas características las que permiten hipotetizar que el AAG a Largo Plazo podría encuadrarse dentro de la Memoria Declarativa o Explícita mientras que el AAG a Corto Plazo podría asimilarse a la Memoria No Declarativa o Implícita.

En este sentido, se ha comprobado que cuando un grupo de animales no lesionados consigue establecer un AAG a Largo Plazo, ese aprendizaje se mantiene aunque se modifiquen parcialmente las condiciones experimentales, por ejemplo, invirtiendo la posición de los estímulos gustativos (Experimento 1b). Este hecho es consecuente con la flexibilidad inherente a este tipo de aprendizaje como se dijo más arriba. Ahora este experimento pretende examinar el comportamiento de los animales no lesionados en una tarea de inversión, una vez que el proceso de adquisición a Corto Plazo se ha producido. Sobre todo

## N. INTERPOSITO

porque en un paradigma como este, conforme se van sucediendo las sesiones de aprendizaje, los animales acaban bebiendo preferentemente de un sólo estímulo gustativo lo que puede llevar a pensar si, en realidad, no se estará sometiendo a esos animales a un procedimiento de AAG a Largo Plazo. En resumen, este experimento pretende comprobar si el aprendizaje llevado a cabo se ajusta a la modalidad a Largo Plazo (con características parecidas al aprendizaje declarativo y, por lo tanto, flexible) o si, por el contrario, el procedimiento utilizado implica una adquisición no declarativa inflexible (procedimental) que se pondría de manifiesto en la incapacidad para realizar correctamente una prueba de inversión.

### Método

#### SUJETOS

Los sujetos fueron 8 ratas macho de la raza Wistar suministradas por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos al principio del experimento se situaban entre 250-310 gr. Los animales fueron colocados individualmente en jaulas y en condiciones de adaptación similares a las ya descritas.

#### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

Bajo anestesia con éter etílico (Lab. Quimón. Barcelona), se implantaron a cada animal dos catéteres intragástricos (Silastic. Silastic-Medical Grade Tubing. Dow Corning Corp., Michigan, USA). Para evitar posibles infecciones los animales reciben una dosis intramuscular de 0.1 de penicilina (Penilevel retard. Lab. Level, S.A. Barcelona).

*Período de recuperación:* Finalizado el proceso quirúrgico, los animales son devueltos a sus jaulas, con comida y agua ad libitum, concediéndoseles un período de recuperación de 8-10 días. En el transcurso de este período un animal hubo de ser eliminado por pérdida de una de las fístulas intragástricas.

El *Período de preentrenamiento* se realiza ajustándose a la ya descrito en el Experimento 1a.

#### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL DEL PARADIGMA A CORTO PLAZO

Las condiciones experimentales fueron similares a las del Experimento 1a (ver Diagrama I), con la excepción de que ahora, para facilitar el aprendizaje, la tasa de administración de ambos productos (CINa y SF) sería de 1 cc. por 1 cc. de líquido ingerido.

El procedimiento experimental se repite a lo largo de cinco sesiones y, seis horas después de realizar la 5ª sesión y tras la comprobación estadística de que los animales habían aprendido, se efectúa una nueva sesión (Prueba de Inversión) invirtiendo la posición de las buretas con los sabores, es decir, ahora la bureta con el sabor Coco se situaba a la izquierda del animal y la bureta con el sabor Fresa a la derecha. El resto de las condiciones se mantenía, por lo que la administración intragástrica de los productos se realizaba de forma idéntica al resto de las sesiones.

## Resultados

Las cantidades medias ingeridas por los animales a lo largo de las cinco sesiones experimentales pueden verse en la Gráfica 5. Estos datos fueron analizados estadísticamente con un análisis de varianza (ANOVA droga x ensayos) que reveló que los animales habían aprendido a asociar un estímulo gustativo determinado con la administración del agente aversivo CINa evitando ingerir, por tanto, dicho estímulo gustativo a lo largo de las diferentes sesiones  $F(4,24) = 10.11, p < 0.0002$ . El análisis estadístico revela asimismo un significativo efecto principal como consecuencia de las drogas  $F(1,6) = 10.70, p < 0.02$ . Por el contrario, el análisis de los datos de la Prueba de Inversión reveló la incapacidad (invirtiendo las preferencias) de estos mismos animales de realizar una asociación correcta al modificar una sola de las condiciones experimentales, esto es, la posición de los estímulos gustativos,  $F(1,6) = 1.73, p > 0.05, NS$ . En la Gráfica 6 aparecen las distintas cantidades consumidas por los animales a lo largo de la 5ª sesión y de la Prueba de Inversión.

## Discusión

Los resultados del experimento realizado permiten comprobar que animales intactos son capaces de establecer un AAG a Corto Plazo o simultáneo cuyas características experimentales exigen la administración simultánea de un estímulo gustativo y de un estímulo visceral nocivo (CINa). Este paradigma de aprendizaje había sido ya observado tanto en animales intactos (Arnedo et al., 1990; Grupo Control del Experimento 1a) como en lesionados (Arnedo et al., 1990; Agüero et al., submitted). Se había comprobado igualmente

## N. INTERPOSITO

que para el establecimiento de este aprendizaje a Corto Plazo son necesarias varias presentaciones de los estímulos, cinco sesiones concretamente en el presente estudio. Asimismo, la consecución de esta asociación se había mostrado dependiente de la integridad de la vía vagal (Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1993).

Todas y cada una de estas características del AAG a Corto Plazo lo distinguen del otro paradigma de Aprendizaje Interoceptivo, esto es, el AAG a Largo Plazo. Este último puede ser adquirido tras una sola presentación del estímulo tóxico o nocivo y mediando una amplia demora entre la ingestión del estímulo gustativo y la administración del estímulo visceral nocivo (CLLi, escopolamina, rotación o estimulación eléctrica del Area Postrema) (Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991). Este procedimiento de aprendizaje es independiente de la vía vagal (Arnedo et al., 1990; Martin et al., 1978) y requiere de la integridad de otras zonas cerebrales para su establecimiento, como el Area Postrema (Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991; Ritter et al., 1980; Coil y Norgren, 1981; Bernstein et al., 1992) y el Núcleo Parabraquial Lateral (Agüero et al., 1993a y b). Este procedimiento de AAG, por último, podría aparecer más tarde en el desarrollo ontogénico ya que en ratas no puede manifestarse antes de los 20 días después del nacimiento (Alberts, 1987).

El distinto procedimiento de adquisición de ambos paradigmas, así como la independencia de las rutas anatómicas que utilizan, permiten considerarlos como dos procesos separados e independientes dentro del AAG. Las características propias del AAG a Corto Plazo y a Largo Plazo permitirían además encuadrarlos dentro de lo que se denomina Memoria No Declarativa o Implícita y Memoria Declarativa o Explícita respectivamente.

Efectivamente, se considera que la Memoria Declarativa es explícita, accesible para una recuperación consciente y disponible para múltiples sistemas de respuesta (Squire, 1986; Squire y Zola-Morgan, 1991). Además, es segura y rápida en el sentido de que incorpora la información nueva rápidamente ya que puede instaurarse en un solo ensayo (Eichenbaum, 1992). Ontogénica y filogenéticamente, podría aparecer tardíamente en el curso del desarrollo (Miskin y Appenzeller, 1987; Squire, 1986; Squire et al., 1993) y, anatómicamente, es dependiente de la integridad de estructuras situadas en el Lóbulo Temporal Medial (Squire y Zola-Morgan, 1991).

En cuanto a la Memoria No Declarativa incluye conductas hábiles o hábitos (destrezas perceptivo-motoras, perceptivas y cognitivas), Condicionamiento Clásico, el fenómeno de priming y otros ejemplos donde la experiencia cambia la facilidad de operar en el mundo sin



un esfuerzo consciente para acceder a episodios pasados (Squire, 1992b; Squire et al., 1993). Todas estas habilidades se encuentran preservadas en la amnesia (Milner, 1962 y 1970; Beatty et al., 1987; Beatty et al., 1988; Brooks y Baddeley, 1976; Gordon, 1988; Graf et al., 1985; Martone et al., 1984; Nichelli et al., 1988; Shimamura, 1986; Warrington y Weiskrantz, 1982) por lo que serían independientes de las estructuras nerviosas dañadas en la misma (Squire, 1992b; Miskin y Appenzeller, 1987) dependiendo, por el contrario, de otras zonas anatómicas como el estriado (Packard y McGaugh, 1992) o el Cerebelo (Thompson et al., 1984a y b; Thompson, 1988; Glickstein y Yeo, 1990). En la Memoria No Declarativa, la información se adquiere como cambios en sistemas específicos de respuesta o perceptivos y es implícita en el sentido de que es accesible sólo a través de la ejecución (Squire, 1992b; Squire, 1986). Este aprendizaje implícito se fundamenta en cambios acumulativos ya que las nuevas asociaciones pueden ser adquiridas implícitamente sólo después de varias repeticiones (Squire, 1992a y b). Ontogénica y filogenéticamente, el aprendizaje implícito sería más primitivo (Miskin y Appenzeller, 1987; Squire, 1986).

Estos dos tipos de memoria tienen además otra característica que los distingue, es la flexibilidad, así la Memoria Declarativa se distingue por su flexibilidad representacional en el sentido de que la representación puede guiar la ejecución bajo un enorme rango de condiciones y situaciones, lo que permite generar respuestas en situaciones novedosas; la recuperación de memorias sería posible, por tanto, en una variedad de contextos fuera de la situación de aprendizaje (Eichenbaum, 1992; Squire, 1992a; Squire et al., 1993). La Memoria No Declarativa, por el contrario, sería inflexible, es decir, accesible sólo cuando se presenta exactamente la misma señal utilizada durante el aprendizaje original (Eichenbaum et al., 1986; Squire, 1992b; Eichenbaum, 1992). Se trataría, por tanto, de una forma de aprender hiperespecífica y rígida (Glisky et al., 1986; Glisky y Schacter, 1988).

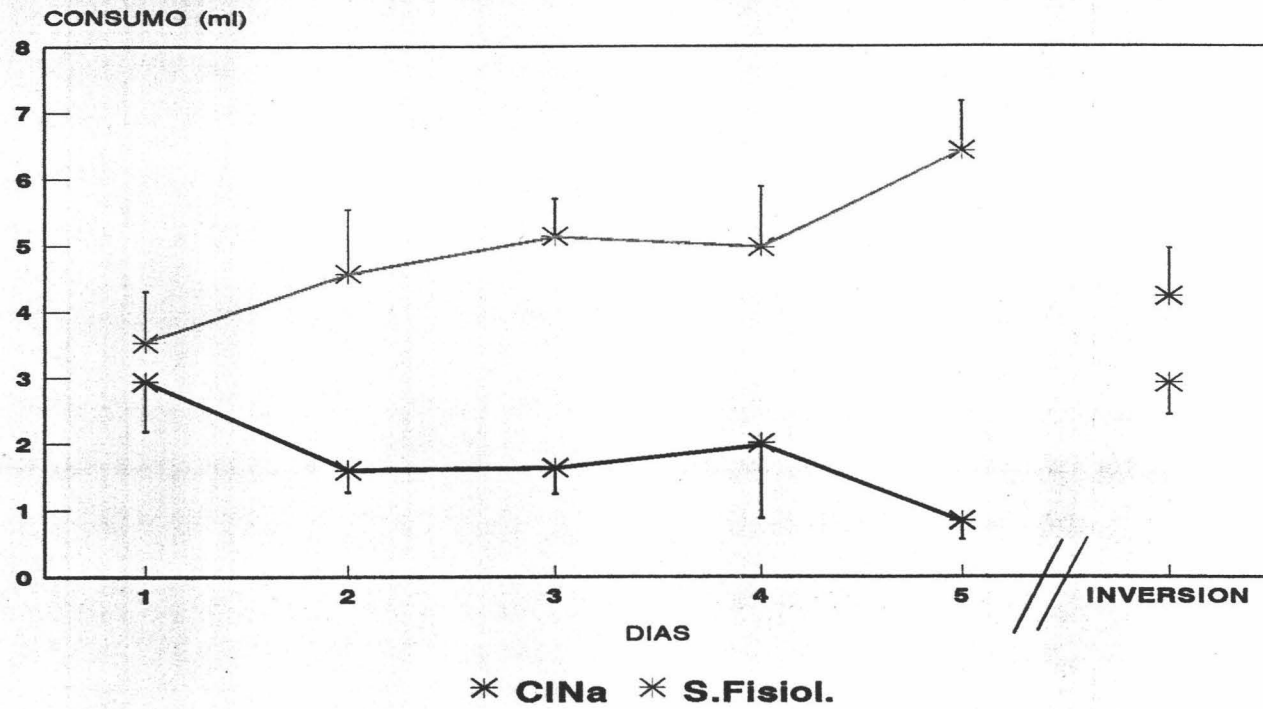
Estudiar la flexibilidad en AAG en el paradigma a Corto Plazo sería también el objetivo del presente estudio puesto que previamente se había comprobado que el AAG a Largo Plazo contaba con dicha característica, es decir, un AAG establecido siguiendo el paradigma de Largo Plazo puede ser mantenido a pesar de cambiar algún aspecto de la situación de aprendizaje, en concreto la posición en la que se presentan los estímulos gustativos (Prueba de Inversión) (Experimento 1b). En este estudio, sin embargo, puede observarse que en estas condiciones (inversión de la posición de los estímulos) la asociación establecida mediante un AAG a Corto Plazo no se mantiene porque los animales fueron incapaces de reconocer el estímulo gustativo asociado al producto inocuo (suero fisiológico) fuera del contexto en el cual esa asociación fue originalmente adquirida.



## N. INTERPOSITO

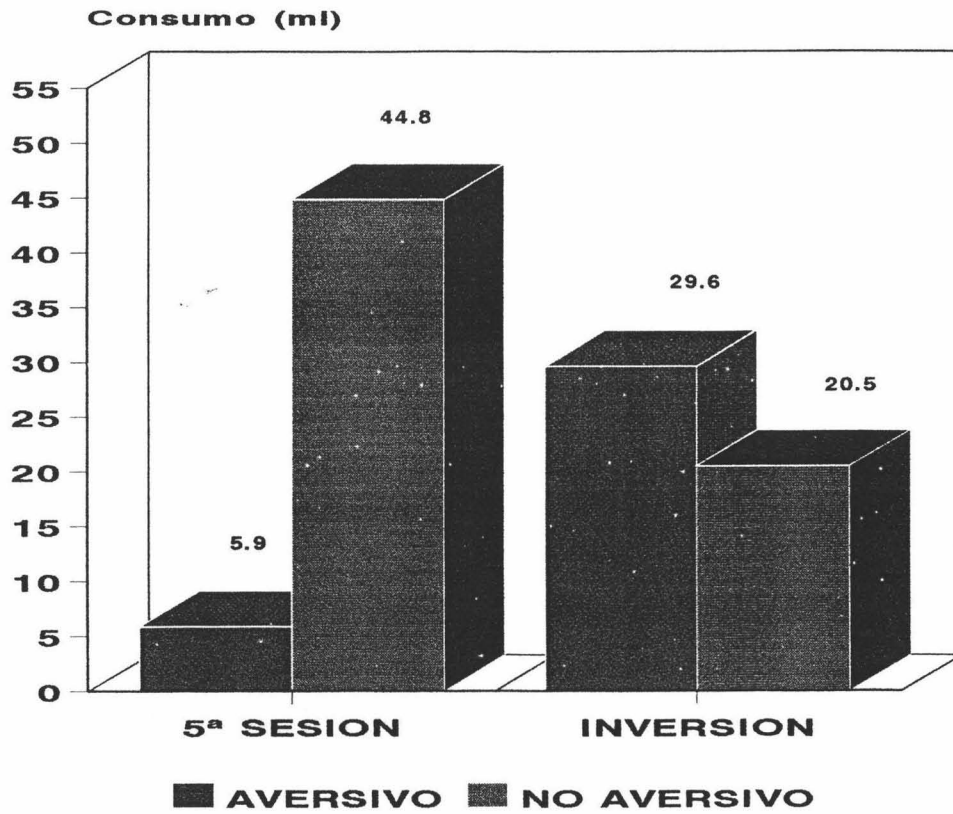
En el AAG, por tanto, al igual que en otros procesos adquisitivos, puede comprobarse la realidad biológica de múltiples sistemas de memoria. Los organismos disponen para ello de variadas formas de beneficiarse de la experiencia y del conocimiento adquirido. Estos distintos sistemas de memoria tendrían diferentes formas de operar, adquirirían diferentes clases de conocimiento y dependerían de diferentes estructuras cerebrales y conexiones para su funcionamiento (Squire, 1992a). Todo ello, como se ha dicho, se ha demostrado válido para el AAG ya que los dos paradigmas por los que puede establecerse este aprendizaje difieren en el procedimiento utilizado para su adquisición, en las vías anatómicas que los sustentan, en la rapidez con que se adquieren y, como se ha demostrado en este estudio, en su flexibilidad.

## PARADIGMA A CORTO PLAZO



Gráfica 5.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas de los estímulos gustativos asociados a CINA (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en las cinco sesiones experimentales del Experimento 1c.

## PARADIGMA A CORTO PLAZO



Gráfica 6.- Cantidades totales ingeridas por los animales en la 5ª sesión experimental y en la Prueba de Inversión de los estímulos asociados a la administración de ClNa y Suero Fisiológico.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	19.6	24.5	11.2	31.5	11.2	35.7	14.0	34.3	5.6	44.8
$\bar{x}$	2.9	3.5	1.6	4.5	1.6	5.1	2.0	4.9	0.8	6.4
S.D.	2.0	2.0	0.8	2.5	1.0	1.4	3.0	2.4	0.7	1.9

**Tabla VII.** - Cantidades (ml) ingeridas a lo largo de las cinco sesiones experimentales del Experimento 1c.

	CINa	S.F.
$\Sigma x$	29.4	20.3
$\bar{x}$	4.2	2.9
S.D.	1.9	1.2

**Tabla VIII.** - Cantidades (ml) correspondientes a la ingesta en la Prueba de Inversión del Experimento 1c.

## **EXPERIMENTO 1d**

### **Adquisición del Aprendizaje Aversivo Gustativo en un procedimiento a Largo Plazo, sin Demora, en Animales con Lesión de la Región Interpósito-Dentado.**

#### **Introducción**

Dado que los animales empleados en los Experimentos 1a y 1b eran los mismos, en cada uno de los experimentos hubo de emplearse diferentes estímulos gustativos y aversivos. Especialmente en el caso de estos últimos y en relación con el CILi en lugar de CINa, puede argumentarse que el efecto del primero de ellos es más potente y, por lo tanto, se podría haber producido una facilitación del aprendizaje. Igualmente, el aprendizaje podría haberse visto facilitado por el hecho de que los animales en el Experimento 1b ya disponían de una experiencia previa (Experimento 1a), aunque no puede olvidarse el hecho de que no habían sido capaces de realizar satisfactoriamente aquella tarea. Un último aspecto a tener en cuenta es que entre ambos experimentos existiría una diferencia adicional consistente en la presencia o ausencia de demora entre el estímulo gustativo y el aversivo, si bien esta diferencia no puede utilizarse como elemento facilitador, más bien como limitador del aprendizaje, a pesar del cual, sin embargo, los animales logran realizar adecuadamente la tarea.

Para evitar en lo posible estas diferencias se utilizó un nuevo Grupo de animales en el cual los productos nocivos y gustativos serían los mismos del primer experimento. Al mismo tiempo, el CINa era inyectado sin introducir demora alguna entre el estímulo gustativo y el visceral y, por lo tanto, siguiendo un paradigma similar al Condicionamiento Clásico.

Previamente los animales habían sido lesionados en la zona Interpósito-Dentado siguiendo el procedimiento anteriormente descrito. Si los animales lesionados aprenden también esta tarea, habremos comprobado, en primer lugar, que la lesión es tan específica como creemos y, además, que las diferencias entre los resultados del primer experimento y los del segundo no se deben a la utilización de dos productos aversivos distintos, CINa en el primer experimento y CILi en el segundo.

#### **Método**

##### **SUJETOS**

## N. INTERPOSITO

En este experimento se emplearon 8 ratas macho de la raza Wistar suministradas igualmente por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos oscilaban entre 280-310 gr. Se mantuvo a estos animales en las mismas condiciones descritas en los experimentos anteriores.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

La lesión central se realiza tal y como se describe en el Experimento 1a. Lo mismo puede decirse de la implantación de los catéteres, a excepción de que en este caso solamente se implantaba una sola fístula a cada animal.

Las condiciones de recuperación y de entrenamiento previas a la fase experimental son asimismo iguales a las descritas en el Experimento 1a.

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las condiciones experimentales fueron las mismas que se siguieron en el Experimento 1b (Diagrama II) si exceptuamos que:

1º.- No hubo 15 minutos de dilación entre la retirada del estímulo gustativo y la administración del estímulo nocivo. En este caso, el estímulo aversivo se administraba tras ser retirada la bureta que contenía el estímulo gustativo.

2º.- Los estímulos gustativos empleados fueron Fresa y Coco como en el Experimento 1a en lugar de Vainilla-Limón respectivamente.

3º.- Como estímulo aversivo se administraban a través de la fístula intragástrica 5 cc. de CINA hipertónico, cantidad que aproximadamente correspondía a la mitad de lo que consumían los animales.

### Resultados

Los datos (Gráfica 7) se analizaron mediante una ANOVA (condición aversiva vs no aversiva) confirmando el establecimiento de este aprendizaje tanto en el Test 1  $F(1,7) =$

## N. INTERPOSITO

50.70,  $p < 0.0003$ , como en la Prueba de Inversión  $F(1,7) = 206.15$ ,  $p < 0.0001$ . Las cantidades medias consumidas del estímulo gustativo asociado a la administración de CINa fueron 10.8 en la primera sesión de administración del producto y 9.45 en la segunda. Las medias correspondientes al estímulo gustativo asociado al SFI fueron 10.3 en la primera sesión y 9.6 en la segunda.

## Histología

Los animales de este grupo fueron sacrificados de la forma descrita y el análisis histológico de las lesiones se efectuó de manera similar al Grupo Experimental Experimento anterior.

## Discusión

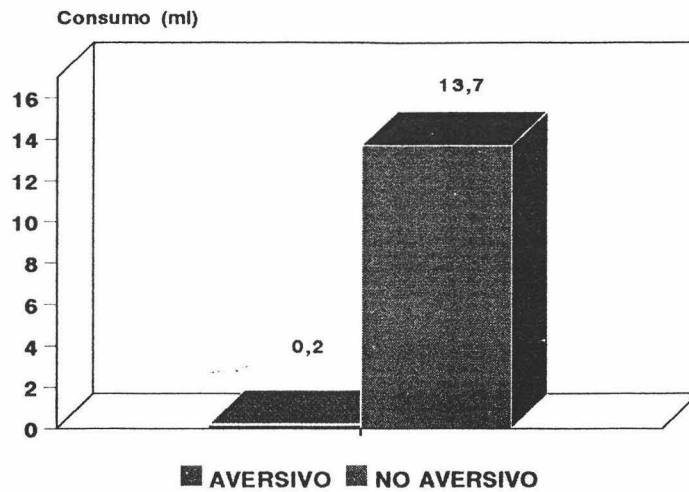
Animales lesionados electrolíticamente en la zona Interpósito-Dentado establecen sin dificultad un AAG a Largo Plazo sin demora, es decir, administrando el producto aversivo inmediatamente después de la ingesta del estímulo gustativo. Como cabría esperar, la introducción de la demora no explica, por tanto, los resultados obtenidos en el Experimento 1b. Dichos resultados tampoco pueden explicarse en función de los estímulos utilizados puesto que ahora los animales han logrado la asociación también con CINa y con los mismos estímulos gustativos que se han mostrado ineficaces para que los animales lesionados establezcan el AAG a Corto Plazo.

Al resolver satisfactoriamente también la Prueba de Inversión, los animales nos dan una vez más prueba de normalidad motora tras la lesión e igualan, en cuanto a la característica de flexibilidad analizada en el Experimento 1c, el procedimiento utilizado en este grupo al procedimiento a Largo Plazo del Experimento 1b.

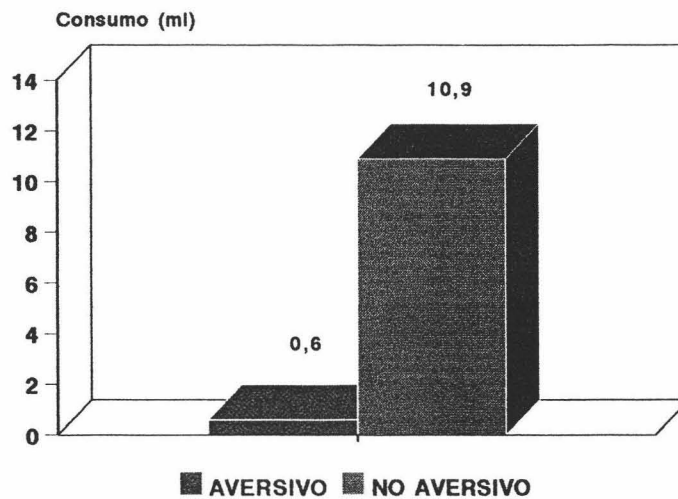


# N. INTERPOSITO

TEST 1



TEST 2



\* TAREA A LARGO PLAZO CON C1Na \*

Gráfica 7.- Cantidades medias ingeridas en el Test 1 y en el Test 2 del Experimento 1d.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	1.7	89.0
$\bar{x}$	0.2	11.1
S.D.	0.3	4.0

Tabla IX.- Cantidades en ml correspondientes a la ingesta en el Test 1 del Experimento 1d.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	4.8	87.3
$\bar{x}$	0.6	10.9
S.D.	0.6	1.9

Tabla X.- Cantidades en ml correspondientes a la ingesta en el Test 2 del Experimento 1d.

## DISCUSIÓN GENERAL

Lesiones electrolíticas de la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo interrumpen el Aprendizaje Aversivo Gustativo (AAG) a Corto Plazo. Es decir, los animales lesionados son incapaces de discriminar entre el estímulo gustativo relacionado con un producto neutro y el estímulo asociado con CINA.

El AAG se basa en la tendencia a rechazar estímulos gustativos asociados con malestar gastrointestinal (García, 1990). Pero este comportamiento puede manifestarse siguiendo dos tipos de procedimientos diferentes denominados a Corto Plazo y a Largo Plazo, según se lleven a cabo con demora entre el estímulo gustativo y aversivo o presentando ambos contigua o simultáneamente (Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Arnedo et al., 1990).

En la modalidad de AAG a Corto Plazo el animal debe detectar inmediatamente el malestar gastrointestinal que sufre para que pueda ser relacionado con uno de los estímulos gustativos presentados. Las condiciones experimentales exigen, por tanto, que la asociación estimular sólo se pueda establecer si ambos estímulos son detectados con prontitud y simultáneamente en el tiempo. Se trata, en definitiva, de que el organismo recurra y deba disponer de sustratos anatómicos eficaces en base a su rapidez para transmitir la información.

En el sistema gastrointestinal existen receptores que responden específicamente al sodio y, de hecho, se han localizado receptores para el Na en prácticamente todo el sistema gastrointestinal (Mei y Garnier, 1986; Blake y Lin, 1978; Contreras y Kosten, 1981; Kobashi y Adachi, 1990). El Nervio Vago es el encargado de procesar esta información (Simansky et al., 1982; Jerome y Smith, 1982; Jerome y Smith, 1984; Sakaguchi y Yamazaki, 1986) y constituye, por tanto, una vía anatómica con la capacidad sensorial que requiere el procedimiento de AAG a Corto Plazo. Por ello, esta modalidad de aprendizaje es interrumpida tras vagotomías subdiafragmáticas (Arnedo et al., 1991), vagotomías bulbares (Arnedo et al., 1990) y lesiones electrolíticas de PBNm (Agüero et al., submitted). Al utilizar CINA nos asegurábamos, pues, de que este producto podría ser detectado y transmitido rápidamente a estructuras nerviosas superiores.

Sin embargo, bajo estas condiciones los animales lesionados fueron incapaces de establecer el AAG. Esta imposibilidad no parece ser debida a un efecto inespecífico causado por la lesión cerebelar. Aparentemente, y para cualquier observador, los animales mantienen un perfecto estado de salud, lo que se ve ratificado por el hecho de que los animales

lesionados consumen cantidades de líquido similares a las de los controles (Gráfica 1).

Además, la tarea impuesta, esto es, AAG a Corto Plazo, es un aprendizaje accesible. Los animales sin lesión pueden consolidar plenamente una asociación con estos requisitos, tal y como había sido previamente demostrado (Arnedo et al., 1990) y como aquí puede comprobarse a través del Grupo Control falsamente lesionado. Igualmente, el aprendizaje siguiendo un paradigma a Corto Plazo puede establecerse también en animales lesionados. En concreto, se ha conseguido tanto en animales con lesión de AP (Arnedo et al., 1990) como con lesiones del PBNl (Agüero et al., 1990).

Por otra parte, existe amplio soporte anatómico y fisiológico indicando que el Cerebelo recibe información tanto gustativa (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) como visceral (Batini et al., 1978; Saigal et al., 1980; Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978; Perrin y Crousillat, 1985; Tong et al., 1991; Somama y Walberg, 1978; Supple y Leaton, 1990) que permitiría implicarle en procesos de AAG a Corto Plazo.

Este estudio demuestra, asimismo, que esta lesión cerebelar no interrumpe la otra modalidad de AAG, es decir, el aprendizaje a Largo Plazo. Efectivamente, los mismos animales que fracasan en un paradigma a Corto Plazo, establecen la asociación sin dificultad cuando se les somete a una tarea con dilación entre estímulos (Experimento 1b). Las lesiones del vermis tampoco parecían afectar al AAG de este tipo, es decir, usando dilación entre estímulos y CILi como agente aversivo (Supple et al., 1987). Del mismo modo, lesiones de los Núcleos cerebelares no impiden la adquisición de un AAG a Largo Plazo sin demora (Experimento 1d). Es posible, como se ha afirmado, que esta modalidad de aprendizaje utilice estructuras jerárquicamente superiores y rostrales al Cerebelo y al Tronco Cerebral (Grill y Norgren, 1978).

Las diferencias de resultados entre los dos paradigmas no pueden explicarse tampoco en función del diferente estímulo nocivo empleado, ya que, como vemos en el Experimento 1d, animales con lesión en la zona Interpósito-Dentado son también capaces de establecer AAG a Largo Plazo utilizando CINa, resultados que coinciden además con los obtenidos tras vagotomías medulares (Arnedo et al., 1993). Además, la utilización de CILi (independientemente de la dosis empleada) se ha demostrado ineficaz para desarrollar un AAG a Corto Plazo (Arnedo et al., datos no publicados). En efecto, se ha comprobado repetidamente que este producto es inadecuado para el desarrollo de tareas adquisitivas en esta modalidad lo que sugiere que la realización correcta de los procedimientos a Corto Plazo

## N. INTERPOSITO

o a Largo Plazo no puede atribuirse a una mayor potencia aversiva de los productos utilizados intragástricamente. La potencia aversiva de un producto con respecto a otro en AAG no es, por tanto, un valor absoluto sino relativo; está en función de la modalidad de aprendizaje, a Corto o a Largo Plazo, que se emplee.

El hecho de que animales lesionados en la zona Interpósito-Dentado sean capaces de establecer AAG a Largo Plazo nos indica una vez más que esta lesión no provoca una incapacidad sensorial o motora: los estímulos gustativos han sido plenamente detectados porque, de otra manera, el aprendizaje a Largo Plazo no podía haber tenido lugar.

Igualmente, a pesar de las implicaciones motoras del Cerebelo, los déficit motores que nuestra lesión podía haber causado (aunque no fueron observables) no incapacitan a los animales para esta tarea de AAG. Incluso, tal y como se demuestra en la Prueba de Inversión (Experimentos 1b y 1d), esos déficit, en caso de existir, deben de ser mínimos ya que los animales cambian sin dificultad los patrones motores aprendidos previamente.

Según todos estos datos, se puede sugerir, por tanto, que la lesión de la zona Interpósito-Dentado tiene un efecto específico sobre el AAG simultáneo, sin afectar al aprendizaje a Largo Plazo. Estos resultados sugieren nuevamente la independencia de ambos paradigmas ya que, en caso contrario, las lesiones de la zona Interpósito-Dentado deberían haber interrumpido ambas modalidades de aprendizaje, cosa que no ha sucedido. Además, los diferentes resultados observados en las Pruebas de Inversión según se utilicen uno u otro paradigma apoyan igualmente dicha sugerencia como ya se discutió en el Experimento 1c.

En resumen, este estudio parece demostrar que el Cerebelo interviene en gran medida en el establecimiento de AAG a Corto Plazo, una modalidad de aprendizaje que por sus características se asemeja al CC, una modalidad no declarativa, coincidiendo, por tanto, con los resultados obtenidos en otros tipos de CC por otros autores (Thompson et al., 1984a y b; Thompson et al., 1987; Solomon et al., 1989; Lye et al., 1988; Topka et al., 1993; Glickstein y Yeo, 1990).

**CAPITULO II. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LAS AFERENCIAS CEREBELARES EN  
EL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO: NÚCLEO DE LA OLIVA INFERIOR**

## EXPERIMENTO 2a

### El Núcleo de la Oliva Inferior y su participación en el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo

#### Introducción

Lesiones limitadas a la zona Interpósito-Dentado interrumpen el AAG a Corto Plazo pero no impiden el establecimiento de AAG siguiendo un procedimiento a Largo Plazo. Estas lesiones podrían haber interrumpido la convergencia de los estímulos visceral vagal y gustativo necesaria para el establecimiento del AAG a Corto Plazo, aunque otras posibilidades no pueden ser descartadas (ver más adelante).

Efectivamente, el Cerebelo ha sido propuesto por diversos autores como el candidato idóneo donde se producirían los cambios neurobiológicos responsables de ciertas modalidades de aprendizaje y memoria (Marr, 1969; Eccles, 1977; Thompson, 1988; Lisberger, 1988a y b; Glickstein y Yeo, 1990; Ito, 1993a). En concreto, en el condicionamiento de la membrana nictitante, Thompson y asociados han propuesto incluso las rutas anatómicas que seguirían el estímulo incondicionado (E.I.) y el estímulo condicionado (E.C.) para el establecimiento de este aprendizaje (Thompson, 1986 y 1988; Lavond et al., 1993; Thompson et al., 1984a y b; Thompson y Krupa, 1994).

En ese esquema se sugiere que la trayectoria seguida por el EI (un soplo o un shock eléctrico periorbital) sería a través de las fibras trepadoras que se originan en una región del Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.), en la Oliva accesoria dorsal, y que alcanzan preferentemente la región de los Núcleos Internos del Cerebelo (Kitai et al., 1977; Groenewegen y Voogd, 1977; Courville et al., 1977) y el lóbulo HVI del cortex cerebelar (Van Ham y Yeo, 1992). En este contexto, lesiones de la O.I. impiden la adquisición de la RC y producen la extinción de RCs ya establecidas (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994), mientras que la estimulación eléctrica de la Oliva accesoria dorsal sirve como un efectivo E.I. para el aprendizaje normal de la R.C. (ver Thompson, 1988). Registros electrofisiológicos, por otra parte, han confirmado igualmente que la actividad de la O.I. estaría relacionada con el proceso de adquisición (Sears y Steinmetz, 1991; Gruart, 1993)

En relación con el AAG, mientras que la vía anatómica seguida por la información gustativa hasta el Cerebelo no es bien conocida (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986), sí existe evidencia de que la información visceral procesada



por vía vagal podría alcanzar el Cerebelo a través de las fibras trepadoras que tienen su origen en la O.I. De hecho, en la parte caudal de la Oliva accesoria medial (MAO) y la Oliva accesoria dorsal (DAO) se integra información procedente de órganos viscerales a través tanto de aferencias espláncnicas como vagales (Perrin y Crousillat, 1980). En concreto, la estimulación eléctrica del Nervio Vago provoca la expresión de C-Fos en la parte medial de la O.I (subnúcleo beta) (Yousfi-Malki y Puizillout, 1994).

Puesto que el Cerebelo participa en el establecimiento de AAG a Corto Plazo y la O.I. sería el origen de las fibras trepadoras encargadas del procesamiento del E.I. (Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991), unas fibras sensibles, por otra parte, a la estimulación del Nervio Vago (Tong et al., 1991), se podría pensar que la supresión de la principal fuente de estas vías, esto es, el Núcleo de la O.I., podría interrumpir esta modalidad de AAG a Corto Plazo tal y como se ha observado en el CC de la membrana nictitante (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994) o tras la intervención de las vías vagales en el AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Esta intervención, por el contrario, no debería afectar al establecimiento del AAG a Largo Plazo que utiliza vías anatómicas distintas a las vagales (Arnedo et al., 1991; Gallo et al., 1991; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990).

## Método

### SUJETOS

Se emplearon 16 ratas macho de la raza Wistar suministradas por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos, al principio del estudio, oscilaban entre 260-310 gr. De estos animales, la mitad correspondería al Grupo Experimental (lesión de O.I.) y la otra mitad formaría el Grupo Control (lesión ficticia) permaneciendo todos ellos en las condiciones ya descritas.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

#### *Lesión Electrolítica de la Oliva Inferior (O.I.)*

Las lesiones electrolíticas de este núcleo se realizaron de manera similar a las descritas en otros grupos de animales lesionados. En este caso, las coordenadas estereotáxicas utilizadas

para realizar la lesión se basan igualmente en el atlas estereotáxico de Paxinos (Paxinos y Watson, 1986) y fueron:

$$\text{A-P : } - 3 \quad \text{L : } \pm 0.7 \quad \text{V : } - 0.7$$

En cuanto a los parámetros de lesión, ésta consistió en la administración bilateral de una corriente continua catódica de 1.5 Ma durante 10 segundos. Para la lesión ficticia de los animales controles, se reprodujeron todos los pasos, sin embargo, la coordenada vertical que se utilizó fue 0.7 dorsal a la anterior y no hubo paso de corriente a través del electrodo.

#### *Implantación de dos Fístulas Intragástricas*

Tanto a los animales experimentales como a los controles se les implantó dos catéteres intragástricos de la manera ya descrita en el Experimento 1a.

Las condiciones de recuperación, preentrenamiento y procedimiento experimental fueron asimismo similares en todo a las utilizadas en el paradigma de AAG a Corto Plazo (ver Diagrama I). La tasa de administración de las sustancias (ClNa y Suero Fisiológico Isotónico) fue de 1 cc. por 1 cc. de líquido ingerido y se realizaba a través de dos conectores de plástico con longitud suficiente para permitir la libertad de movimientos del animal.

#### **Resultados**

Con los datos (Gráfica 8) se efectuó ANOVA (droga x ensayos) que puso de manifiesto la incapacidad de los animales del Grupo Lesionado para establecer la asociación requerida a lo largo de las cinco sesiones experimentales  $F(4,28) = 0.8, p > 0.05, \text{NS}$  (Gráfica 9). El aprendizaje, por el contrario, fue posible en el Grupo Control, tal y como demuestra el análisis de los datos de dicho grupo  $F(4,28) = 5.10, p < 0.004$  (Gráfica 10)

#### **Discusión**

De acuerdo con los datos expuestos, la lesión electrolítica de la Oliva Inferior en ratas interrumpe el AAG a Corto Plazo en el que el estímulo gustativo y visceral son simultáneos. Esta simultaneidad exige por sí misma que la transmisión del estímulo visceral se realice

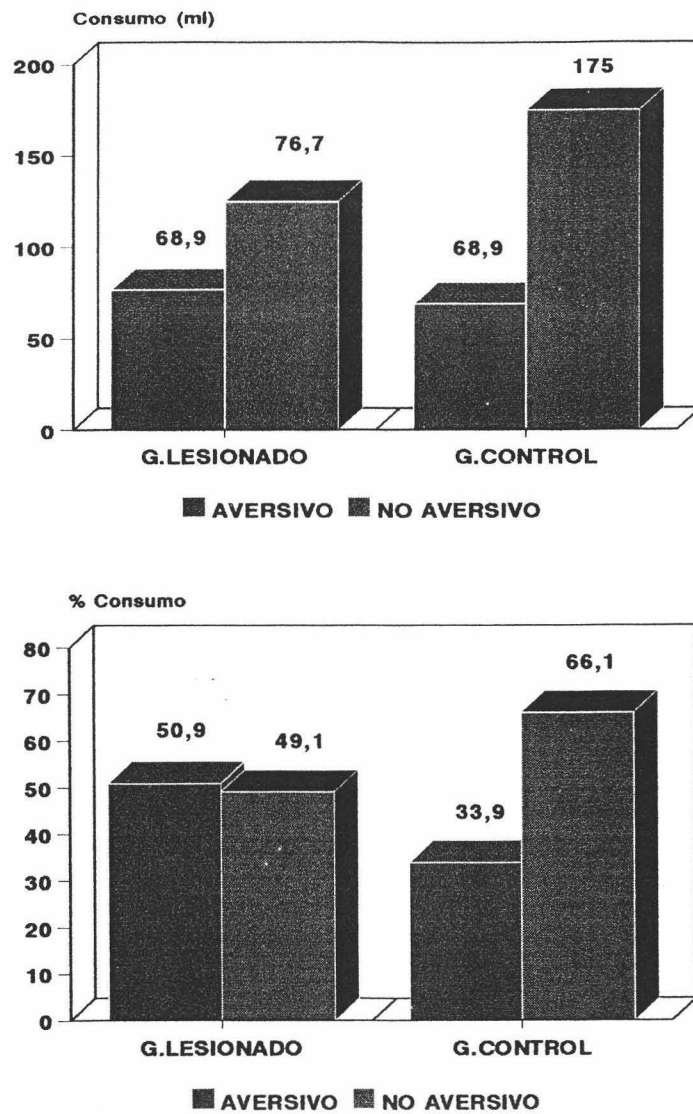
rápidamente para coincidir temporalmente con la ingestión del estímulo gustativo. Al parecer, esa rapidez de transmisión sólo podría ser satisfecha mediante una vía neural. En efecto, en nuestro laboratorio se ha demostrado que el Nervio Vago sería el sustrato anatómico que permitiría establecer un AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1993). La viabilidad de este paradigma se demuestra en el Grupo Control de este experimento así como en el del Experimento 1a en los cuales los animales intactos consiguen establecer una asociación con esos requisitos.

Si la hipótesis planteada es correcta, la lesión de la O.I. ha podido interrumpir el AAG al intervenir en el necesario procesamiento de la información vagal que desde O.I. alcanza el Cerebelo, impidiendo, por tanto, que la información visceral y gustativa puedan coincidir en dicha estructura. Esta conclusión vendría apoyada por los datos anatómicos que apuntan a la zona Olivar como una estación de relevo de aferencias vagales (Hennemann y Rubia, 1978; Perrin y Crousillat, 1980 y 1985; Nisimaru et al., 1991; Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994).

Si bien estos datos anatómicos sugieren que las aferencias vagales que se originan en la región Olivar finalizan en el Cortex Cerebelar, concretamente alrededor de la Cisura Primaria, no puede descartarse que la información vagal alcance igualmente a los Núcleos Profundos del Cerebelo ya que en la O.I. existen numerosas células que envían sus fibras tanto al cortex como a la zona nuclear del Cerebelo (Qvist, 1989). De hecho, la estimulación eléctrica de zonas de la Oliva accesoria evoca potenciales excitadores postsinápticos en el Núcleo Interpósito anterior (Kitai et al., 1977). Más aún, técnicas de degeneración y autorradiográficas han demostrado que la Oliva accesoria contralateral envía fibras al Núcleo Interpósito (Groenewegen y Voogd, 1977) y, en general, a todas aquellas células nucleares que están bajo la influencia de las mismas células de Purkinje que reciben fibras trepadoras de esa área de la O.I. (Courville et al., 1977). Además, los núcleos cerebelares envían fibras a aquellas regiones de la O.I. de las que reciben información (Graybiel et al., 1973). Anatómicamente, pues, se establece un circuito (Buisseret-Delmas y Angaut, 1993) que para Ito (Ito, 1993a) supondría el módulo funcional mediante el cual el Cerebelo participaría en el aprendizaje. La importancia de esta conexión anatómica en el AAG es precisamente lo que intentamos dilucidar en este estudio.

Con todo ello, nuestros datos no permiten descartar otras posibilidades como, por ejemplo, que nuestra lesión haya intervenido en el procesamiento del otro elemento necesario para establecer la asociación, es decir, el gusto. Esta posibilidad es analizada en el siguiente experimento.

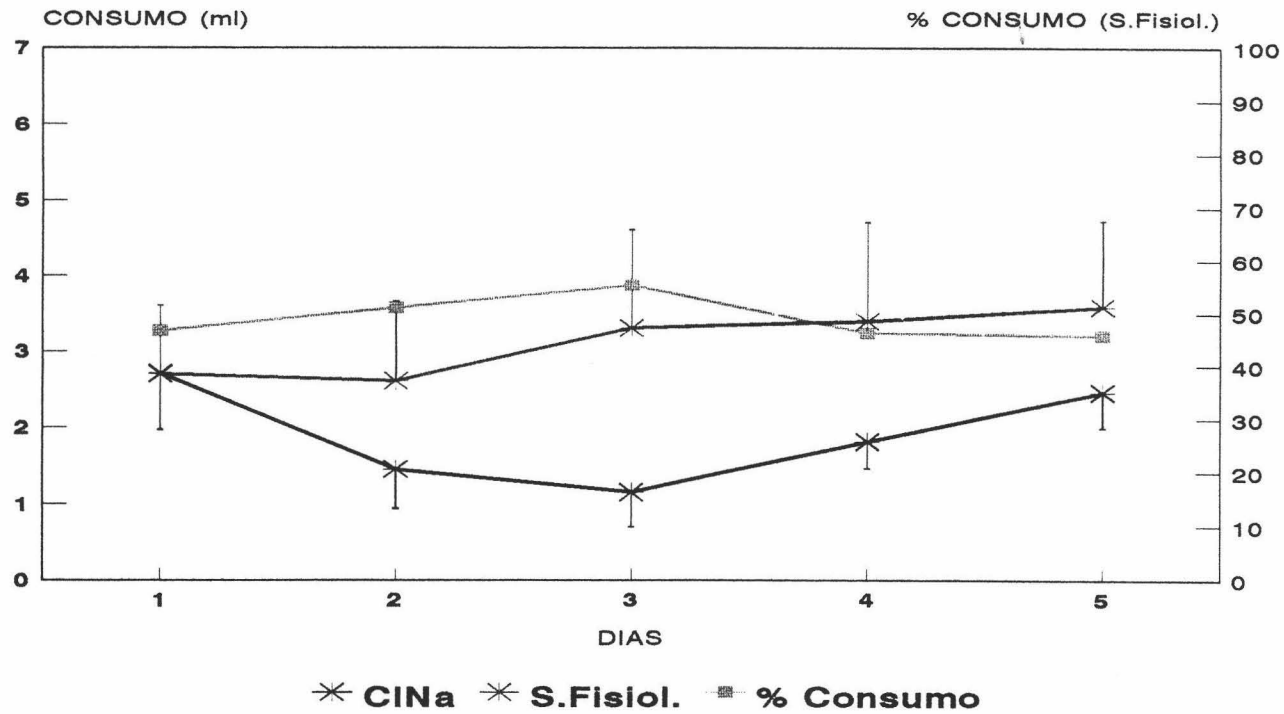
## OLIVA INFERIOR



Gráfica 8.- Cantidades totales consumidas por ambos grupos (Lesionado y Control) de los estímulos gustativos asociados a ClNa (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en el Experimento 2a.

# OLIVA INFERIOR

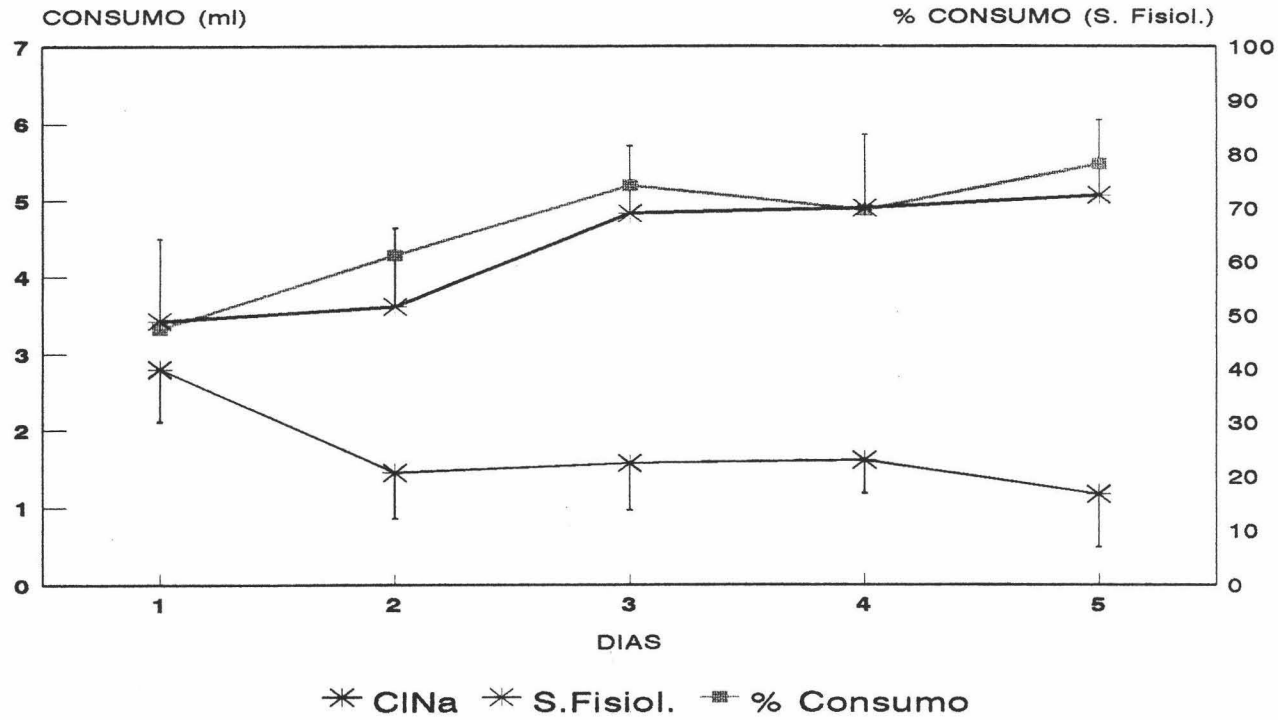
## GRUPO LESIONADO



Gráfica 9.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas por el Grupo Lesionado en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 2a.

# OLIVA INFERIOR

## GRUPO CONTROL



Gráfica 10.- Cantidades medias consumidas por el grupo Control en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 2a.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	21.7	21.6	11.6	20.9	9.2	26.5	14.5	27.2	19.7	28.7
$\bar{x}$	2.7	2.7	1.4	2.6	1.1	3.3	1.8	3.4	2.4	3.5
$\bar{x}\%$	53.2	46.8	48.8	51.2	44.6	55.4	53.7	46.3	54.2	45.8
S.D.	2.0	2.5	1.4	3.0	1.2	3.6	1.0	3.7	1.3	3.2

**Tabla XI.-** Cantidades (ml) correspondientes a la ingesta del Grupo Lesionado en una tarea de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo con administración de CINa y de Suero Fisiológico (SF).



SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	22.4	27.5	11.6	29.0	12.6	38.6	12.8	39.2	9.4	40.6
$\bar{x}$	2.8	3.4	1.4	3.6	1.5	4.8	1.6	4.9	1.1	5.0
$\bar{x}\%$	52.5	47.5	38.7	61.3	25.8	74.2	30.4	69.6	21.8	78.2
S.D.	1.9	3.0	1.6	2.9	1.7	2.5	1.2	2.7	1.9	2.7

Tabla XII.- Cantidades (ml) correspondientes a la ingesta del Grupo Control en una tarea de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo con administración de CINa y de Suero Fisiológico (SF).

## EXPERIMENTO 2b

### El Núcleo de la Oliva Inferior y el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo

#### Introducción

De acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento anterior, la lesión electrolítica del Núcleo de la Oliva Inferior impide el AAG a Corto Plazo. Este resultado podría ser debido a un defecto motor o a un efecto inespecífico de la lesión que imposibilitara de forma global a los animales o, en fin, a una incapacidad de los animales para el procesamiento de los estímulos gusto-olfatorios, por ejemplo.

Para examinar estas cuestiones nos planteamos el presente experimento en el cual se sometió a los mismos animales de dicho experimento a una tarea de AAG a Largo Plazo. Si la lesión de la O.I. había afectado específicamente a la información vagal necesaria para el establecimiento de un AAG a Corto Plazo, esta misma lesión no impediría un AAG en el que la información gustativa y visceral utilizara unas vías anatómicas distintas (Arnedo, 1986; Gallo et al, 1990; Gallo et al., 1991; Agüero et al., 1993a y b). Ahora, además, las condiciones experimentales del procedimiento a Largo Plazo serían más exigentes ya que se intentaría conseguir el aprendizaje tras una única sesión experimental.

De confirmarse nuestra hipótesis demostraríamos la especificidad de la lesión, la ausencia de enfermedad generalizada en nuestros animales y la existencia de substratos anatómicos diferentes para ambas modalidades de AAG, a Corto y a Largo Plazo.

#### Método

##### SUJETOS

Los animales que se utilizaron en este experimento fueron los mismos del estudio anterior, tanto en el grupo experimental como en el control, después de un período de, al menos, 48 horas con comida y agua ad libitum.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Pasado este período, se les retiró nuevamente el agua y 24 horas después se inició la primera sesión experimental (Ver diagrama III).

*Primera sesión (Día 1):* Consistía en la presentación a cada animal durante 7 minutos de una bureta, situada en el orificio de la izquierda, que contenía un nuevo estímulo gustativo, Vainilla (V) (McCormick Co. INC. San Francisco. California. USA; 0.5/100 ml). Concluido el tiempo, la bureta se retiraba y se anotaba la cantidad consumida.

Quince minutos más tarde de que la bureta hubiese sido retirada, la mitad de los animales recibía la administración intragástrica de 5 cc. de CILi (6.35 gr/l, 0.15 M, Gruppo Montedison. Carlo Erba, Milán). Del mismo modo, a la otra mitad de los sujetos se les inyecta también 5 cc. pero esta vez de SFI. Aproximadamente treinta minutos después, se les proporcionaba 15 gr. de comida sólida.

*Segunda sesión (Día 2):* En el orificio de la derecha se presentaba durante 7 minutos una bureta que contenía Limón (L), (McCormick Co. INC. San Francisco. California. USA; 0.5/100 ml) sabor asimismo igualado en cuanto a su preferencia con la Vainilla.

Quince minutos después de finalizar la toma del líquido, se inyectaban los mismos productos que en la sesión anterior pero de manera invertida, es decir, los animales que tras la ingestión de Vainilla se les inyectó CILi, ahora reciben SFI y al revés.

*Sesión de prueba (TEST 1):* Al tercer día se le presentaron a cada animal las dos buretas (V y L) simultáneamente y en la misma posición que habían tenido en las sesiones anteriores. Pasados los 7 minutos correspondientes, se registraron las cantidades consumidas de cada estímulo gustativo y 30 minutos más tarde se suministró 15 gr. de comida sólida. En esta sesión no hubo, por lo tanto, administración intragástrica de sustancia alguna.

*Prueba de Inversión (TEST 2):* Seis horas después de concluida la prueba anterior, los animales volvieron a tener acceso a las dos buretas, pero esta vez se les presentaron en una posición invertida a la habitual, es decir, V estaba en el orificio de la derecha y L en el de la izquierda.

## Resultados

Los resultados analizados con una ANOVA (aversivo vs no aversivo) indican que el aprendizaje se estableció con facilidad tanto en el Grupo Lesionado  $F(1,7) = 72.53$ ,  $p < 0.0002$ , como en el Grupo Control  $F(1,7) = 20.57$ ,  $p < 0.003$ . La preferencia por el estímulo asociado con SFI se puso de manifiesto igualmente en la prueba de Inversión: Grupo Lesionado  $F(1,7) = 207.86$ ,  $p < 0.0001$  (Gráfica 13); Grupo Control  $F(1,7) = 7.52$ ,  $p < 0.03$ . Estos resultados pueden observarse en la Gráfica 11).

## Histología

Concluidas las experiencias anteriores, los animales fueron sacrificados y sus cerebros analizados de la manera ya detallada. En la figura 5 puede apreciarse la lesión electrolítica del Núcleo de la Oliva Inferior. Las grandes lesiones bilaterales no permiten precisar la zona crítica pero, en cualquier caso, siempre incluyen a la Oliva accesoria medial (MAO), zona prioritariamente propuesta como estación de relevo de la información vagal (Perrin y Crousillat, 1980; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994; Nisimaru et al., 1991).

## Discusión

Los datos de este segundo experimento demuestran que animales con lesión electrolítica del Núcleo de la Oliva Inferior se encuentran capacitados para establecer un AAG a Largo Plazo utilizando CILi como estímulo visceral aversivo y una dilación de 15 minutos entre dicho estímulo visceral y el estímulo gustativo. Los animales lesionados consiguen, de hecho, un nivel de aprendizaje similar al de los controles. Estos datos permiten, por lo tanto, descartar una incapacidad generalizada de los animales provocada por la lesión. Descartan asimismo, una alteración gustativa que impidiera el establecimiento de AAG. Y demuestran, por último, que ambas modalidades de AAG utilizan substratos anatómicos distintos para poder ser llevadas a cabo.

Estas conclusiones se han visto reforzadas mediante la Prueba de Inversión en la cual los estímulos gustativos se presentan en posición opuesta a la habitual en el proceso de aprendizaje. Por lo tanto, los animales deben rectificar sus programas motores previos ajustándose al aspecto gustativo del estímulo que ahora se encuentra en una posición

novedosa. Este reajuste es llevado a cabo con la mayor facilidad tanto por los animales controles como por los animales lesionados en la O.I.

Señalar por último, que el estímulo visceral utilizado, CINA en el Experimento 2a y CILi en el Experimento 2b, no explica los resultados obtenidos. En efecto, y si bien el aprendizaje dentro de un paradigma a Largo Plazo puede ser establecido igualmente con la administración de CINA en animales lesionados en la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo (Experimento 1d) y vagotomizados medularmente (Arnedo et al., 1993), no ocurre lo mismo con la utilización de CILi (independientemente de la dosis empleada) para desarrollar un AAG a Corto Plazo (Arnedo et al., datos no publicados). De hecho, este producto se ha mostrado repetidamente inadecuado para el desarrollo de tareas adquisitivas en esta modalidad lo que sugiere, como ya ha sido indicado en el Capítulo precedente, que la realización correcta de los procedimientos a Corto Plazo o a Largo Plazo no puede atribuirse a una mayor potencia aversiva de los productos utilizados intragástricamente.

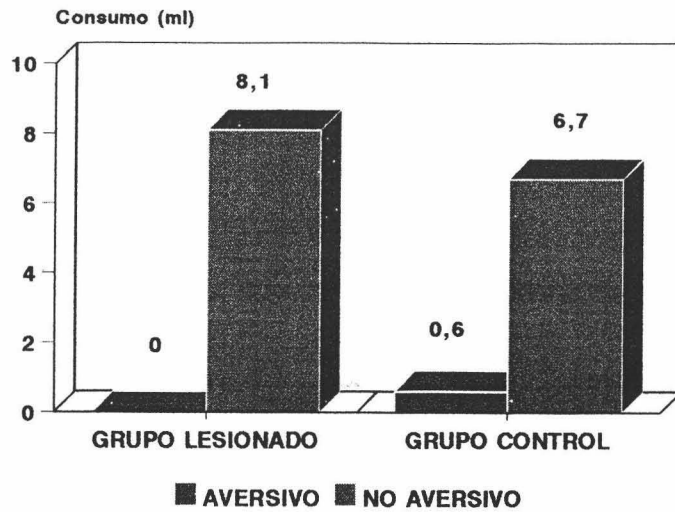
Sesiones      Sujetos      Estímulos Gust.

	1 - 4	5 - 8	
Día 1	CILi	SF	Vainilla izquierda
Día 2	SF	CILi	Limón derecha
Día 3 Test 1	Vainilla / Limón Izquierda / Derecha		
Día 3 Test 2	Limón / Vainilla Izquierda / Derecha		

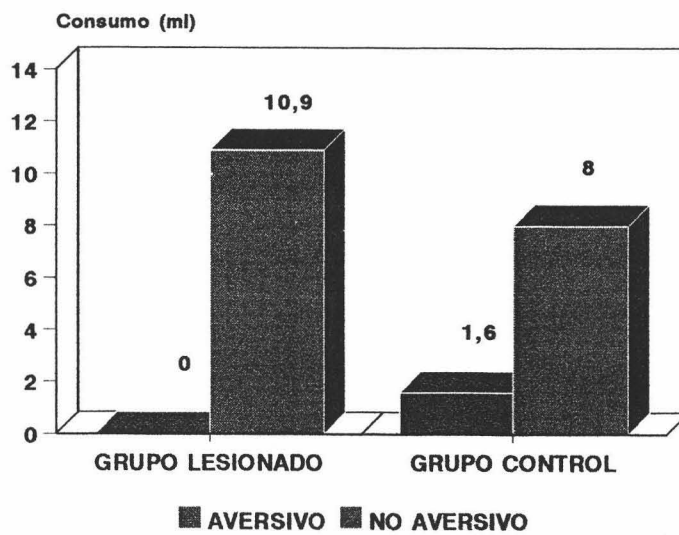
**Diagrama III.-** Esquema del procedimiento seguido en la prueba de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo, con administración de CILi y Suero Fisiológico.

# OLIVA INFERIOR

## TEST 1



## TEST 2



Gráfica 11.- Cantidades medias consumidas por ambos grupos, Lesionado y Control, en el Test 1 y en el Test 2 del Experimento 2b.



	CILi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	64.9
$\bar{x}$	0.0	8.1
S.D.	0.0	2.6

Tabla XIII.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Lesionado durante el Test 1.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	0.1	87.4
$\bar{x}$	0.0	10.9
S.D.	0.0	2.1

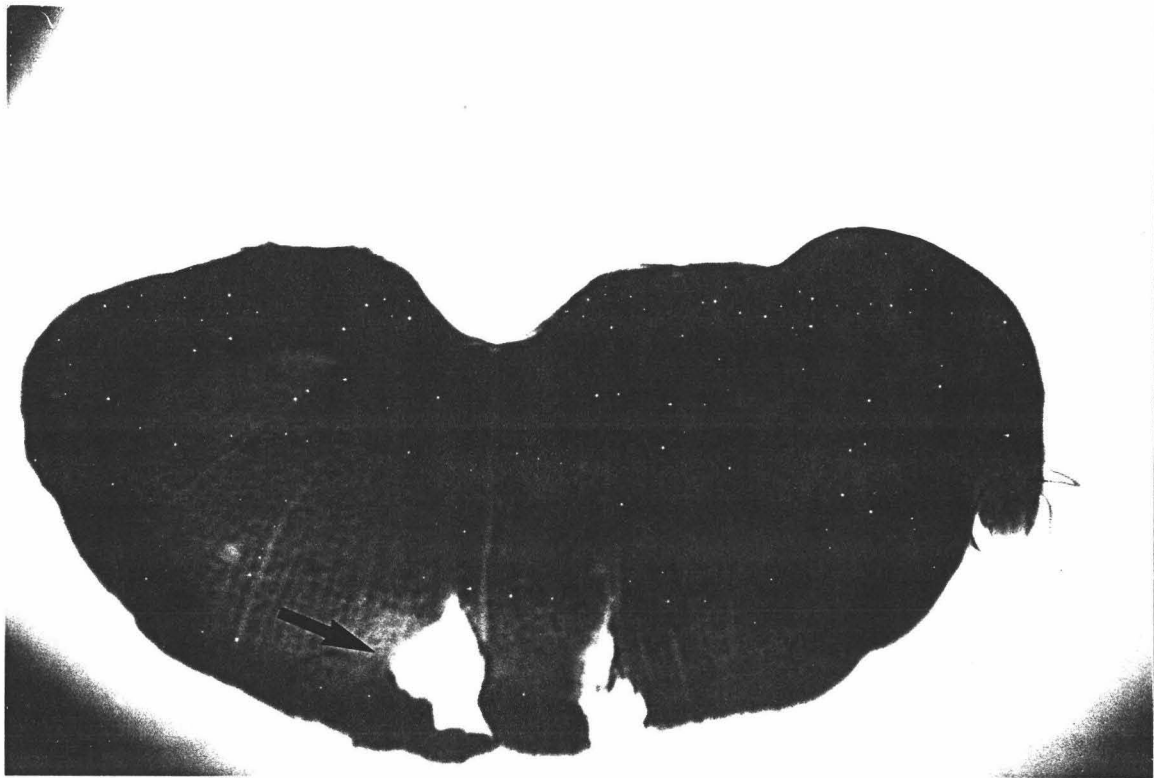
Tabla XIV.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Lesionado en el Test 2.

	CiLi	S.F.
$\Sigma x$	5.4	53.8
$\bar{x}$	0.6	6.7
S.D.	1.7	2.4

Tabla XV.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Control en el Test 1.

	CiLi	S.F.
$\Sigma x$	13.0	64.5
$\bar{x}$	1.6	8.0
S.D.	3.0	3.7

Tabla XVI.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo Control en el Test 2.



**Figura 5.-** Sección transversal a nivel del Bulbo Raquídeo donde se aprecian las lesiones electrolíticas del Núcleo de la Oliva Inferior.

## EXPERIMENTO 2c

### Estudio del Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo en Animales con Lesiones en el Cortex Cerebelar

#### Introducción

Los datos del experimento anterior descartan la posibilidad de que los resultados obtenidos en el Experimento 2a se deban a un efecto inespecífico de la lesión. En el mismo sentido, estudios previos en nuestro laboratorio han podido comprobar que diferentes lesiones (por ejemplo, vagotomías o lesión del Núcleo Parabraquial medial) afectan al AAG a Corto Plazo pero no al AAG a Largo Plazo, y al revés, lesiones del Area Postrema o del Núcleo Parabraquial lateral afectan al segundo procedimiento sin afectar al AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Agüero, 1990; Gallo et al., 1991; Arnedo et al., 1993).

Esta problemática ha sido tratada una vez más en este experimento lesionando el cortex cerebelar, una zona anatómica a la que Marr (1969), a través de las células de Purkinje, atribuía la plasticidad sináptica necesaria para establecer un aprendizaje motor.

Con anterioridad, los trabajos de Moruzzi en 1940 habían asignado al Cerebelo un cierto papel modulador de funciones autonómicas. En efecto, amplias lesiones del cortex vermal en ratas atenúan el temblor que se observa en estos animales ante la presencia de un gato, etc (Supple et al., 1987) y pueden interferir con el condicionamiento de respuestas autonómicas como el ritmo cardíaco (Squire, 1987) atenuando la adquisición de bradicardia condicionada tanto en conejos (Supple y Kapp, 1993) como en ratas (Supple y Leaton, 1990). Estos efectos no se aprecian si las lesiones se realizan en los hemisferios cerebelares. A pesar de todo ello, sin embargo, las lesiones vermales en ratas no parecen tener efecto en el AAG cuando se utiliza CILi como agente aversivo y 30 minutos de dilación entre el estímulo gustativo y la administración del estímulo visceral aversivo (Supple et al., 1987). Es decir, el vermis no parece ser esencial en el paradigma que denominamos Largo Plazo pero eso no excluye que pudiera serlo en el Corto Plazo. El presente experimento nos permitiría también dilucidar esta cuestión.

Una razón adicional para examinar el cortex vermal en relación con el AAG ha sido la existencia de estudios anatómicos previos indicando que aferencias vagales alcanzaban células de Purkinje del vermis (Tong et al., 1991). Información visceral vagal llega tanto a

zonas del vermis posterior (lóbulos VI al IX) (Okahara y Nisimaru, 1991; Saigal et al. 1980) como, y principalmente, alrededor de la Cisura Primaria (lóbulos V y VI) (Dell y Olson, 1951a; Hennemann y Rubia, 1978; Tong et al., 1991; Perrin y Crousillat, 1985).

De acuerdo con estos datos anatómicos y fisiológicos expuestos así como los experimentos anteriores, cabría esperar que las lesiones del vermis podrían afectar, en su caso, al AAG a Corto Plazo. Con la pretensión de examinar esta posibilidad se llevó a cabo el presente experimento.

## Método

### SUJETOS

Los sujetos de este experimento fueron 11 ratas macho de la raza Wistar suministradas por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos, al principio del estudio, estaban comprendidos entre 290-350 gr. Las condiciones previas a las intervenciones quirúrgicas fueron las mismas que se detallaron más arriba.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

#### *Electrocauterización del cortex cerebelar*

Una vez anestesiados los animales según el procedimiento antes descrito y colocados en el aparato estereotáxico se localizaba a nivel craneal el punto correspondiente a las coordenadas anteroposterior -4.2 y lateral 0.0 del atlas de Paxinos (Paxinos y Watson, 1986). Allí se efectuaba el orificio a través del cual se podía acceder con la fuente de calor hasta la superficie de la corteza cerebelar. La electrocauterización duraba un total de 30 segundos.

A partir de este momento, el tratamiento que se les daba a los animales era similar al descrito en el Experimento 2a, tanto en la cirugía periférica, período de recuperación, período de preentrenamiento y procedimiento experimental de AAG a Corto Plazo (Diagrama I).

Sin embargo, seis horas más tarde de realizar la 5ª sesión y tras la comprobación estadística de que los animales habían aprendido, efectuamos una

nueva sesión invirtiendo la posición de las buretas con los sabores, es decir, ahora la bureta con el sabor Coco se situaba a la izquierda del animal y la bureta con el sabor Fresa a la derecha. Otra diferencia fundamental de esta última sesión con respecto a las cinco sesiones previas era que en esta ocasión no se inyectaba nada a los animales; estos bebían durante 7 minutos con los conectores colocados pero no se administraba ninguna sustancia a través de ellos.

## Resultados

Los resultados (Gráfica 12) analizados con una ANOVA (droga x ensayos) demuestran que los animales lograron aprender la tarea sin dificultad  $F(4,40) = 3.7$ ,  $p < 0.02$  (Gráfica 13). Los datos estadísticos de la prueba de Inversión, por el contrario, indican que, en las condiciones arriba descritas, los animales no fueron capaces de discriminar entre el sabor asociado previamente con SF y el asociado con CINa (ANOVA aversivo vs no aversivo)  $F(1,10) = 0.2$ ,  $p > 0.05$ , NS (Gráfica 14).

## Histología

Finalizadas las sesiones experimentales los animales fueron perfundidos y sus cerebros analizados de manera similar a la descrita en el experimento anterior (Figuras 6 y 7).

## Discusión

Los datos de este experimento demuestran que el paradigma de AAG a Corto Plazo es un aprendizaje plenamente asumible por animales lesionados, como ya se había demostrado en nuestro laboratorio tras lesiones del Area Postrema (AP) (Arnedo et al., 1990) y del Núcleo Parabraquial Lateral (PBNl) (Agüero, 1990). En concreto, este experimento demuestra que lesiones de la corteza cerebelar y más específicamente, de la zona comprendida alrededor de la Cisura Primaria, no incapacitan a los animales para establecer el aprendizaje a Corto Plazo o, lo que es lo mismo, este paradigma no parece representar una dificultad insalvable para animales con lesiones, ya que aprenden de manera muy similar a como lo hacen animales intactos (Grupos Control de los Experimentos 1a y 2a). Hay que concluir, por tanto, que los diferentes resultados del Experimento 2a y 2b se deben a que la lesión de la O.I. interrumpe específicamente algún sistema anatómico esencial para este paradigma a Corto Plazo.

Una consecuencia adicional que se extrae de los resultados de este experimento entra de lleno en una polémica que dura ya una década dentro del Condicionamiento Clásico (CC). Esta polémica concierne al papel que desempeña la corteza cerebelar en el aprendizaje, en concreto, en el CC de la membrana nictitante. La discrepancia surge ante los diferentes resultados obtenidos tras la lesión del cortex cerebelar. Así, lesiones restringidas al lóbulo simplex (lóbulo HVI) realizadas en el laboratorio de Yeo y colaboradores consiguen eliminar las RCs e impedir su readquisición mientras que Thompson y col., sin embargo, no consiguen replicar estos mismos resultados (McCormick y Thompson, 1984; revisiones en Perret et al., 1993; Hardiman y Yeo, 1992; Lavond et al., 1993).

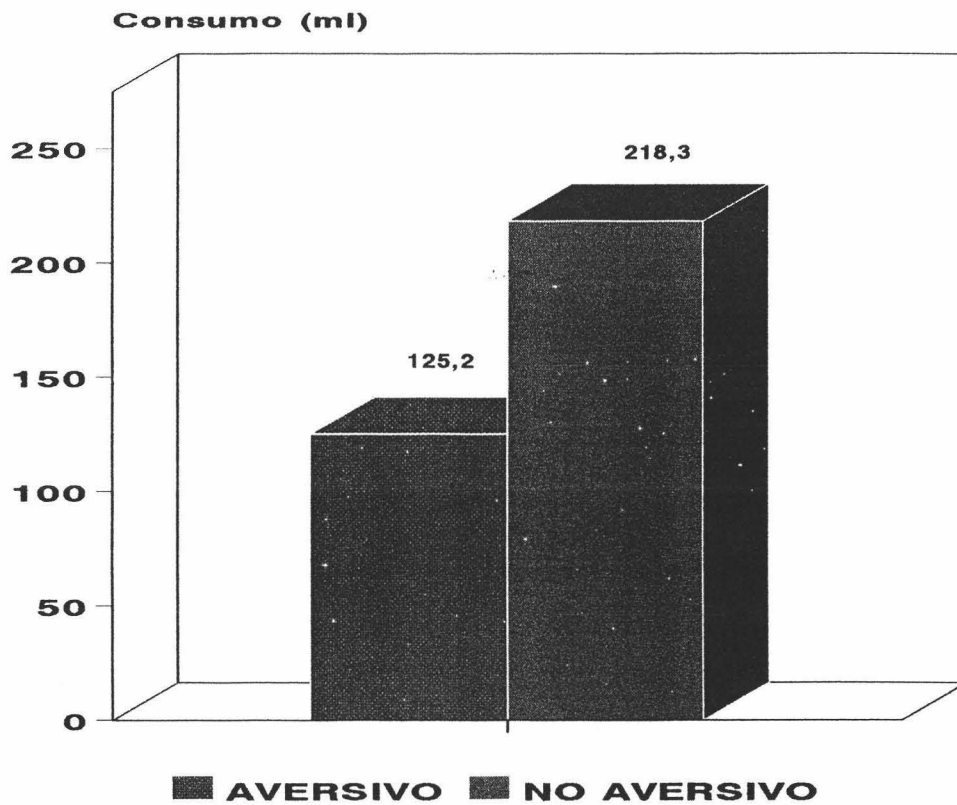
La lesión llevada a cabo en este experimento se localiza en la zona situada alrededor de la Cisura Primaria y comprende los lóbulos V y VI del Vermis. La extensión de dicha lesión en las dimensiones vertical y anteroposterior puede comprobarse en el corte sagital de la figura 3 mientras que la extensión lateral queda reflejada en el corte transversal de la figura 4. La elección de esta zona específica se basa en estudios anatómicos y electrofisiológicos previos que muestran la existencia de información visceral vagal en esta región del vermis (Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Hennemann y Rubia, 1978; Perrin y Crousillat, 1985; Dell y Olson, 1951; Tong et al, 1991). Dado que la integridad de las aferencias vagales es requisito imprescindible para el establecimiento de un AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1993) parecía lógico, por tanto, lesionar precisamente aquella zona de la corteza cerebelar que recibe aferencias vagales. Sin embargo, y a pesar de cumplir aparentemente estas condiciones, nuestras lesiones no eliminaron la capacidad de los animales para establecer la asociación. Las consecuencias de este hecho se analizarán más adelante (ver Discusión general).

Un último aspecto de este estudio estaría relacionado con la prueba de Inversión. En esta prueba, una vez que los animales han aprendido la tarea, se invierten los estímulos gustativos. Como se ha visto anteriormente, esta tarea es realizada correctamente por los animales en el paradigma a Largo Plazo (Inversión del Experimento 2b) pero no lo es así en la tarea a Corto Plazo (Inversión del Experimento 2c). Este resultado descarta, por tanto, el hecho de que en las últimas sesiones, cuando la mayoría de los animales consumen líquido casi exclusivamente de una de las dos buretas, se esté produciendo un aprendizaje según la modalidad a Largo Plazo. Si así fuera, los animales deberían haber realizado correctamente la prueba de Inversión, cosa que no sucede. Una posible interpretación de este proceso es que ahora la tarea es diferente ya que el animal no recibe el estímulo aversivo y, por lo tanto, sería un ejemplo de "state dependence", aprendizaje dependiente del estado. Existiría la



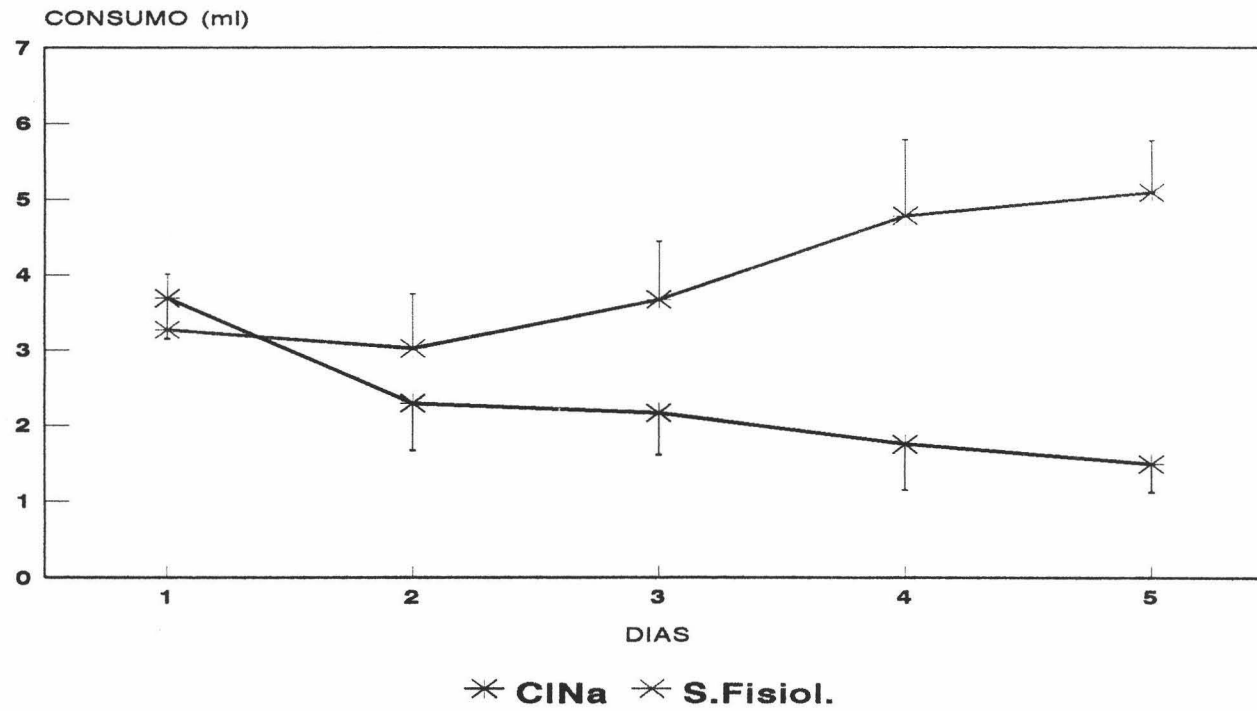
posibilidad poco probable de que esta lesión de la corteza afectara específicamente a la tarea de Inversión pero parece que esto no es así ya que los animales capaces de aprender a Largo Plazo retienen esta capacidad. Una alternativa adicional para la explicación de estos datos es la ofrecida en el Experimento 1c.

## CORTEZA



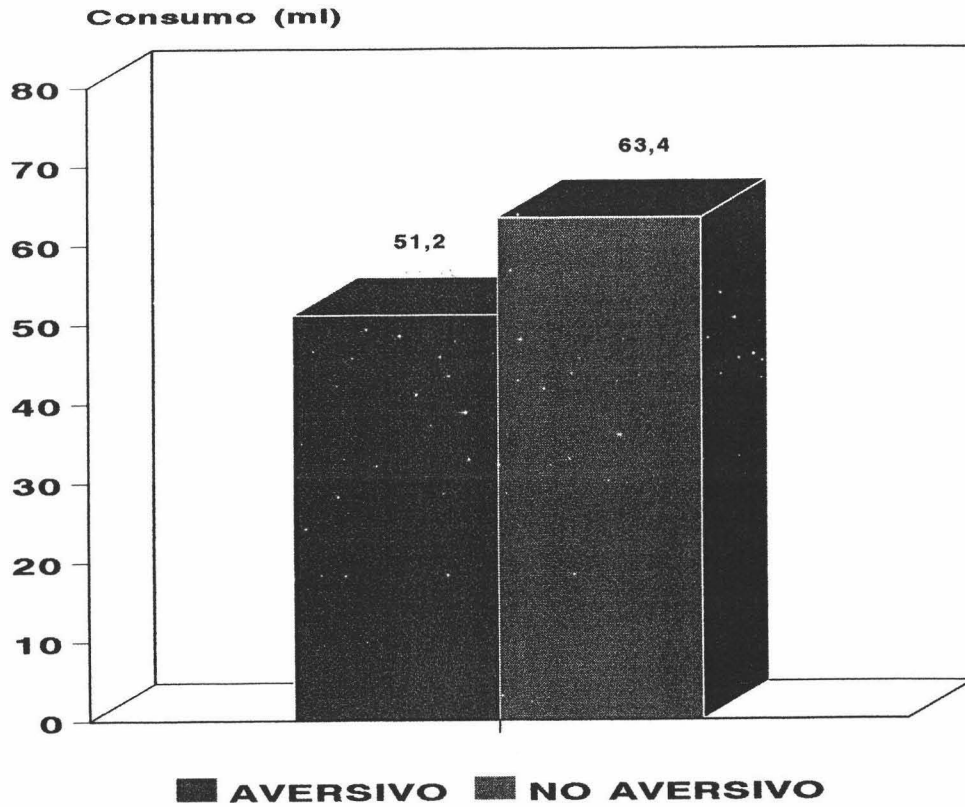
**Gráfica 12.-** Cantidades totales consumidas de los estímulos gustativos asociados a CINA (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en el Experimento 2c.

## CORTEZA



Gráfica 13.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 2c.

# CORTEZA (INVERSION)



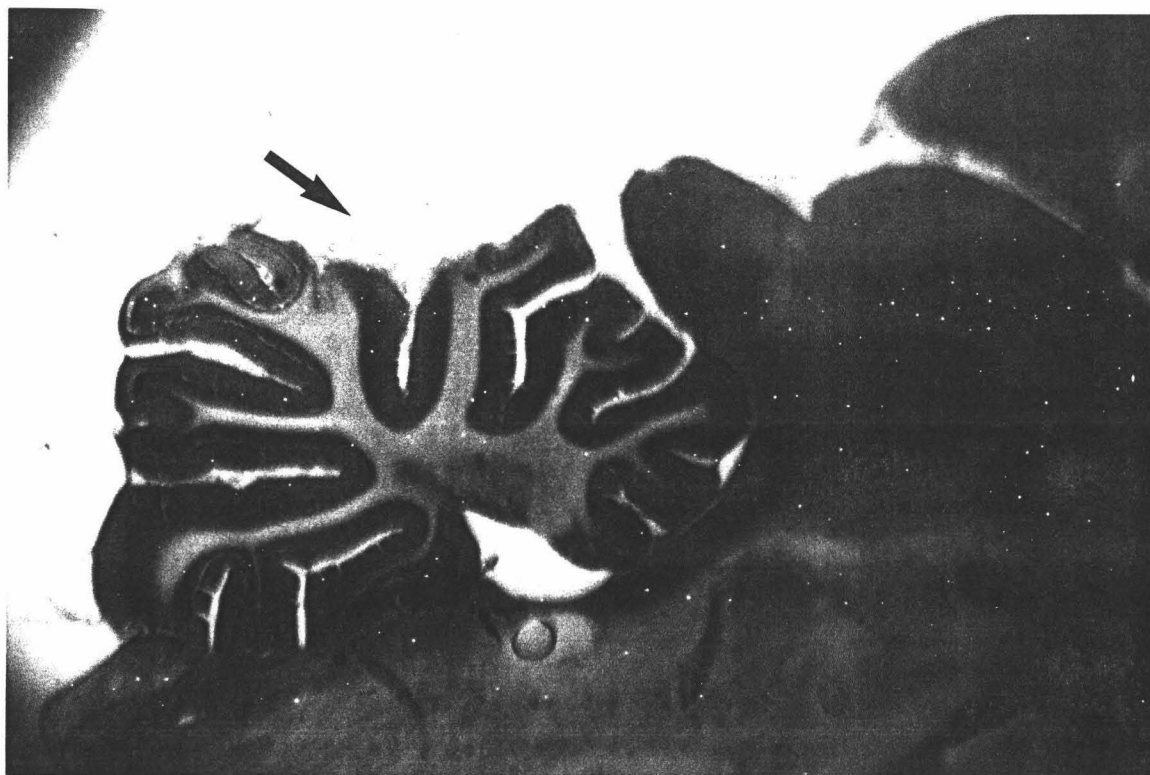
Gráfica 14.- Cantidades medias consumidas de los estímulos gustativos asociados a CINA (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en la Prueba de Inversión del Experimento 2c.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	40.6	36.0	25.2	33.2	23.8	40.4	19.1	52.6	16.4	56.0
$\bar{x}$	3.6	3.2	2.2	3.0	2.1	3.6	1.7	4.7	1.4	1.2
S.D.	1.7	2.4	2.0	2.4	1.8	2.5	1.9	3.3	1.2	2.2

**Tabla XVII.-** Cantidades en ml ingeridas por el grupo lesionado en el cortex cerebelar en las cinco sesiones del paradigma a Corto Plazo.

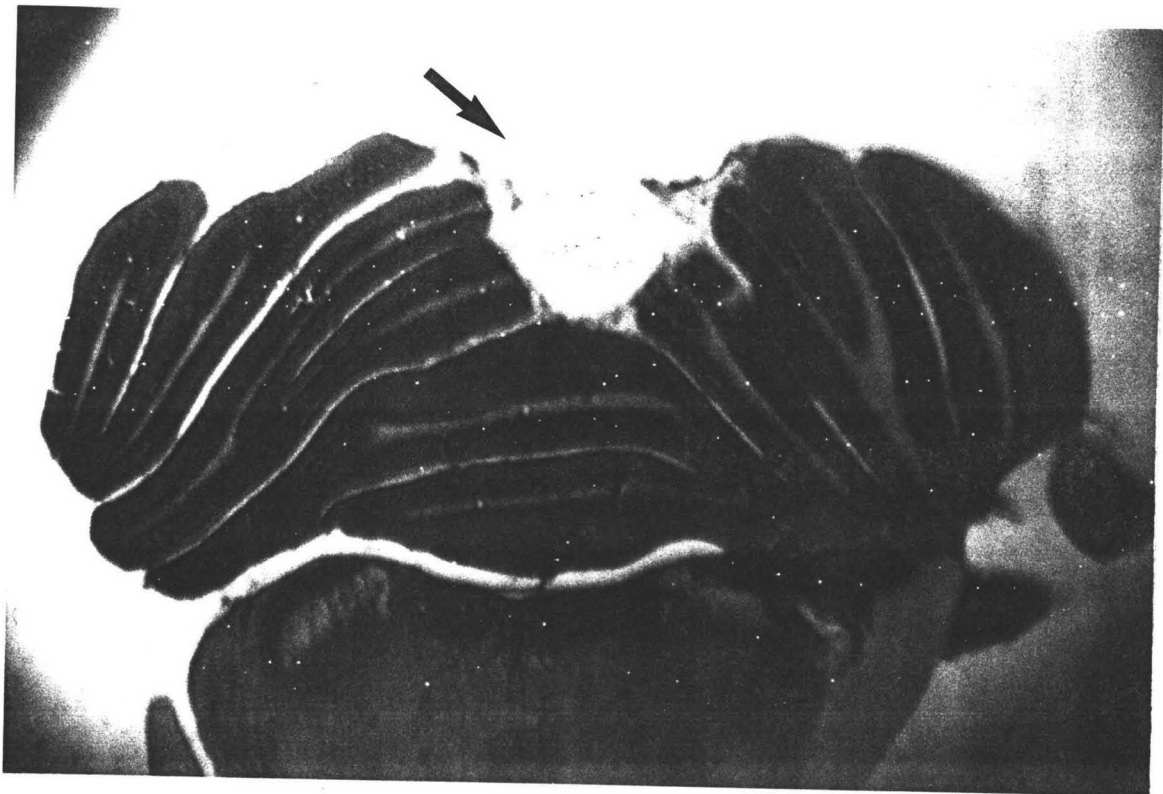
	CINa	S.F.
$\Sigma x$	51.2	63.4
$\bar{x}$	4.6	5.7
S.D.	3.8	4.4

Tabla XVIII.- Cantidades en ml ingeridas por el grupo lesionado en el cortex cerebelar durante la prueba de Inversión.



**Figura 6.-** Sección sagital del Cerebelo donde se aprecia la extensión de la lesión cortical en la dimensión vertical.





**Figura 7.-** Sección transversal del Cerebelo donde se aprecia la extensión de la lesión cortical a ambos lados de la línea media.

## DISCUSIÓN GENERAL

La lesión electrolítica del Núcleo de la Oliva Inferior impide específica y exclusivamente el procedimiento de AAG que llamamos a Corto Plazo caracterizado, como se ha dicho más arriba, por la presentación simultánea del estímulo aversivo visceral (CINa) y el estímulo gustativo. Esa simultaneidad exige rapidez en la transmisión del CINa o, lo que es lo mismo, la utilización de una vía nerviosa para que el malestar gastrointestinal que el producto aversivo provoca pueda ser relacionado con los estímulos gustativos ofrecidos al animal.

En el sistema gastrointestinal, una vía anatómica capacitada para ello es el Nervio Vago. Así, el AAG a Corto Plazo es interrumpido tras vagotomías subdiafragmáticas (Arnedo et al., 1991), vagotomías bulbares (Arnedo et al., 1990) y lesiones electrolíticas de PBNm (Agüero et al., (c), submitted), zona de enlace de la información vagal (Rogers et al., 1979; Hermann y Roger, 1985; Gieroba y Blessing, 1994; Yamamoto et al., 1992; Kobashi et al., 1993).

Dado que esos mismos animales lesionados son capaces de aprender en paradigmas de AAG a Largo Plazo, como demuestra el Experimento 2b, hay que concluir que la lesión de la O.I. no ha interferido en la transmisión de la información gustativa. Igualmente, hay que desechar la posibilidad de que el procedimiento a Corto Plazo conlleve más dificultad y por ello los animales lesionados fracasen en este aprendizaje y no lo hagan en el Largo Plazo. Como demostramos en el Experimento 2c, animales lesionados pueden aprender correctamente un AAG con las exigencias que impone el Corto Plazo. La lesión de O.I. podría haber interrumpido, por tanto, la información visceral que, vía Nervio Vago, debería haber llegado hasta el Cerebelo.

Esta conclusión, además de los datos presentados ahora, tiene otro punto de apoyo en los resultados expuestos en el Capítulo I. En él demostrábamos que la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo podía ser un lugar clave en el establecimiento de un AAG a Corto Plazo ya que su lesión interrumpía dicho aprendizaje. Asimismo, se apuntaba la posibilidad de que el Cerebelo fuera el lugar donde convergieran ambas informaciones, visceral-vagal y gustativa, necesarias para llevar a cabo el aprendizaje.

La intervención del Cerebelo en funciones autonómicas fue ya puesta de manifiesto por Moruzzi en 1940 y se ha visto confirmada por las relaciones existentes entre el Cerebelo y el Hipotálamo. En efecto, existen conexiones recíprocas entre el Hipotálamo lateral y el Núcleo dorsomedial del Hipotálamo por una parte, y el Núcleo Interpósito anterior por otra, posibilitando así la participación del Cerebelo en la regulación de funciones viscerales

(Haines y Dietrichs, 1990). En la misma línea, los trabajos clásicos de Dell y Olson demostraron la existencia de aferencias vagales que tenían su origen en el vermis del Cerebelo, en concreto, alrededor de la Cisura Primaria, entre el lóbulo anterior y el lóbulo simplex (Dell y Olson, 1951). Posteriormente, Hennemann y Rubia (1978) comprobaron que, efectivamente, la estimulación del Nervio Vago elicita respuestas en los lóbulos V y VI del Cerebelo. Además de confirmar los resultados de Dell y Olson, apuntaron la posibilidad de que dichas aferencias vagales fuesen transmitidas mediante fibras trepadoras aunque afirman desconocer cómo estas aferencias alcanzan la O.I. (Hennemann y Rubia, 1978).

Estudios más recientes utilizando tanto métodos de registro (Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985) como marcadores como la peroxidasa (Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988) o anticuerpos de C-Fos (Yousfi-Malki y Puizillout, 1994) confirman a la región olivar como una estación de relevo de aferencias vagales hacia el Cerebelo. Aunque el origen de las fibras vago-olivocerebelares no se conoce con exactitud (Tong et al., 1991), podría residir en el Núcleo del Tracto Solitario ya que existe una proyección directa desde zonas caudales del mismo hacia núcleos olivares ipsilaterales, en concreto, la oliva accesoria dorsal (Loewy y Burton, 1978).

El papel funcional de estas aferencias vagales no ha sido suficientemente aclarado aunque en gatos se les ha relacionado con la actividad visceral que se refleja en la náusea o vómitos (Tong et al., 1991). En esta misma línea podría incluirse la propuesta funcional del presente trabajo, al afirmar que la importancia de las aferencias vagales de la O.I. residen en el hecho de proporcionar al Cerebelo una vía rápida para la información visceral que posibilite el establecimiento de un AAG a Corto Plazo.

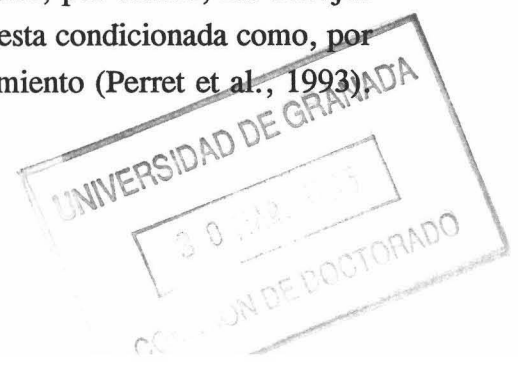
Nuestro trabajo confirmaría asimismo los resultados obtenidos en otros tipos de aprendizajes como, por ejemplo, en aprendizaje espacial (Dahhaoui et al., 1992), y en otras especies como el condicionamiento del reflejo patelar en gatos (Voneida et al., 1990) o el condicionamiento de la membrana nictitante en conejos (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994). Estos estudios han demostrado repetidamente que lesiones similares, electrolíticas y químicas, del complejo olivar han suprimido respuestas condicionadas previamente establecidas e impedido la adquisición de RC nuevas (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994; y revisiones en Glickstein y Yeo, 1990; Glickstein, 1992; y Thompson, 1988). La explicación que se da a este hecho, siguiendo la teoría ya apuntada por Marr (Marr, 1969), es que la destrucción de los núcleos olivares impediría que la información acerca del estímulo incondicionado (soplo corneal o shock periorbital) alcanzara al Cerebelo mediante las fibras trepadoras. Por la misma razón, si en lugar de lesionar se estimula eléctricamente esa zona,

la estimulación actúa como un estímulo incondicionado adecuado para establecer un aprendizaje de este tipo (Thompson, 1988).

Estudios recientes en esta misma línea han confirmado, tanto anatómica como fisiológicamente, la existencia de proyecciones directas desde áreas laterales de los Núcleos Pontinos y desde O.I. dorsal accesoria que alcanzan tanto al lóbulo VI del Cerebelo como al Núcleo Interpósito (Gould et al., 1993; Steinmetz y Sengelaub, 1992; Qvist, 1989). Estos estudios, junto a otros realizados con lesiones, permiten suponer que en el Núcleo Interpósito convergen de forma directa la información del estímulo condicionado y la del incondicionado durante el CC parpebral. De acuerdo con Marr, por tanto, las fibras trepadoras procedentes de O.I. informarían al Cerebelo acerca de un plan general de movimiento mientras que las fibras musgosas procedentes de Núcleos Pontinos le informarían respecto a un contexto específico. Esa información llegaría, como hemos visto, de forma directa tanto al cortex cerebelar como al Núcleo Interpósito. Estos trabajos hacen suponer además que la información vagal existente en la O.I. podría alcanzar la zona nuclear Interpósito-Dentado y no sólo el vermis del Cerebelo.

En nuestro caso concreto, hemos comprobado la participación del Núcleo Interpósito en AAG a Corto Plazo (Experimento 1a), sin embargo, tal y como se desprende del Experimento 2c, no ha sucedido lo mismo con respecto a la corteza. Y ello a pesar de que, como hemos visto más arriba, la corteza cuenta, al menos, con tanta información como los Núcleos Profundos.

Estos datos merecen ser analizados en el contexto de los diferentes resultados que se han obtenido en el CC de la membrana nictitante tras lesiones del cortex cerebelar. Sabemos, por ejemplo, que la aspiración del cortex que incluye el lóbulo HVI y Crus I y Crus II del lóbulo ansiforme impide de manera permanente el condicionamiento establecido antes de la lesión (Yeo y Hardiman, 1992). Lesiones más pequeñas funcionalmente realizadas con Ácido Kaínico en la misma zona (lóbulos HVI y ansiforme) eliminan de manera inmediata y permanente la respuesta condicionada de la membrana nictitante (Hardiman y Yeo, 1992). Estos resultados, sin embargo, difieren claramente de los obtenidos por Thompson y colaboradores (ver revisión en Lavond et al., 1993) ya que tras lesiones similares a las descritas por Yeo y col. la respuesta condicionada sigue manifestándose (McCormick y Thompson, 1984; Woodruff-Pak et al., 1993). Deben mencionarse, por último, los trabajos que tras lesiones corticales interrumpen algún aspecto e la respuesta condicionada como, por ejemplo, la discriminación temporal que subyace al condicionamiento (Perret et al., 1993).



Las tentativas de explicación a resultados tan dispares han sido varias: a) Distinto procedimiento experimental ya que Yeo y col. utilizan alternativamente ruido y luz como EC y un shock como EI, mientras que en el laboratorio de Thompson utilizan un ruido como EC y un soplo como EI; al parecer la luz sería un peor estímulo para establecer este CC (Woodruff-Pak, 1993). b) Tamaño de la lesión porque se ha observado, incluso por Yeo y col., que en algunos animales había una recuperación gradual de la RC coincidiendo con la menor extensión de la lesión y c) Lugar de la lesión ya que quizás no se hayan explorado suficientemente las áreas corticales que podrían estar también implicadas en este aprendizaje motor.

En cualquier caso, las consecuencias que se han extraído de estos estudios también han sido diversas. Así, ha habido posturas integradoras que afirman que el Cerebelo sería esencial en el CC de ciertas respuestas motoras y que el cortex cerebelar jugaría un papel muy importante en ese aprendizaje, aunque en este caso los engramas de memoria estarían representados en múltiples lugares de ese cortex (Thompson, 1986; Thompson, 1991; Lavond et al., 1993; Glickstein, 1992). Otros autores creen más bien que el cortex cerebelar participaría en algún aspecto del aprendizaje (Hesslow, 1994) siendo para unos el lugar donde residiría la plasticidad sináptica para esa respuesta (Perret et al., 1993) pero sin ser, para otros, esencial en la asociación básica (Lavond et al., 1993). Y están, por último, aquellos autores para los que los efectos de las lesiones no significan que el Cerebelo participe en el aprendizaje asociativo; las lesiones para ellos producirían simples déficits en la ejecución de la RC (Harvey et al., 1993).

Teniendo en cuenta toda esta información, no podemos afirmar con rotundidad que la corteza cerebelar no sea necesaria en el establecimiento de un AAG a Corto Plazo, de hecho creemos que cuenta con la maquinaria esencial para ello y que puede haber otras zonas en ese cortex, no comprendidas en nuestra lesión, donde se produzca la necesaria asociación entre la información gustativa y visceral. A todo ello hay que añadir las dificultades técnicas existentes para acceder e intervenir en algunos lugares de la corteza, factores todos ellos que están impidiendo su mejor conocimiento.

CAPITULO III. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LAS AFERENCIAS DEL CEREBELO  
EN EL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO: NÚCLEO PARABRAQUIAL  
LATERAL EXTERNO.



## INTRODUCCIÓN

La presencia de información vagal en el Cerebelo es conocida desde hace tiempo (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978) y en la actualidad existen datos tanto anatómicos como electrofisiológicos que indican que el núcleo de la Oliva Inferior podría ser una estructura intermedia de estas aferencias vagales-cerebelares (Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994). De hecho, la destrucción de la zona olivar interrumpe el AAG a Corto Plazo (Experimento 2a) en el que resulta esencial la integridad de la vía vagal (Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Sin embargo, hasta la fecha, no se conoce la vía anatómica a través de la cual la información vagal llega hasta el núcleo olivar (Hennemann y Rubia, 1978; Tong et al., 1991). Una posibilidad es la proyección directa que cursa desde zonas caudales del Núcleo del Tracto Solitario hasta núcleos olivares ipsilaterales (Loewy y Burton, 1978). Pero otra posibilidad, aún no bien establecida, podría ser la conexión indirecta de la información vagal a través del Núcleo Parabraquial (NPB) pontino. Las posibles relaciones de dicha zona pontina, repetidamente implicada en AAG (Flynn, et al., 1991; Spector et al., 1992; Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., 1993a y b) y el Cerebelo merecían ser estudiadas, sobre todo, teniendo en cuenta que los trabajos realizados hasta la fecha en el NPB no dejan de ser controvertidos.

El NPB se divide en dos zonas principales habitualmente denominadas parabraquial lateral (NPBl) y medial (NPBm). Aunque la distinción entre lateral y medial surgió a partir de la disposición anatómica de los distintos subnúcleos del NPB alrededor del Pedúnculo Cerebeloso Superior (Brachium Conjunctivum) en el hombre, suele aceptarse también para otras especies incluida la rata. Sin embargo, la distinta orientación del Pedúnculo Cerebeloso Superior en estos animales respecto del hombre hacen que los términos citoarquitectónicos lateral y medial no coincidan exactamente con su disposición estereotáctica, situándose los subnúcleos denominados mediales ventromedialmente en el plano estereotáxico con respecto al brachium conjunctivum mientras que los subnúcleos denominados citoarquitectónicamente laterales aparecen dorsolaterales al braquium conjunctivum en el plano estereotáxico (Fulwiler y Saper, 1984; Bechara et al., 1993). Pero puesto que los términos lateral y medial son ampliamente aceptados serán los que utilizemos aquí.

A esta distinción topográfica de las partes mediales y laterales del NPB se suma el hecho de que ambas zonas poseen conexiones anatómicas diferentes (Fulwiler y Saper, 1984) y, al parecer, distinta funcionalidad (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Bechara et al., 1993). En general, puede afirmarse que las zonas más mediales reciben información desde

zonas rostrales (gustativas) del Núcleo del Tracto Solitario (NTS) (Norgren y Leonard, 1971) y estarían, por tanto, relacionadas con la transmisión de información gustativa (Hermann y Rogers, 1985), de ahí que se les denomine "área gustativa pontina" (Norgren y Pfaffmann, 1975). Esta zona recibiría también aferencias vagales como han puesto de manifiesto tanto estudios electrofisiológicos (Rogers et al., 1979; Hermann y Rogers, 1985) como conductuales (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., submitted). En zonas mediales del NPB existe, por tanto, convergencia de fibras vagales y gustativas (Hermann y Rogers, 1985). En cuanto al NPBL parece participar fundamentalmente en funciones relacionadas con información de tipo visceral que recibe tanto de zonas caudales del NTS (Ricardo y Koh, 1978; Kobashi et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985) como desde el Area Postrema (AP) (Yamamoto et al., 1992; Lança y Van der Kooy, 1985).

En este contexto, estudios recientes han demostrado que manipulaciones de índole visceral, tales como administración de diversos productos o estimulación del Nervio Vago, han influido de manera expresa en una zona del NPBL, el subnúcleo externo (NPBLE) (Bernard et al., 1994; Hochstenbach et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Kobashi et al., 1993; Yamamoto et al., 1992; Yamamoto et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985; Gu et al., 1993).

Pero, además de contar con información vagal, el Núcleo Lateral externo (NPBLE) también recibe información visceral humoral desde el Area Postrema, ya que responde ante la administración de CILi y dicha respuesta no desaparece totalmente tras la realización de vagotomía (Yamamoto et al., 1992).

La presencia en el NPBLE de ambos tipos de información visceral, vagal y humoral, nos llevaron a concretar el estudio del NPB a este subnúcleo, estudio que nos planteamos de la siguiente forma: Si el Núcleo Parabraquial Lateral externo cuenta con información vagal, como se desprende de los estudios citados anteriormente, la eliminación de esta zona debería impedir, por tanto, el establecimiento de un AAG a Corto Plazo que, como hemos dicho más arriba, necesita de la integridad de la vía vagal. Si este núcleo pontino, por otra parte, cuenta con información visceral humoral (Yamamoto et al., 1992), su lesión incapacitaría a los animales lesionados para establecer un AAG denominado a Largo Plazo que se caracteriza por el hecho de que entre la presentación del estímulo gustativo y la del visceral aversivo (CILi) existe una demora de 15 minutos. En este paradigma de AAG no es, por tanto, tan esencial la rapidez en la transmisión del estímulo visceral pudiendo utilizar dicha información un camino alternativo como es la vía humoral (Arnedo et al., 1991; Gallo et al., 1991; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Agüero et al., 1993a y b).



## N. PARABRAQUIAL

La siguiente serie experimental pretendía pues averiguar con exactitud el tipo de información con que contaba este núcleo, su funcionalidad, su papel en AAG y su posible relación con el Cerebelo. Para ello, y considerando los resultados obtenidos en estudios previos (Agüero et al., 1993a y b), manipularíamos el tamaño de la lesión como una variable de la que podrían depender los distintos componentes conductuales.

## EXPERIMENTO 3

### **Aprendizaje Aversivo Gustativo y Núcleo Parabraquial Lateral Externo: Consecuencias conductuales en función de la extensión de la lesión electrolítica.**

#### **Introducción**

El Núcleo Parabraquial lateral externo (NPBL<sub>e</sub>) es un subnúcleo del Núcleo Parabraquial lateral (NPBL) que se extiende caudalmente casi hasta el punto donde la expansión lateral del Pedúnculo Cerebeloso Superior (PCS) conecta con la superficie dorsal del Puente. A lo largo de toda su extensión, este núcleo rodea el lado dorsolateral del PCS lindando con neuronas del NPBL<sub>m</sub> que rodean el lado ventrolateral del PCS (Fulwiler y Saper, 1984). Si efectivamente el NPBL<sub>e</sub> cuenta con información vagal (Bernard et al., 1994; Hochstenbach et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Gu et al., 1993; Kobashi et al., 1993; Yamamoto et al., 1992; Yamamoto et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985), cabe suponer que su lesión debería tener consecuencias comportamentales anaálogas a las que se observan tras la lesión a distintos niveles del Nervio Vago (Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993), del Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.) (Experimento 2a) y del Núcleo Interpósito del Cerebelo (Experimento 1a). Esto es, la lesión del NPBL<sub>e</sub>, bien por destrucción de cuerpos celulares o por vías de paso (aspecto que no ha sido determinado en este experimento) debería impedir el AAG a Corto Plazo, que requiere la integridad de la vía vagal, pero no interrumpiría el AAG a Largo Plazo cuyo establecimiento es independiente de dicha vía (Martin et al., 1978; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1990).

Sin embargo, estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado también que lesiones amplias del Núcleo Parabraquial, aunque en posiciones algo más dorsolaterales, interrumpen el AAG a Largo Plazo inducido tanto por CILi como por estimulación del Area Postrema (Agüero et al., 1993a y b), pero no alteran el AAG a Corto Plazo (Agüero, 1990).

Con el fin de diferenciar estas dos alternativas, se ha llevado a cabo el presente experimento utilizando un Grupo Control y tres grupos lesionados en los que se cambia el tamaño de la lesión efectuada, una más restringida al PBL<sub>e</sub> (3a) y las otras dos más amplias (3b y 3c), aunque en todos los casos se utilizan las mismas coordenadas estereotáxicas.

**Método**

## SUJETOS

Los sujetos fueron 39 ratas macho de la raza Wistar suministradas por el Animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos al principio del experimento se situaban entre 250-310 gr. Todos los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos, colocados individualmente y mantenidos en las condiciones de adaptación ya descritas.

## PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

*Lesión Electrolítica del Núcleo Parabraquial Lateral Externo (NPBLE)*

Bajo anestesia con pentotal sódico (Tiopental sódico, Lab. Abbott) i.p. a una dosis de 50 mg/Kg. y en la zona correspondiente a las coordenadas anteroposterior y lateral, se procedió a introducir el electrodo hasta un punto determinado por la coordenada vertical. Allí se aplicó bilateralmente y, en el Grupo 3a, durante 10 segundos, una corriente continua catódica de 0.8 Ma, suministrada por un generador de lesiones modelo DCML-5 (Grass Instruments Corp., Quincy, Mass, USA). Los parámetros de lesión en los Grupos Experimentales 3b y 3c fueron 1.5 Ma de intensidad administrada durante 15 segundos.

En todos los grupos experimentales las coordenadas estereotáxicas utilizadas para realizar la lesión se basan en el atlas estereotáxico de Paxinos (Paxinos y Watson, 1986) y fueron:

$$A-P : - 0.16 \quad L : \pm 2.5 \quad V : + 3$$

El Grupo Control con falsa lesión recibió un tratamiento similar pero, en su caso, la coordenada vertical donde se situó el electrodo fue de +4 y no hubo paso de corriente a través del mismo.

*Implantación de dos Fístulas Intragástricas*

Una vez realizada la operación a nivel central, se procede a implantar los dos catéteres

intragátricos de manera idéntica a como se llevó a cabo en los experimentos anteriores.

*Período de recuperación:* Finalizado el proceso quirúrgico, los animales son devueltos a sus jaulas, con comida y agua ad libitum, concediéndoseles un período de recuperación de 8-10 días. En el transcurso de este período dos animales del Grupo 3a murieron y uno del Grupo Control tuvo que ser eliminado por pérdida de una de las fístulas intragástricas, quedando los distintos grupos como sigue: grupo 3a = 11; Grupo 3b = 10; Grupo 3c = 8; Grupo Control = 7. Con todos ellos se procedió al Período de preentrenamiento que consiste, como siempre, en la presentación simultánea de dos buretas conteniendo agua, de manera que los animales beban indistintamente de una y otra (tres días).

#### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Como ya se ha indicado, se emplean ambos procedimientos de adquisición, a Corto y a Largo Plazo, de la forma descrita en los capítulos anteriores (ver Diagramas IV y V). Como norma general, cuando los mismos animales pasaban por estos dos paradigmas (Grupos 3a y 3b y Grupo Control), los estímulos gustativos presentados en el primer procedimiento no se utilizaban para el segundo. Además, entre la administración de uno y otro paradigma se permitía a los animales un mínimo de 48 horas con comida y agua ad libitum.

En el caso del procedimiento a Largo Plazo, puesto que este paradigma de aprendizaje puede ser establecido en tan sólo una sesión experimental (Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Experimento 2b de esta Tesis), en el Grupo 3b y en el Grupo Control se comprobó el nivel de aprendizaje tras un ensayo (dos sesiones) y tras dos ensayos (cuatro sesiones). En definitiva, el procedimiento experimental completo en estos dos grupos se realizó tal y como se refleja en el Diagrama VI.

#### Resultados

Los datos del Grupo 3a en el que se utilizó en primer lugar el paradigma a Largo Plazo (Gráfica 15) fueron analizados con una ANOVA (Condición aversiva vs no aversiva), resultando claramente significativos  $F(1,10) = 72.21$ ,  $p < 0.0001$ . Con respecto al paradigma a Corto Plazo (se llevó a cabo con un animal menos que hubo que eliminar por pérdida de un catéter), los datos aparecen reflejados en la Gráfica 16 y en ella se aprecia que los animales no cumplen el requisito previo de aprendizaje. Efectivamente, sometiendo a los

datos a un análisis de varianza, ANOVA (Droga x ensayos), no se aprecian diferencias significativas entre las cantidades consumidas de uno y otro estímulo gustativo a lo largo de las cinco sesiones experimentales  $F(4,36) = 0.7, p > 0.05, NS$  (Gráfica 17).

Los datos del Grupo 3b y del Grupo Control en el paradigma a Corto Plazo pueden verse en la Gráfica 18. Los animales experimentales fueron incapaces de realizar correctamente la asociación entre el estímulo gustativo y el estímulo visceral aversivo como pone de manifiesto el análisis de varianza realizado (ANOVA droga x ensayos)  $F(4,36) = 1.2, p > 0.05, NS$  (Gráfica 19). Por el contrario, los animales del Grupo Control con falsa lesión consiguieron plenamente el criterio de aprendizaje, consumiendo mayor cantidad del estímulo gustativo asociado a la administración del producto inocuo (SFI),  $F(4,24) = 6.35, p < 0.002$  (Gráfica 20).

En cuanto a los resultados de estos dos grupos (3b y falsamente lesionado) en el paradigma a Largo Plazo, demuestran que una única sesión experimental no fue suficiente para que los animales lesionados aprendieran a evitar el sabor asociado con la administración de CILi,  $F(1,9) = 1.09, p > 0.05, NS$ . Esa única sesión bastó, sin embargo, a los animales falsamente lesionados para aprender  $F(1,6) = 178.69, p < 0.0001$ . Sometidos a una segunda sesión experimental, ambos grupos de animales, tanto el 3b  $F(1,9) = 11.43, p < 0.01$ , como el Control  $F(1,6) = 344.54, p < 0.0001$ , consiguen establecer la asociación. Las cantidades totales consumidas por ambos grupos fueron similares: Grupo 3b:  $\bar{x} = 9.47$  en el Test 1 y  $\bar{x} = 10.56$  en el Test 2; Grupo Control:  $\bar{x} = 7.98$  en el Test 1 y  $\bar{x} = 10.38$  en el Test 2 (Gráfica 21).

Por último, los datos del Grupo 3c sometido exclusivamente a un paradigma a Largo Plazo muestran que la comparación entre la ingesta del estímulo gustativo asociado a la administración de CILi y la ingesta del sabor asociado al SFI no resulta significativa  $F(1,7) = 1.66, p > 0.05, NS$  (Gráfica 22). Hay que concluir, por tanto, que los animales no han aprendido.

## Histología

Todos los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentotal sódico y perfundidos intracardialmente con 10 ml de suero salino isotónico seguido por formaldehído al 10%. Extraídos los cerebros, se introducen en formaldehído para su posterior laminación y exámen microscópico.

El análisis histológico confirmó la existencia de lesiones bilaterales restringidas al NPBL<sub>e</sub> en los animales del Grupo 3a. Los límites laterales y verticales de la lesión pueden apreciarse en la Figura 8a. En la dimensión anteroposterior, el tamaño de la lesión fue de aproximadamente 300 micras.

El análisis histológico reveló asimismo que las lesiones de los animales del Grupo 3b (Figura 8b) incluyen en todos los casos al Núcleo Parabraquial Lateral externo, al Núcleo Parabraquial Lateral central (NPBL<sub>c</sub>) y también, en cierta medida, al Núcleo Parabraquial dorsal (NPBL<sub>d</sub>). En ningún caso las lesiones fueron tan ventrales como para afectar al Núcleo Parabraquial Medial externo (NPBL<sub>me</sub>). Anteroposteriormente, las lesiones tuvieron una extensión aproximada de 600 micras. Las lesiones del Grupo 3c afectan a una zona similar del NPBL como cabría esperar ya que se realizaron con los mismos parámetros de lesión (Figura 8c).

### Discusión

Esta serie experimental demuestra que distintos subnúcleos del Núcleo Parabraquial Lateral (NPBL) podrían intervenir en el Aprendizaje Aversivo Gustativo (AAG) de muy diversas maneras al tiempo que el tamaño de la lesión podría tener, por tanto, consecuencias comportamentales distintas. En concreto, estos datos demuestran que las lesiones del Núcleo Parabraquial Lateral externo (NPBL<sub>e</sub>) impiden una modalidad específica de AAG denominada a Corto Plazo (Grupos 3a y 3b), independientemente del orden de realización de las tareas (Corto / Largo Plazo). Estudios previos han comprobado que en este paradigma de AAG es el Nervio Vago el sustrato biológico esencial encargado de transmitir el estímulo visceral aversivo, CINA hipertónico (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Es igualmente compatible con estudios realizados con técnicas histoquímicas (C-fos) que han mostrado que en el NPBL<sub>e</sub> existen células que responden a la administración intragástrica (Kobashi et al., 1993) o intraperitoneal de CINA (Yamamoto et al., 1992). Por último, existe asimismo constancia de la presencia de aferencias vagales en el NPBL (Hermann y Rogers, 1985).

Por otra parte, este experimento parece descartar, en principio, la participación del NPBL<sub>e</sub> en la modalidad de AAG a Largo Plazo inducido por la administración de CILi (Grupo 3a) y ello a pesar de que esta zona posee células que reaccionan ante la presencia de CILi administrado tanto intraperitonealmente como intravenosamente (Yamamoto et al.,



1992). El CILi, producto utilizado frecuentemente en AAG como agente aversivo, se transmite preferentemente por vía sistémica y es detectado por el Area Postrema (AP) (Ritter et al., 1980). Por este motivo, las lesiones de AP impiden el AAG establecido con CILi (Bernstein et al., 1992; Ritter et al., 1980). La información visceral humoral que AP detecta podría alcanzar al NPBL de dos maneras: una indirecta a través de las conexiones que mantiene con zonas caudales del NTS (Strominger et al., 1994; Koga y Fukuda, 1992) que a su vez proyectan al NPBL (Ricardo y Koh, 1978; Kobashi et al., 1993), y otra que alcanza el núcleo pontino directamente (Yamamoto et al., 1992; Lança y Van der Kooy, 1985). La existencia de estas rutas anatómicas, de células específicas para el CILi en el NPBL e y de estudios con lesiones en zonas laterales del NPBL que interrumpían el AAG con CILi (Agüero et al., 1993a) hacían pensar que el subnúcleo lateral externo del Parabraquial podría formar parte del circuito anatómico encargado de la transmisión del estímulo aversivo en el paradigma de AAG a Largo Plazo.

A pesar de toda esta evidencia, los datos de este experimento (Grupo 3a) no apoyan la participación del Núcleo Parabraquial Lateral externo en el AAG a Largo Plazo ni probablemente en el eje circulatorio-AP-NPBL. No debe olvidarse, sin embargo, que las lesiones del Grupo 3a eran mucho más restringidas que en el resto de los estudios. Este hecho y la existencia de células activas ante la presencia de CILi en otros subnúcleos del Parabraquial Lateral (Yamamoto et al., 1992) nos obligaba a ampliar la zona de lesión. Al hacerlo así, se comprueba que estas lesiones impiden (Grupo 3c) o cuando menos deterioran (Grupo 3b) el AAG a Largo Plazo con administración de CILi. Estos resultados reproducen estudios conductuales previos (Agüero et al., 1993a) y apoyan la existencia en otros subnúcleos del Núcleo Parabraquial de información sensorial necesaria para el establecimiento de AAG a Largo Plazo (Yamamoto et al., 1992; Li y Rowland, 1993).

Recientemente, Bechara, Van der Kooy y colaboradores, en su intento por dilucidar distintas vías de transmisión para los efectos reforzantes y aversivos de los opiáceos, han demostrado que las lesiones del NPBL impiden el establecimiento de un AAG inducido por morfina pero no lo impiden utilizando CILi ni lesionando el NPBLm, proponiendo que la transmisión de los efectos aversivos de los opiáceos se produce mediante la vía Nervio Vago-NTS-NPBL (Bechara et al., 1993). El hecho de que estos autores no interrumpen el AAG tras lesiones en el NPBL podría explicarse porque la zona afectada, que prácticamente incluye a toda la extensión lateral del Parabraquial, parece no haber destruido completamente el Núcleo central lateral (NPBLc) contando entonces los animales lesionados con información visceral suficiente para lograr el aprendizaje. Si esta explicación fuese correcta, habría que concluir que para que un AAG a Largo Plazo con CILi tenga lugar se requiere un NPBLc



intacto. Alternativamente, y en caso de lesión de este núcleo, cabría la posibilidad de establecer dicho aprendizaje contando tan sólo con la información que proporcionase el NPBLc. Esta posibilidad no se ha estudiado en la presente serie experimental.

Además, la probable existencia de aferencias gustativas en el NPBLc (Fulwiler y Saper, 1984) abre otra interrogante y es la posibilidad de que con lesiones amplias se interfiera con la transmisión del otro estímulo requerido para lograr el aprendizaje, esto es, el gusto. Pero el hecho de que en ocasiones los animales con lesiones en dicho núcleo logren finalmente el aprendizaje (Grupo 3b) parece indicar que cuentan con información gustativa suficiente, ya que en este paradigma a Largo Plazo, la demora utilizada (15 minutos) elimina la posibilidad de que la asociación se haya establecido utilizando índices distintos al gusto, esto es, posición de las bureta, olfato, etc. (Panhuber, 1982; García, 1989; Bermudez-Rattoni et al., 1989). Hay que descartar asimismo que la lesión haya afectado al núcleo medial externo, que recibe inputs gustativos (Fulwiler y Saper, 1984) porque las lesiones en ningún caso fueron tan ventrales como para afectar a dicho núcleo.

Tampoco cabe atribuir los resultados obtenidos en los Grupos 3b y 3c a una incapacidad generalizada de los animales a consecuencia de la lesión ya que, además de una apariencia normal, consumen cantidades de líquido similares a las de los controles (Gráficas 24-27). De hecho, las lesiones de zonas laterales del NPB podrían incluso incrementar la ingesta (Bechara et al., 1993) ya que se le ha relacionado con aspectos nutricionales (Li y Rowland, 1993).

En cuanto a las relaciones que el NPB mantiene con el Cerebelo, parece demostrado, al menos en gatos y ovejas, que fibras procedentes del núcleo pontino alcanzan el vermis, la parte anterior del lóbulo paramedial y el paraflóculo ventral (Somana y Walberg, 1979b; Saigal et al., 1980). De estas aferencias cerebelares, la mayor parte proceden del Parabraquial Lateral, en concreto, de una zona que podría corresponder con el lateral externo (NPBLc) (Somana y Walber, 1979b). Pero, aunque en menor número, también existen proyecciones desde zonas mediales del Parabraquial (Somana y Walberg, 1979b) que podrían ser el origen de la información gustativa que otros autores han localizado en el Cerebelo (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986). En cuanto a la función que tendrían las aferencias cerebelares procedentes del Parabraquial Lateral es algo que no podemos deducir a partir de los datos presentados aquí. El Cerebelo cuenta con abundante información visceral vagal (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978) pero parece comprobado que el origen de esas aferencias vagales sería el Núcleo de la Oliva Inferior (Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru

et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988). Cómo alcanza la vía vagal a la zona olivar es algo que se desconoce (Tong et al., 1991) y si procede o no del NPBL está aún por determinar.

En resumen, existen pruebas de que el Nervio Vago es la vía de transmisión para el estímulo visceral en el paradigma de AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Este mismo paradigma de aprendizaje se interrumpe tras lesiones en el NPBm (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., 1993), en el NPBL (Grupos 3a y 3b del presente experimento), en el Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.) (Experimento 2a) y en la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo (Experimento 1a). Asimismo, existe abundante información de la existencia de aferencias vagales en todas estas estructuras nerviosas, en el NPBm (Rogers et al., 1979; Hermann y Roger, 1985), en el NPBL (Gu et al., 1993; Bernard et al., 1994; Hochstenbach et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Kobashi et al., 1993; Yamamoto et al., 1992; Yamamoto et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985), en O.I. (Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994) y en el Cerebelo (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978). A partir de todos estos datos puede concluirse que las aferencias vagales que tienen su primer relevo en el NTS (Knox et al., 1994; Gu et al., 1993; Kobashi y Adachi, 1986; Kobashi et al., 1993; Cecheto, 1987), alcanzan también al NPBL y desde aquí, bien directamente o bien a través de O.I., llegarían hasta el Cerebelo.

Sesiones	Sujetos	Estímulos Gust.	
	1 - 5	6 - 11	
Día 1	CILi	SF	Fresa izquierda
Día 2	SF	CILi	Coco derecha
Día 3	CILi	SF	Fresa izquierda
Día 4	SF	CILi	Coco derecha

Día 5 Test	Fresa / Coco Izquierda / Derecha
---------------	-------------------------------------

**Diagrama IV.-** Esquema del procedimiento seguido en la prueba de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo, con administración de CILi y Suero Fisiológico y dos ensayos (cuatro sesiones).

Sujetos

1 - 5		6 - 10	
Vi	Ld	Vi	Ld
CINa	SF	SF	CINa

**Diagrama V.-** Esquema del procedimiento seguido en el paradigma de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo, con la administración simultánea de CINa y Suero Fisiológico (SF). Vi = Vainilla a la izquierda; Ld = Limón a la derecha.

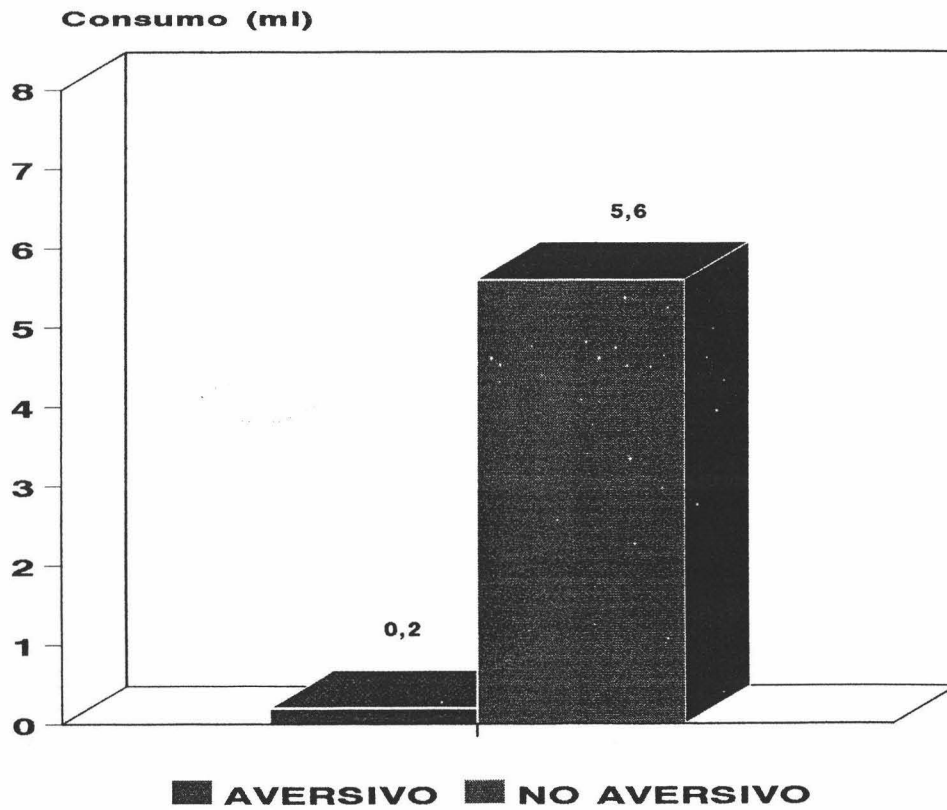
Sesiones      Sujetos      Estímulos Gust.

	1 - 5	6 - 10	
Día 1	CILi	SF	Vainilla izquierda
Día 2	SF	CILi	Limón derecha
Día 3 Test 1	Vainilla / Limón Izquierda / Derecha		
Día 4	CILi	SF	Vainilla izquierda
Día 5	SF	CILi	Limón derecha
Día 6 Test 2	Vainilla / Limón Izquierda / Derecha		

**Diagrama VI.-** Esquema del procedimiento seguido con el Grupo 3b y el Grupo Control en la prueba de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo, con administración de CILi y Suero Fisiológico.

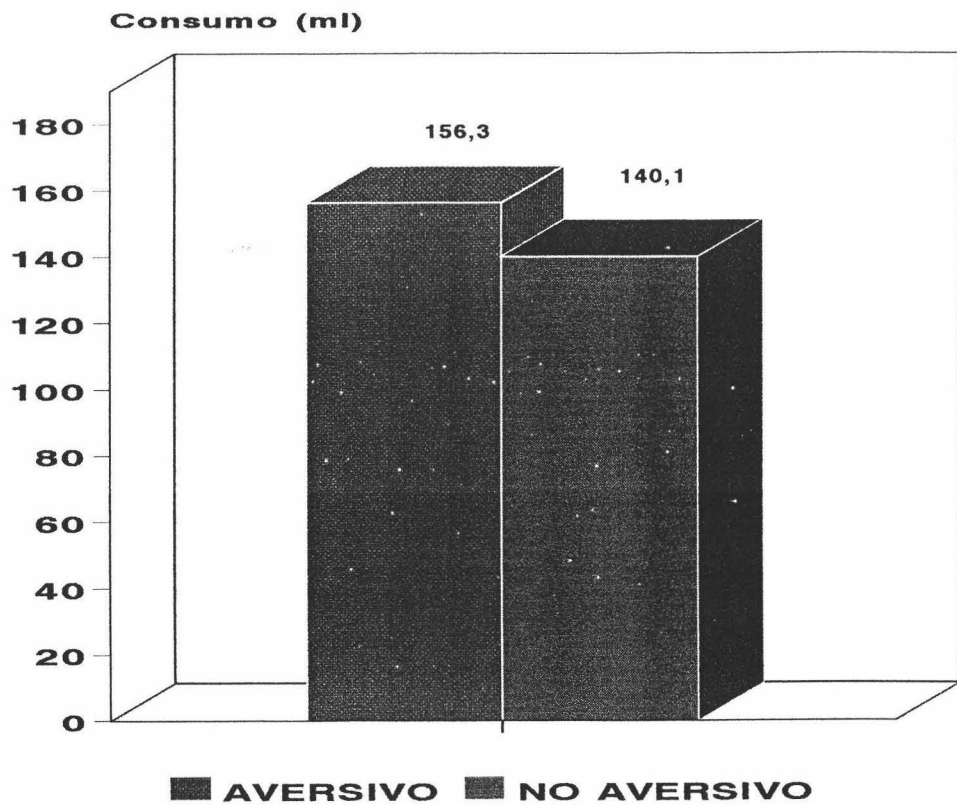
# N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

## LARGO PLAZO



Gráfica 15.- Cantidades medias consumidas por los animales del Grupo 3a (n = 11) durante la prueba de AAG a Largo Plazo.

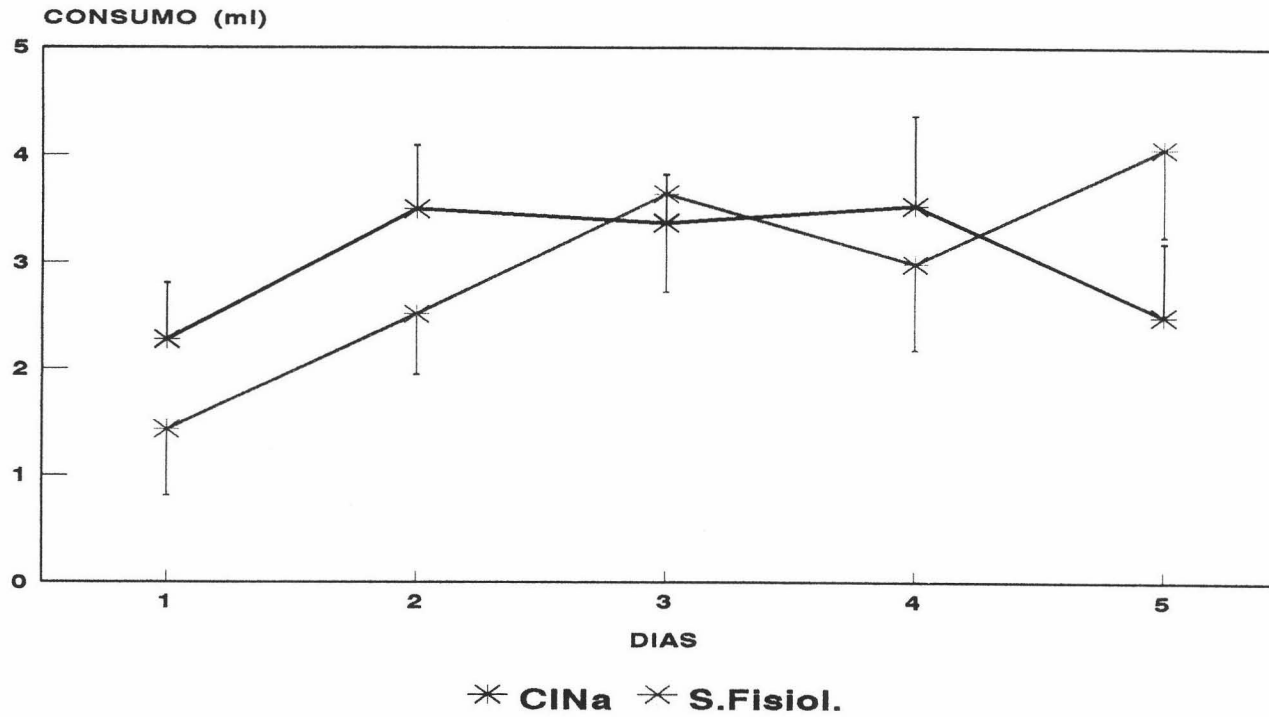
## N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO CORTO PLAZO



**Gráfica 16.-** Cantidades totales consumidas por los animales del Grupo.3a (n = 10) de los estímulos gustativos asociados a ClNa (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en el paradigma a Corto Plazo.

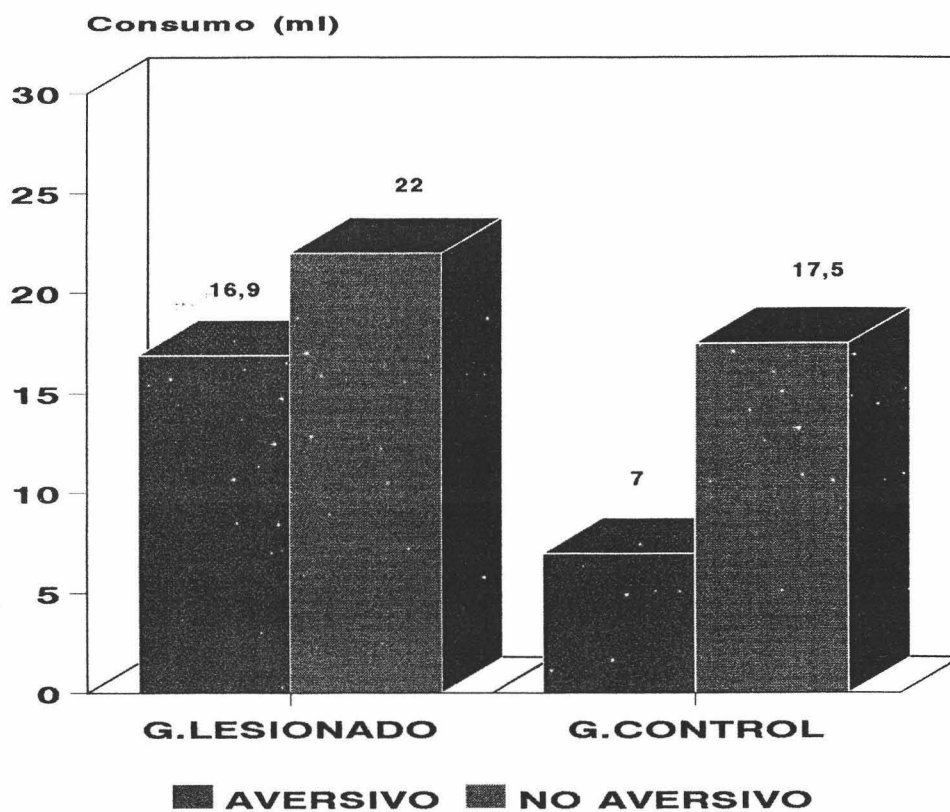


## N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO



**Gráfica 17.-** Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas en las diferentes sesiones experimentales del paradigma a Corto Plazo por el Grupo 3a (n = 10).

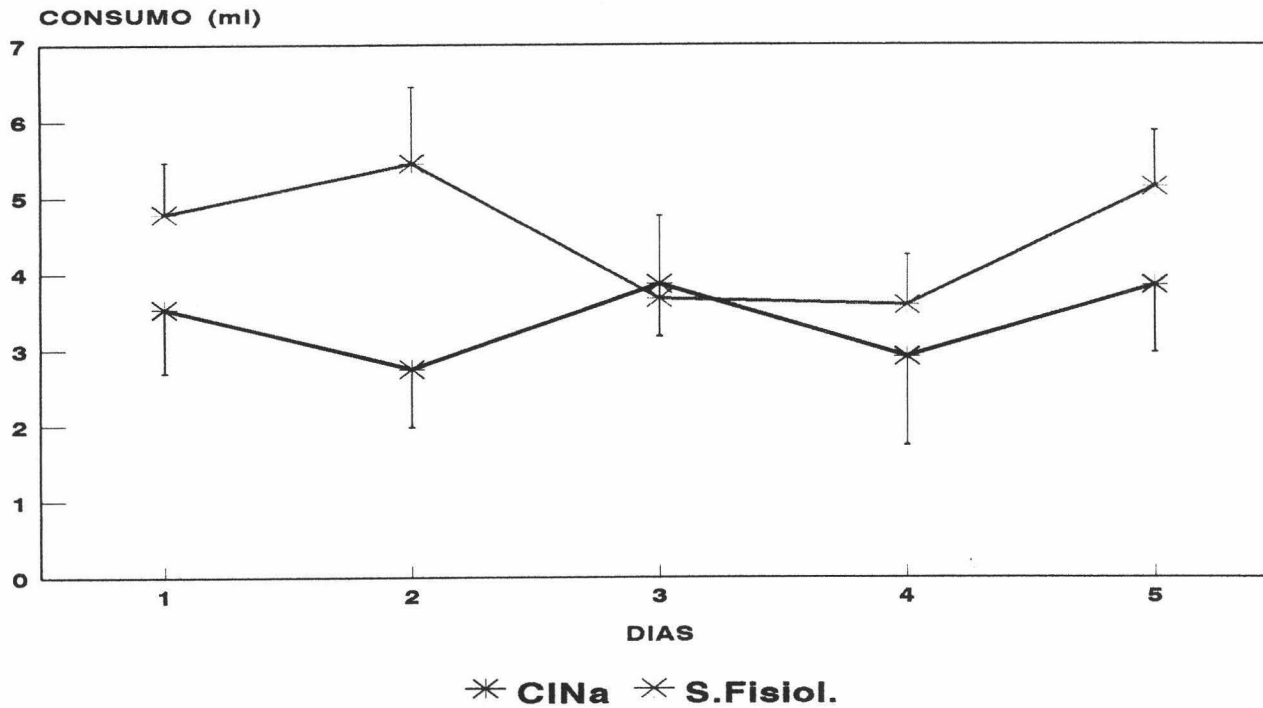
## N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO



Gráfica 18.- Cantidades medias consumidas por el Grupo 3b (n = 10) y por el Grupo Control (n = 7) de los estímulos gustativos asociados a ClNa (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo).

# PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

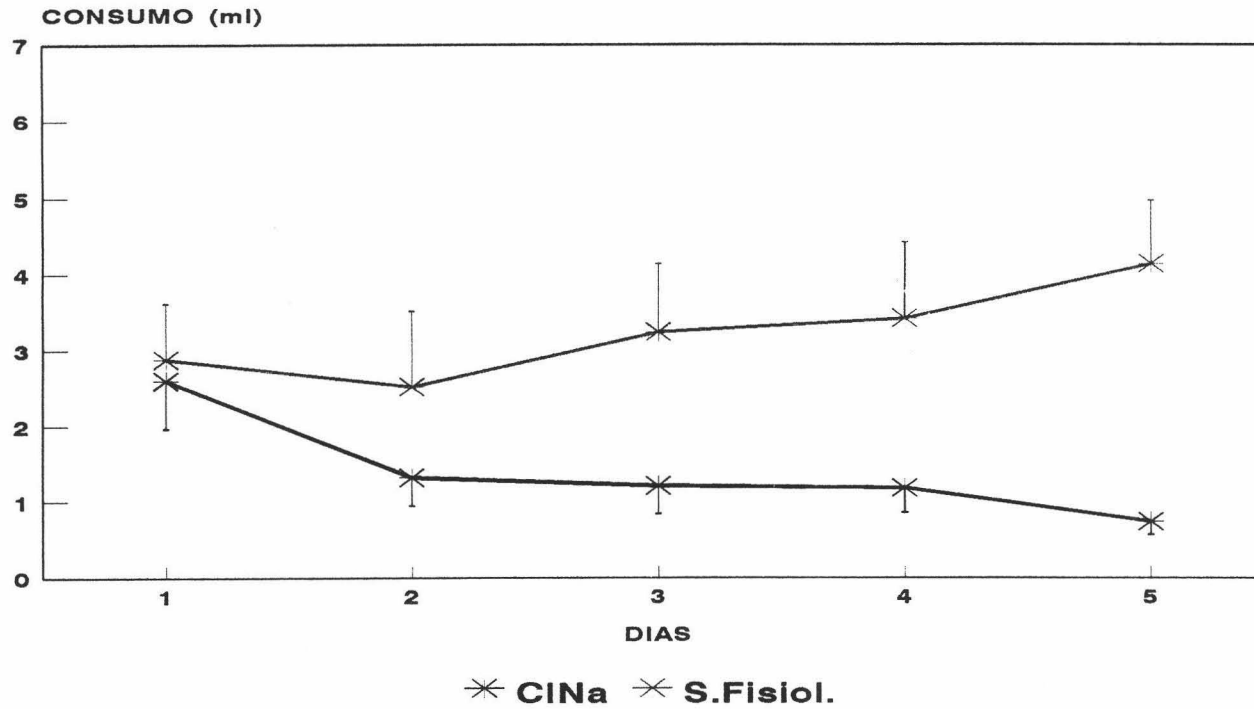
## GRUPO LESIONADO



**Gráfica 19.-** Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas por el grupo 3b (n = 10) en las diferentes sesiones experimentales del procedimiento de AAG a Corto Plazo.

# N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

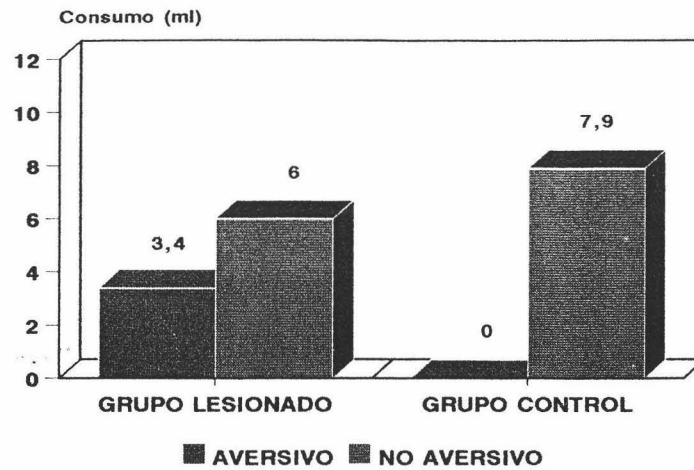
## GRUPO CONTROL



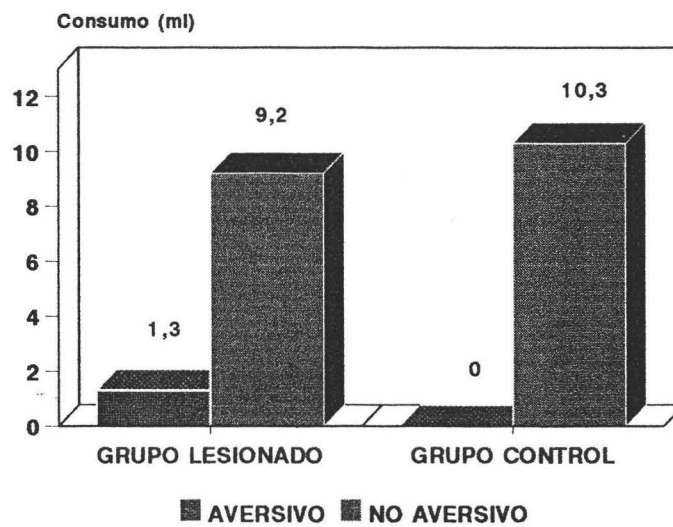
Gráfica 20.- Cantidades medias consumidas por el grupo Control (n = 7) en las diferentes sesiones experimentales del paradigma a Corto Plazo.

## N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

TEST 1 (1 Sesión)

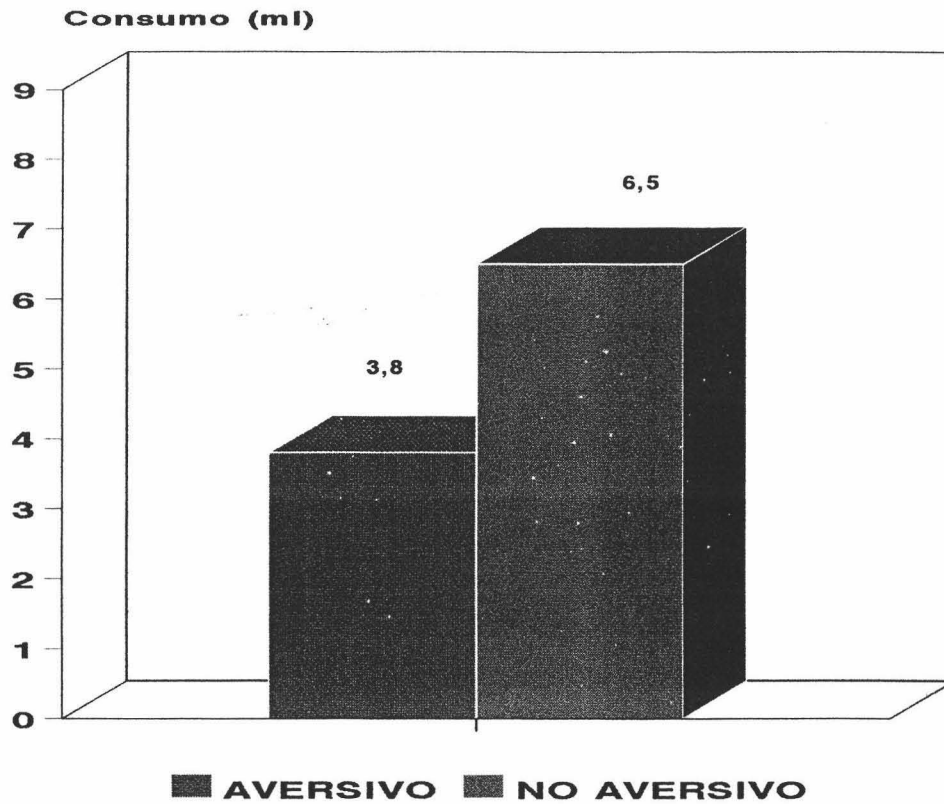


TEST 2 (2 Sesiones)



Gráfica 21.- Cantidades medias consumidas por los animales de ambos grupos, 3b y Control, durante el Test 1 (una sesión experimental) y el Test 2 (dos sesiones experimentales).

## N. PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO



Gráfica 22.- Cantidades medias consumidas en el paradigma de AAG a Largo Plazo por el Grupo 3c (n = 8).

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	2.6	62.0
$\bar{x}$	0.2	5.6
S.D.	0.4	2.0

Tabla XIX.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo 3a en la sesión de Prueba (Test) en el procedimiento a Largo Plazo.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	22.8	14.3	35	25.2	33.7	36.4	35.3	29.9	25	40.6
$\bar{x}$	2.2	1.4	3.5	2.5	3.3	3.6	3.5	2.9	2.5	4.0
S.D.	1.6	1.9	1.8	1.8	1.4	2.8	2.6	2.5	2.1	2.5

Tabla XX.- Cantidades en ml correspondientes a la ingesta realizada por el Grupo 3a durante las cinco sesiones experimentales en el procedimiento a Corto Plazo.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	35.4	47.9	27.5	54.5	38.7	36.8	29.1	35.9	38.5	51.4
$\bar{x}$	3.5	4.7	2.7	5.4	3.8	3.6	2.9	3.5	3.8	5.1
S.D.	2.6	2.1	2.4	3.1	3.4	2.2	3.7	2.0	2.8	2.3

Tabla XXI.- Cantidades en ml ingeridas por el Grupo 3b en las cinco sesiones del procedimiento a Largo Plazo.



SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	18.2	20.2	9.3	24.7	8.4	22.7	8.3	24.0	5.2	30.8
$\bar{x}$	2.6	2.8	1.3	3.5	1.2	3.2	1.1	3.4	0.7	4.4
S.D.	1.8	1.9	1.1	2.6	0.9	2.3	0.8	2.6	0.4	2.2

Tabla XXII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en las cinco sesiones experimentales del procedimiento a Corto Plazo.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	34.4	60.3
$\bar{x}$	3.4	6.0
S.D.	5.0	3.1

Tabla XXIII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo 3b en el Test 1 (una sesión experimental).

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	13.5	92.1
$\bar{x}$	1.3	9.2
S.D.	2.5	5.2

Tabla XXIV.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo 3b en el Test 2 (dos sesiones experimentales).

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	55.9
$\bar{x}$	0.0	7.9
S.D.	0.0	1.5

Tabla XXV.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en el Test 1 (una sesión experimental).

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	0.0	72.7
$\bar{x}$	0.0	10.3
S.D.	0.0	1.4

Tabla XXVI.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en el Test 2 (dos sesiones experimentales).

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	30.5	52.4
$\bar{x}$	3.8	6.5
S.D.	3.3	4.9

Tabla XXVII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo 3c en el procedimiento a Largo Plazo.

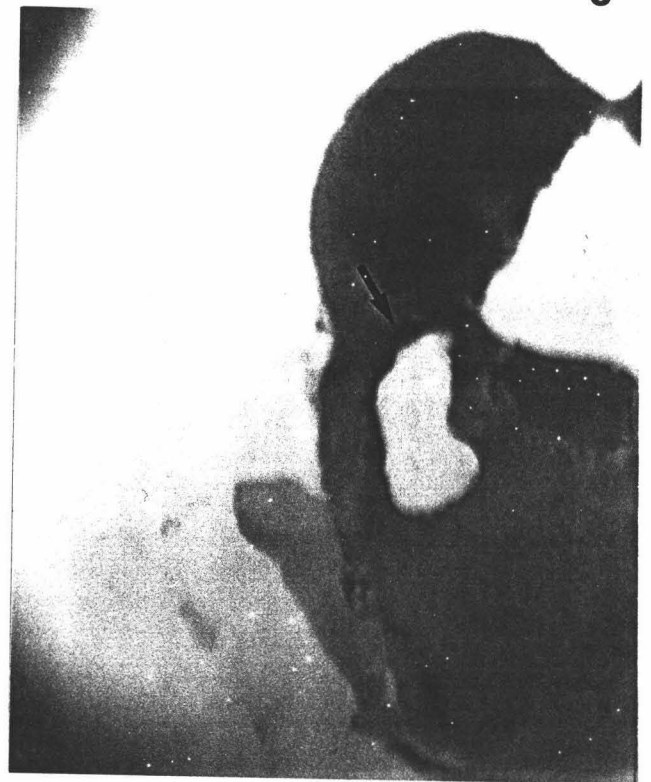


N. PARABRAQUIAL

a



b



c

**Figura 8.-** Corte transversal del Puente donde se aprecian las distintas lesiones realizadas en el Núcleo Parabraquial, restringidas al Núcleo Parabraquial Lateral Externo en el Grupo 3a (a), y más amplias en el Grupo 3b (b) y en el Grupo 3c (c). En todos los casos las lesiones fueron bilaterales.

CAPITULO IV. INTERVENCIÓN DE LAS EFERENCIAS DEL CEREBELO EN EL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO: NÚCLEO PEDUNCULOPONTINO.

## EXPERIMENTO 4a

### Efectos de las Lesiones Electrolíticas del Núcleo Pedunculopontino en el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo.

#### Introducción

La intervención del Cerebelo en el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto plazo se deduce de los experimentos expuestos en los capítulos anteriores de esta Tesis, resultados que coinciden con los observados en otros aprendizajes animales como el Condicionamiento Clásico (CC) de la membrana nictitante (Thompson, 1988; Clark et al., 1992; Nordholm, et al., 1993; Steinmetz et al., 1992; Ivkovich et al., 1993) o el Condicionamiento del reflejo patelar (Marchetti-Gauthier et al., 1990) así como en otras especies incluidas la humana (Daum et al., 1993; Topka et al., 1993; Solomon et al., 1989).

Recientemente, se ha sugerido que una de las proyecciones eferentes del Cerebelo, el Núcleo Pedunculopontino (NPP) (Semba y Fibiger, 1992; Hazrati y Parent, 1992) podría también intervenir en el AAG. El Núcleo Pedunculopontino es un grupo celular tegmental que forma parte de la Formación Reticular del Mesencéfalo y Puente. Este Núcleo aparece situado bilateralmente entre el polo caudal del Núcleo Rojo y el Complejo Parabraquial Pontino, cursando lateral al Pedúnculo Cerebelar Superior. Ha sido dividido en una parte compacta (dorsal) y una parte dissipata (ventral) y se caracteriza por poseer numerosas células colinérgicas (área Ch5) principalmente en la pars compacta, aunque en ambas partes del núcleo las células colinérgicas coexisten con células no-colinérgicas (Spann y Grofova, 1992; Steckler et al., 1994b; Lavoie y Parent, 1994a). Las implicaciones funcionales de poseer dos poblaciones neuronales distintas, colinérgicas y no colinérgicas, empiezan a desvelarse (Dunbar et al., 1992), pero hasta la fecha, las proyecciones colinérgicas han sido las más estudiadas (Grunberg et al., 1992; García-Rill, 1986; Dunbar et al., 1992; Semba y Fibiger, 1992; Koch et al., 1993).

Pues bien, este núcleo ha sido recientemente implicado en ciertos aprendizajes asociativos tanto aversivos (Fujimoto et al., 1992) como reforzantes (Bechara y Van der Kooy, 1989, Olmstead y Franklin, 1993). En concreto, diversos autores han comprobado que mientras que la lesión del NPP interrumpe el condicionamiento de preferencia por un lugar ("place conditioning") inducido por morfina (Bechara y Van der Kooy, 1989; Olmstead y Franklin, 1993) no ocurre lo mismo con el AAG, generado por este mismo producto (Bechara et al., 1993).

El hecho de que el NPP, junto a las aferencias procedentes del Cerebelo (Semba y Fibiger, 1992; Hazrati y Parent, 1992), pueda recibir también aferencias vagales (Bechara et al., 1993) puesto que recibe información tanto del Núcleo del Tracto Solitario (NTS) como del Núcleo Parabraquial (Steckler et al., 1994b; Semba y Fibiger, 1992), permite suponer que, en su caso, la función más probable de este núcleo en AAG sea la que se ajuste a las condiciones del procedimiento de AAG a Corto Plazo.

Por tanto, con el fin de comprobar esta hipótesis, dos grupos de animales, lesionados y controles, fueron sometidos a una tarea de Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo.

## Método

### SUJETOS

El estudio utilizó 20 ratas macho de la raza Wistar (Animalario de la Universidad de Granada) cuyos pesos oscilaban entre 260-340 gr. Estos animales fueron colocados individualmente en jaulas de metacrilato de 15x30x15 cms. y asignados la mitad de ellos al grupo experimental (lesión del Núcleo Pedunculopontino) y la otra mitad al grupo control (lesión ficticia).

La temperatura de la habitación se mantuvo entre 21°-24°, con períodos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno permaneciendo en ella los animales bajo un régimen ad libitum de agua y comida durante 4 días previos a la intervención quirúrgica.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

#### *Lesión Electrolítica del Núcleo Pedunculopontino*

Las lesiones electrolíticas de esta zona se realizaron bajo las condiciones ya descritas. Las coordenadas estereotáxicas utilizadas se basan asimismo en el atlas estereotáxico de Paxinos (Paxinos, 1986) y fueron:

A-P : + 1      L :  $\pm$  1.8      V : + 3



En el punto indicado por estas coordenadas se administró, bilateralmente y durante 15 segundos, una corriente continua catódica de 1.5 mA. Los animales controles sufrieron el mismo tratamiento pero en su caso la coordenada vertical utilizada fue de + 4 y no hubo paso de corriente a través del electrodo.

Finalizada la intervención, todos los animales tuvieron un período de recuperación de 6 días con comida y bebida ad libitum antes de ser sometidos a la cirugía periférica. Durante este período se registró la cantidad de comida y bebida ingerida por los animales experimentales.

#### *Implantación de dos Fístulas Intragástricas*

Con los animales bajo los efectos de éter etílico (Lab. Quimón. Barcelona), se implantan dos catéteres intragástricos a cada animal de la manera ya descrita en los experimentos previos.

A continuación, todos los animales tuvieron un período de recuperación (7-10 días) de la cirugía periférica realizada, tras el cual se iniciaba el preentrenamiento (3 días) y la fase experimental propiamente dicha.

#### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Consiste en la utilización de un paradigma de AAG a Corto Plazo con las características y requisitos que se han descrito en experimentos anteriores (Diagrama I).

#### Resultados

Durante el desarrollo del procedimiento experimental hubo que eliminar a un animal del Grupo Control por pérdida de uno de los catéteres lo que imposibilitaba la continuación de la prueba con dicho animal. Con los datos (Gráfica 23) de los restantes animales del Grupo Experimental ( $n = 10$ ) y del Grupo Control ( $n = 9$ ) se efectuó ANOVA (droga x ensayos) que puso de manifiesto la incapacidad de los animales del Grupo Experimental para establecer la asociación requerida a lo largo de las cinco sesiones experimentales  $F(4,36) = 0.8$ ,  $p > 0.05$ , NS (Gráfica 24). El aprendizaje, por el contrario, fue manifiesto en el Grupo Control, tal y como demuestra el análisis de los datos de dicho grupo a lo largo de las cinco

sesiones  $F(4,32) = 4.57, p < 0.005$  (Gráfica 25).

## Discusión

Los animales lesionados electrolíticamente en el NPP son incapaces de establecer una asociación entre la ingesta de un sabor determinado y la administración simultánea de un estímulo visceral aversivo, es decir, no pueden desarrollar un AAG basándose en las condiciones impuestas por un paradigma a Corto Plazo. Esta asociación, sin embargo, es plenamente lograda por los animales del Grupo Control no lesionados.

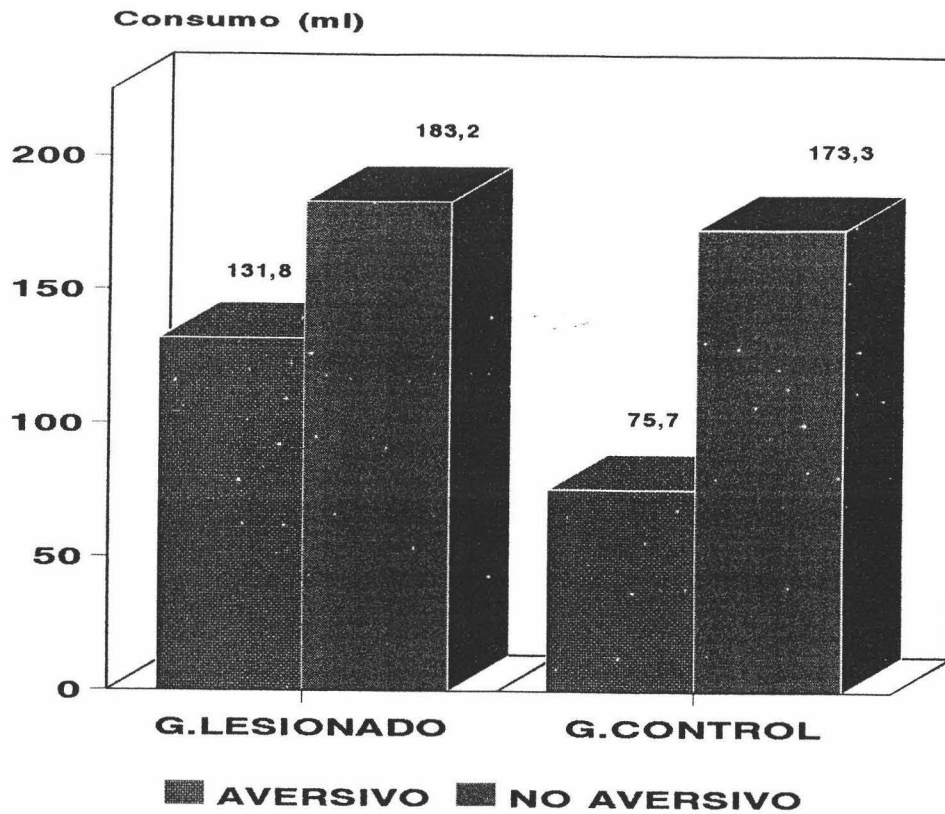
Esta incapacidad de los animales lesionados no puede atribuirse a un efecto inespecífico de la lesión, al menos aparentemente, ya que los animales experimentales tienen una imagen y comportamiento similar al de los controles como ya había sido puesto de manifiesto en estudios previos realizados con ácido Iboténico (Bechara et al, 1993; Bechara y Van der Kooy, 1992). De modo análogo a las observaciones de Fujimoto et al. (1992), alguno de los animales de este estudio incrementó la ingesta de agua y comida tras la lesión volviendo posteriormente a niveles similares al resto del grupo experimental. Otros estudios tampoco han apreciado deficiencias en las conductas de comer y beber tras lesiones con ácido Iboténico y Kaínico comparadas con lesiones realizadas con 6-OHDA en neuronas dopaminérgicas mesoestriales que sí producían tales déficits (Dunbar et al., 1992).

Estos datos, sin embargo, no permiten descartar otras interpretaciones alternativas como, por ejemplo, que las lesiones hayan podido influir indirectamente en alguna manifestación motora dependiente de este núcleo que hubiese impedido la expresión del aprendizaje. No hay que olvidar la relación que mantiene con diferentes estructuras del sistema extrapiramidal (ver Semba y Fibiger, 1992 y García-Rill, 1986; Lavoie y Parent, 1994b y c) ni tampoco que las células colinérgicas del NPP podrían formar parte de la región locomotora mesencefálica (Skinner y García-Rill, 1984; García Rill, 1986).

Igualmente existe la posibilidad de que, de algún modo, las lesiones hayan provocado una incapacidad para el establecimiento de un AAG al interrumpir el otro componente sensorial esencial en este proceso adquisitivo, la transmisión del estímulo gustativo. En efecto, existen pruebas anatómicas de proyecciones desde zonas gustativas del Núcleo del Tracto Solitario (NTS) hasta el NPP (Semba y Fibiger, 1992). Aunque parecen ser muy escasas las neuronas que mantienen esas conexiones, todas estas cuestiones nos llevan a

plantear un segundo experimento.

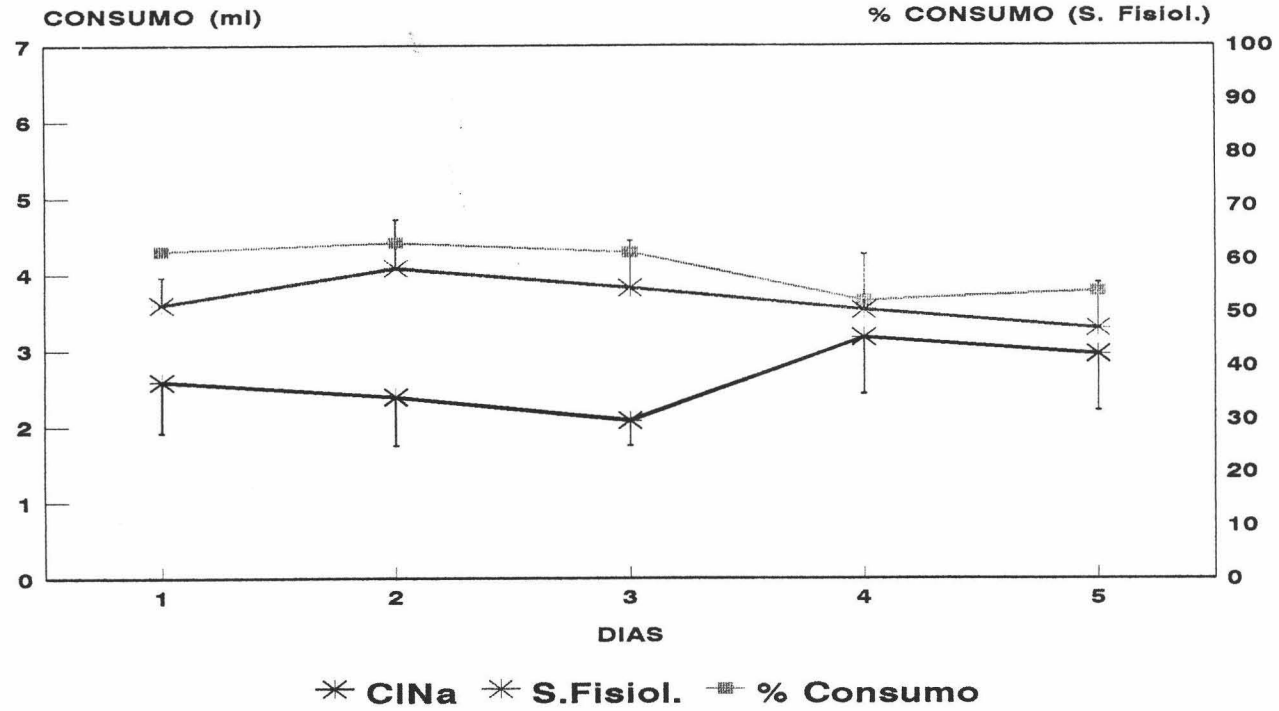
## N. PEDUNCULOPONTINO



Gráfica 23.- Cantidades totales consumidas por ambos grupos, Lesionado y Control, de los estímulos gustativos asociados a ClNa (Aversivo) y a Suero Fisiológico (No Aversivo) en el Experimento 4a.

# N. PEDUNCULOPONTINO

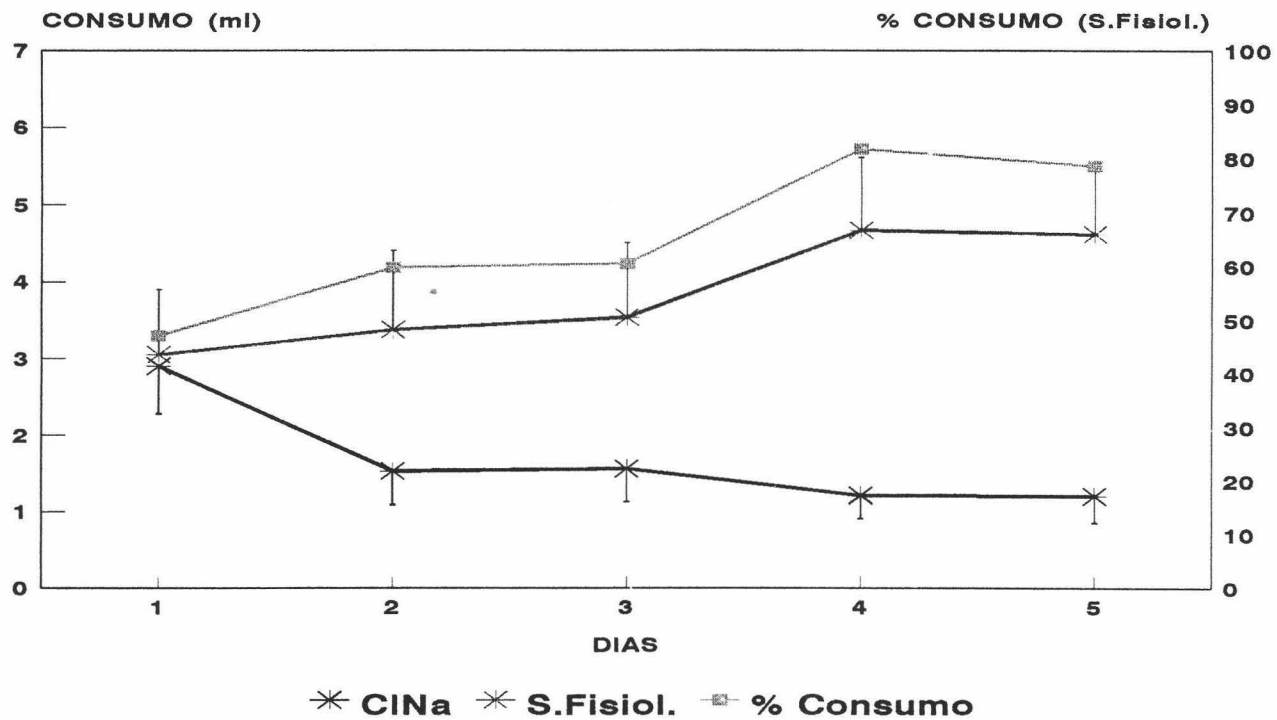
## GRUPO LESIONADO



Gráfica 24.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas por el grupo Experimental en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 4a.

# N. PEDUNCULOPONTINO

## GRUPO CONTROL



Gráfica 25.- Cantidades medias consumidas por el grupo Control en las diferentes sesiones experimentales del Experimento 4a.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	25.9	36.0	23.9	40.0	20.8	38.2	31.7	35.3	29.5	32.9
$\bar{x}$	2.5	3.6	2.3	4.0	2.0	3.8	3.1	3.5	2.9	3.2
$\bar{x}\%$	38.5	61.5	36.9	63.1	38.8	61.2	47.8	52.2	46.0	54.0
S.D.	2.1	1.1	2.0	2.0	1.0	1.9	2.3	2.3	2.3	1.9

Tabla XXVIII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Lesionado en las cinco sesiones experimentales.

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.	CINa	S.F.
$\Sigma x$	26.1	27.5	13.7	30.4	14.1	31.8	10.8	42.1	10.8	41.5
$\bar{x}$	2.9	3.0	1.5	3.3	1.5	3.5	1.2	4.6	1.2	4.6
$\bar{x}\%$	52.8	47.2	40.2	59.8	39.4	60.6	18.3	81.7	21.4	78.6
S.D.	1.8	2.5	1.3	3.1	1.2	2.9	0.8	2.8	1.0	2.8

Tabla XXIX.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en las cinco sesiones experimentales.



## EXPERIMENTO 4b

### Efectos de las Lesiones Electrolíticas del Núcleo Pedunculopontino en el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo.

#### Introducción

Las conexiones anatómicas que el NPP mantiene con otras estructuras cerebrales lo convierten en una estructura con un fuerte componente motor, de hecho, García Rill lo llama "región locomotora del mesencéfalo" (Skinner y García-Rill, 1984). En efecto, se ha comprobado que la estimulación eléctrica de esta zona provoca movimientos de locomoción (Skinner y García-Rill, 1984). Además, neuronas colinérgicas del NPP inervan los Ganglios Basales (la conexión es recíproca) y el Tálamo (Lavoie y Parent, 1994b y c; Grunberg et al., 1992; Steckler et al., 1994b). De hecho, se ha propuesto que la alteración del NPP podría explicar alguna de las manifestaciones motoras de la enfermedad de Parkinson (García-Rill, 1986; Lavoie y Parent, 1994c) y que la lesión de esta región tegmental podría servir como un buen modelo animal de dicha enfermedad (Dunbar et al., 1992). Por otra parte, la proyección colinérgica hasta el Tálamo medial forma parte asimismo del Sistema Reticular Activador Ascendente que podría intervenir en el ciclo vigilia-sueño (Semba et al., 1992).

En cuanto a las proyecciones descendentes del NPP, estas se dirigen hacia la Formación Reticular Pontina (Koch et al., 1993) y la Médula Espinal (Steckler et al., 1994b) y se han relacionado igualmente con la iniciación del sueño REM (Semba y Fibiger, 1992) y con la atonía muscular que acompaña a este estado (Koch et al., 1993).

Se han estudiado asimismo las aferencias de la parte compacta del NPP, tanto colinérgica como no colinérgica. Estas aferencias proceden principalmente de tres lugares: Formación Reticular troncoencefálica, Hipotálamo Lateral-Zona Incierta y Sustancia Gris Central. Aferencias menos significativas también se registran desde estructuras límbicas, oculomotoras, extrapiramidales y sensoriales (Semba y Fibiger, 1992). Además, colaterales del Pedúnculo Cerebeloso Superior que proceden de los Núcleos Profundos del Cerebelo alcanzan igualmente al NPP tanto en la parte compacta como en la zona disipata (Hazrati y Parent, 1992).

A pesar de todas estas conexiones, en otros estudios la actividad locomotora ha sido expresamente estudiada tras lesiones electrolíticas del NPP y no se han observado variaciones con respecto a los niveles basales previos a la intervención (Swerdlow y Geyer, 1993;

Steckler et al., 1994b). No obstante y a través del presente experimento, se pretende descartar el que esta lesión haya podido incapacitar globalmente a los animales para cualquier tarea adquisitiva. O si, por el contrario, y de acuerdo a los resultados obtenidos tras las lesiones electrolíticas del área Interpósito-Dentado, el déficit obtenido tras la lesión del NPP estaría limitado expresamente a un AAG a Corto Plazo. De acuerdo con esta hipótesis los animales lesionados del Grupo Experimental deberían lograr desarrollar un AAG establecido bajo un paradigma de Largo Plazo. Indirectamente, este hecho permitiría descartar también cualquier anomalía en el procesamiento de los estímulos gustativos, una variable que necesariamente debe considerar cualquier estudio sobre AAG.

## Método

### SUJETOS

Los animales que se utilizaron en este experimento fueron los mismos del Experimento 4a, tanto en el grupo experimental como en el control, después de un período de, al menos, 48 horas con comida y agua ad libitum.

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Consiste en someter a los animales a un paradigma de AAG a Largo Plazo con una única sesión experimental y una prueba de Inversión, es decir, el procedimiento es idéntico al realizado en el Experimento 2b (Ver Diagrama III).

## Resultados

Los resultados analizados con una ANOVA (aversivo vs no aversivo) indican que el aprendizaje se estableció con facilidad tanto en el Grupo Experimental  $F(1,9) = 25.27$ ,  $p < 0.0008$ , como en el Grupo Control  $F(1,8) = 18.63$ ,  $p < 0.002$ . La preferencia por el estímulo asociado con SFI se puso de manifiesto igualmente en la prueba de Inversión: Grupo Experimental  $F(1,9) = 6.74$ ,  $p < 0.02$ ; Grupo Control  $F(1,8) = 18.63$ ,  $p < 0.002$ . Estos resultados aparecen representados en la Gráfica 26.

## Histología

Concluidas las experiencias anteriores, todos los animales son sacrificados con una sobredosis de pentotal sódico y perfundidos intracardialmente con 10 ml de suero salino isotónico seguido por formaldehído al 10%. Extraídos los cerebros, se introducen en formaldehído para su posterior laminación y examen microscópico. Las fotografías de los cortes histológicos pueden apreciarse en la Figura 8.

## Discusión

Los animales lesionados en el NPP establecen fácilmente un AAG utilizando CILi como agente aversivo y una dilación de 15 minutos entre dicho estímulo visceral y el estímulo gustativo. Este hecho descarta el que la lesión haya podido interrumpir la transmisión de la información gustativa, elemento sensorial en el que se basa este aprendizaje tal y como queda demostrado en la Prueba de Inversión.

El NPP mantiene amplias conexiones con distintas estructuras del sistema motor extrapiramidal tales como los Ganglios Basales y la Sustancia Negra (Lavoiey Parent, 1994b y c; Semba y Fibiger, 1992; Grunberg et al., 1992), de hecho, se ha propuesto que esta zona podría corresponder a la región locomotora mesencefálica (Skinner y García-Rill, 1984; García-Rill, 1986). Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con otros estudios previos (Swerdlow y Geyer, 1993) en el sentido de que descartan que las lesiones efectuadas hayan producido algún impedimento motor grave en los animales. Más aún, la Prueba de Inversión del Experimento 4b descarta asimismo la existencia de trastornos motores relevantes ya que los animales lesionados reajustan fácilmente los patrones motores adquiridos con anterioridad y realizan correctamente también esta prueba lo que habla en favor de una normalidad motora.

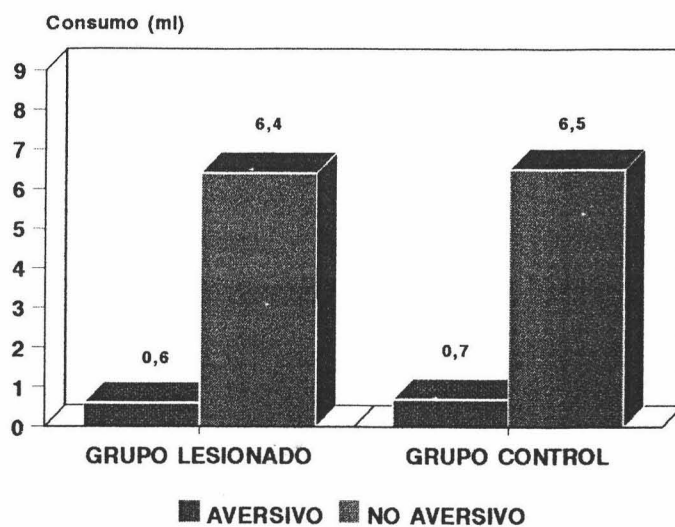
Los resultados obtenidos por los animales en los dos experimentos no pueden ser atribuidos a una mayor dificultad del paradigma a Corto Plazo, tarea que es plenamente lograda no sólo por los animales del Grupo Control del Experimento 4a sino también por animales lesionados en otras zonas implicadas en AAG como AP (Arnedo et al., 1990), el PBNl (Agüero et al., 1991) o en la corteza del Cerebelo (Experimento 2c) y, por lo tanto, independiente también del efecto inespecífico de la lesión.

Señalar por último, que el utilizar un estímulo visceral distinto, CINa en el

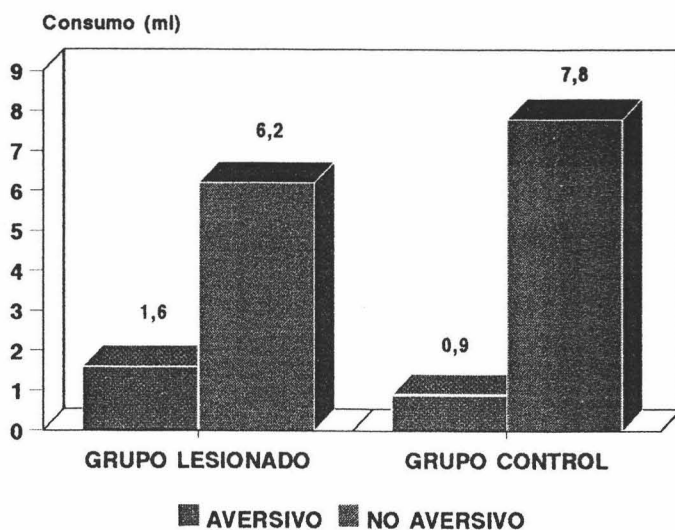
Experimento 4a y CILi en el Experimento 4b, no explica los resultados obtenidos. Como ya ha sido puesto de manifiesto con anterioridad, la potencia aversiva de un producto en AAG es un valor relativo que está en función del procedimiento utilizado.

# N. PEDUNCULOPONTINO

## TEST 1



## TEST 2



Gráfica 26.- Cantidades medias consumidas por ambos grupos, Lesionado y Control, en el Test 1 y en el Test 2 del Experimento 4b.



	CILi	S.F.
$\Sigma x$	6.2	64.5
$\bar{x}$	0.6	6.4
S.D.	1.2	2.9

Tabla XXX.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Lesionado en el Test 1.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	16.2	62.1
$\bar{x}$	1.6	6.2
S.D.	2.3	3.5

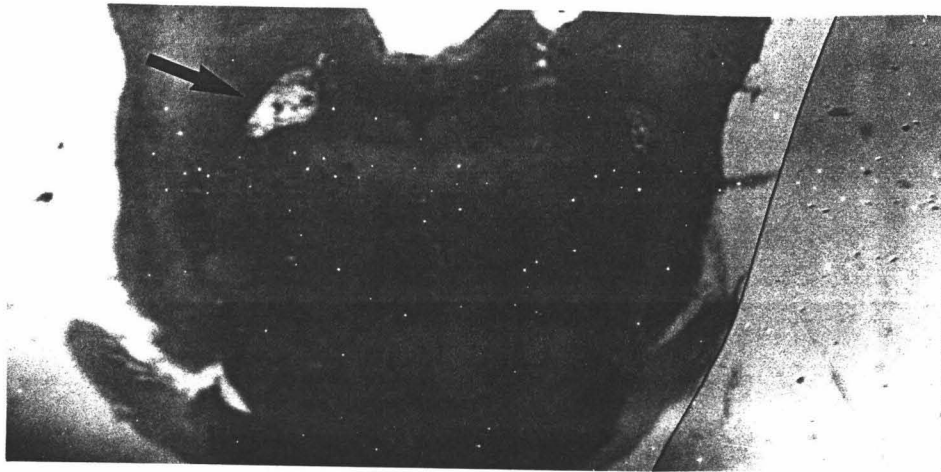
Tabla XXXI.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Lesionado en el Test 2.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	6.3	58.8
$\bar{x}$	0.7	6.5
S.D.	2.0	2.7

Tabla XXXII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en el Test 1.

	CILi	S.F.
$\Sigma x$	8.1	70.2
$\bar{x}$	0.9	7.8
S.D.	2.3	2.7

Tabla XXXIII.- Cantidades (ml) ingeridas por el Grupo Control en el Test 2.



**Figura 9.-** Sección transversal a nivel del Tronco Cerebral donde se aprecian las lesiones electrolíticas del Núcleo Pedunculopontino del Tegmento.



## DISCUSION GENERAL

Lesiones electrolíticas del Núcleo Pedunculopontino (NPP) impiden el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo sin afectar al aprendizaje a Largo Plazo.

Los resultados obtenidos en el Experimento 4a podrían explicarse bien como una resultante de la interrupción específica de la información visceral vagal (Bechara et al., 1993) o bien como consecuencia de haber eliminado información procedente de los Núcleos Profundos del Cerebelo (Semba y Fibiger, 1992; Hazrati y Parent, 1992). En ese sentido, existen abundantes estudios anatómicos y electrofisiológicos confirmando la presencia de aferencias gustativas (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) pero, sobre todo, viscerales vagales en el Cerebelo (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978; Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988). Efectivamente, mediante el Experimento 1a de la presente Tesis Doctoral se ha podido comprobar que lesiones electrolíticas limitadas a la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo impiden el desarrollo del AAG a Corto Plazo utilizando la administración de ClNa como agente visceral aversivo. Existe, por tanto, la posibilidad de que el Cerebelo sea un eslabón fundamental en el desarrollo de un AAG a Corto Plazo. Está por demostrar si, en el AAG, el Cerebelo es un nuevo centro de transferencia de información sensorial relevante para el aprendizaje o si, por el contrario, éste podría ser incluso el centro anatómico donde tuviera lugar la convergencia entre la información gustativa y la visceral vagal, coincidencia necesaria para que ocurra el AAG a Corto Plazo. En cualquier caso, el procesamiento de esta información al NPP podría haber quedado alterado en el presente estudio ya que este núcleo recibe aferencias procedentes de todos los Núcleos Profundos del Cerebelo tanto en monos (Hazrati y Parent, 1992) como en ratas (Semba y Fibiger, 1992).

La relación entre el NPP y aprendizaje y memoria ha sido estudiada por otros autores (Olmstead y Franklin, 1993; Fujimoto et al., 1992; Bechara y Van der Kooy, 1989; Steckler et al., 1994a y b). Así, lesiones de esta zona impiden la adquisición de conductas de evitación sin afectar ni a la retención ni al recuerdo de esas mismas conductas (Fujimoto et al., 1992). Se ha propuesto igualmente que la zona ventromedial del NPP podría formar parte de un sistema neural que procesara los efectos recompensantes de la morfina (Bechara y Van der Kooy, 1992a y b; Bechara et al., 1992) impidiendo la adquisición pero no la retención según un procedimiento de preferencia por el lugar ("place preference") realizado con morfina y anfetaminas en animales naïve (Bechara y Van der Kooy, 1989).

Bechara y Van der Kooy creen, sin embargo, que los efectos aversivos de la morfina utilizarían un sustrato anatómico distinto al anterior que se originaría en receptores gastrointestinales siendo procesados posteriormente por el Nervio Vago, el Núcleo del Tracto Solitario y el Núcleo Parabraquial (Bechara et al., 1993; Bechara y Van der Kooy, 1992a). Este distinto procesamiento explicaría, según estos autores, el hecho de que las mismas lesiones del NPP que impiden un aprendizaje de "place preference" producido con morfina, no interrumpan un aprendizaje aversivo gustativo inducido con morfina (Bechara et al., 1993).

La discrepancia del estudio de Bechara y col., con los resultados presentes podría explicarse en función del procedimiento de AAG que utilizan estos autores y que consiste en administrar el estímulo nocivo *inmediatamente después* de que el animal haya ingerido el estímulo gustativo. Estas condiciones experimentales permiten que la asociación entre el estímulo visceral y el gustativo pueda realizarse bien a Corto o a Largo Plazo. Es decir, si una de las vías de procesamiento (vagal) está interrumpida a causa de la lesión, probablemente la otra vía, que está intacta, pueda hacerse cargo de esa información ya que las condiciones del paradigma de aprendizaje se lo permiten. Tampoco se puede olvidar que la zona afectada por las lesiones del estudio de Bechara y col. no coincide exactamente con la del presente estudio. En efecto, las lesiones realizadas por el grupo de Bechara se sitúan ventromedialmente coincidiendo con la parte disipata del NPP (Bechara y Van der Kooy, 1989; Bechara y Van der Kooy, 1992b). Las lesiones del presente estudio se sitúan, por el contrario, en una posición claramente dorsal que coincidiría con la parte compacta del NPP. Se ha comprobado que células colinérgicas de esta zona reciben información procedente del NTS (Semba y Fibiger, 1992), es probable, por tanto, que las lesiones de los estudios de Bechara y col. no hayan eliminado todas las aferencias vagales lo que podría suponer otra explicación alternativa a los distintos resultados obtenidos en su caso.

Ni las lesiones del NPP ni de la zona Interpósito-Dentado impiden el AAG a Largo Plazo cuando se utiliza CILi como agente aversivo y 15 minutos de demora entre estímulos (Experimentos 4b y 1b), o cuando se utiliza CINa como estímulo aversivo y un paradigma similar al de Bechara y col. (Bechara et al., 1993), es decir, administración del agente visceral aversivo inmediatamente después de finalizada la ingesta del estímulo gustativo (Experimento 1d).

Por lo tanto, los resultados obtenidos en el Experimento 4a no pueden explicarse por medio de una incapacidad motora general producida por la lesión. En este sentido, otros estudios han observado que lesiones del NPP no producen anomalías aparentes (Bechara et

al., 1993; Bechara y Van Der Kooy, 1992b) ni siquiera cuando la actividad locomotora es estudiada expresamente (Bechara y Van Der Kooy, 1992a; Swerdlow y Geyer, 1993).

De hecho, las amplias conexiones que el NPP mantiene con numerosas zonas anteriores y posteriores (ver Semba y Fibiger, 1992 y Steckler et al., 1994b) han llevado a estudiar las implicaciones funcionales de esta zona mesopontina. Se cree, por ejemplo, que podría formar parte del circuito anatómico que subyace al fenómeno llamado inhibición del pulso previo ("prepulse inhibition" -PPI-) (Swerdlow y Geyer, 1993; Koch et al., 1993) conocido por reducir la amplitud del reflejo de alerta. Así, lesiones electrolíticas o con Ácido Kaínico del NPP reducen PPI sin afectar a la amplitud del reflejo (Koch et al., 1993) o incluso potenciando dicha amplitud (Swerdlow y Geyer, 1993). La conservación del reflejo de orientación e incluso el aumento en su amplitud tras la lesión del NPP tampoco apoya la existencia de problemas motores (Koch et al., 1993; Swerdlow y Geyer, 1993). La Prueba de Inversión del Experimento 4b es especialmente concluyente y muestra igualmente la ausencia de problemas motores incapacitantes para el desarrollo de un AAG.

En otro orden de cosas, esta misma Prueba de Inversión demuestra que los animales con lesión en el NPP mantienen intacta la capacidad discriminativa gustativa, ya que es en función del gusto como consiguen aprender la tarea a Largo Plazo. Los resultados del Experimento 4a, en fin, no pueden explicarse, por tanto, como una interrupción del procesamiento gustativo.

CAPITULO V. RETENCIÓN DEL APRENDIZAJE AVERSIVO GUSTATIVO A CORTO  
PLAZO TRAS LESIONES ELECTROLÍTICAS DEL NÚCLEO INTERPÓSITO DEL  
CEREBELO

## EXPERIMENTO 5

### INTRODUCCIÓN

Como ya se ha indicado a lo largo de la presente Tesis Doctoral, existen diversas teorías que señalan al Cerebelo como lugar donde podría producirse el cambio neurobiológico determinante de ciertas modalidades de aprendizajes (Marr, 1969; Eccles, 1977; Ito et al., 1982). El hecho de que el condicionamiento clásico de la membrana nictitante puede ser establecido en animales a los que se les ha eliminado todo el tejido nervioso rostral al Tálamo, junto a la comprobación de que pequeñas lesiones situadas en el Cerebelo interrumpían la adquisición del condicionamiento (Sears y Steinmetz, 1990a; Sears y Steinmetz, 1990b; Lavond et al., 1985; Skelton, 1988) sin afectar a la respuesta incondicionada, convirtió a esta estructura en la candidata idónea para explicar este aprendizaje y llevó a Thompson y colaboradores a elaborar el circuito anatómico potencial para dicha respuesta (Thompson, 1988). Estas lesiones impiden asimismo el reaprendizaje de las respuestas condicionadas incluso diez meses después de la lesión y tras un entrenamiento intensivo (Steinmetz et al., 1992).

Sin embargo, han surgido dudas acerca de que el Cerebelo sea, como afirma Thompson, esencial y suficiente para la expresión de este condicionamiento. En ese sentido, se ha comunicado que animales descerebelados son capaces de manifestar en algún grado RCs (Kelly et al., 1990) al igual que pacientes con degeneración cerebelar (Topka et al., 1993) y se ha asegurado incluso que el Núcleo Interpósito del Cerebelo tan sólo intervendría en la manifestación motora de dichas RCs pero no sería el lugar donde se produjera el aprendizaje (Welsh y Harvey, 1991). Otros, por último, creen que el Núcleo Interpósito podría resultar esencial para la adquisición de un aprendizaje asociativo pero no lo sería para la retención del mismo (Marchetti-Gauthier et al., 1990) y que el Cerebelo podría participar en el proceso de consolidación pero no en el almacenamiento de la memoria (Guillaumin et al., 1991; Bloedel, 1992a y b).

En los Experimento 1b y 1d hemos comprobado que la lesión de la zona Interpósito-Dentado no incapacita a los animales para aprender la modalidad de AAG a Largo Plazo de manera similar a los resultados que obtienen Supple y colaboradores tras lesiones en el vermis (Supple et al., 1987). Pero la lesión de los núcleos profundos del Cerebelo sí impide la adquisición de un AAG a Corto Plazo con requisitos similares al CC (Experimento 1a). Esto resulta lógico puesto que la independencia de las rutas anatómicas para ambas modalidades de aprendizaje ha sido repetidamente puesta de manifiesto en nuestro laboratorio

(Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993; Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991; Agüero et al., 1991a y b; Agüero et al., 1993a y b).

Sin embargo, y dada la controversia acerca del proceso de retención del aprendizaje tras lesiones en el Cerebelo, este experimento se plantea el exámen de esta problemática en el caso concreto del AAG.

## Método

### SUJETOS

El estudio utilizó 22 ratas macho de la raza Wistar (Animalario de la Universidad de Granada) con pesos comprendidos entre 210-290 gr. que fueron colocados individualmente en jaulas de metacrilato de 15x30x15 cms. La temperatura de la habitación se mantuvo entre 21°-24°, con períodos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno permaneciendo en ella los animales bajo un régimen ad libitum de agua y comida hasta el momento de ser intervenidos quirúrgicamente.

### PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

#### *Implantación de dos Fístulas Intragástricas*

Bajo la administración de éter etílico -Lab. Quimón. Barcelona-), se implantaron dos catéteres intragástricos (Silastic. Silastic-Medical Grade Tubing. Dow Corning Corp., Michigan, USA). recibiendo todos los animales una dosis intramuscular de 0.1 de penicilina (Penilevel retard. Lab. Level, S.A. Barcelona).

*Período de recuperación:* Finalizado este proceso quirúrgico, los animales son devueltos a sus jaulas, con comida y agua ad libitum, concediéndoseles un período de recuperación de 7-9 días.

*Período de preentrenamiento:* Una vez finalizado el período anterior, se les retira el agua, de manera que, a partir de entonces, tan sólo se les permite el acceso a ella durante períodos de 7 minutos cada día. Durante este tiempo, el agua se les presenta mediante dos

buretas simultáneamente, pudiendo beber libremente de cualquiera de ellas. Pasados los 7 minutos, las buretas son retiradas y aproximadamente 30 minutos después reciben 15 grs. de alimento sólido (Alimento de Laboratorio. Dietas Panlab. Panlab S.L. Barcelona). Este período es utilizado para que los animales alternen y beban indistintamente de una y de otra bureta (tres días).

#### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Consiste en someter a los animales a un paradigma de AAG a Corto Plazo con las características ya señaladas en experimentos anteriores (ver Diagrama I). La tasa de administración de ambos productos (CINa y SFI) era siempre de 1 cc. por 1 cc. de líquido ingerido.

Como siempre, el criterio de aprendizaje consiste en considerar que los animales tienden a aprender si consumen significativamente menos cantidades del estímulo asociado con el CINa. Por el contrario, no habría aprendizaje si los animales bebían más del sabor asociado con el producto aversivo, o cantidades semejantes de ambos estímulos.

Los 22 animales fueron expuestos a este procedimiento experimental a lo largo de cinco sesiones y, tras la última, se estableció un criterio según el cual se seleccionaron aquellos animales que en las sesiones 4<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> bebieron más del 70% del estímulo gustativo asociado a SFI. Quince animales se ajustaban a este requisito por lo que fueron asignados aleatoriamente unos al Grupo Experimental o Lesionado (8) y otros al Grupo Control o con Falsa Lesión (7).

#### *Lesión Electrolítica del Area Interpósito-Dentado*

Se realizó con los mismos parámetros de lesión especificados en el Experimento 1a. En cuanto al Grupo no lesionado, recibió las manipulaciones correspondientes a un Grupo Control.

Tres animales experimentales murieron tras la lesión por lo que, finalmente, el Grupo Experimental estaría formado por cinco animales y el Grupo Control por siete. Todos estos animales tuvieron un período de recuperación de 6 días con comida y bebida ad libitum hasta iniciar un período de entrenamiento idéntico al descrito. Finalizados los tres días



correspondientes a este período se les sometió a una sola sesión experimental.

## Resultados

Los datos obtenidos por los 22 animales durante el procedimiento de adquisición (Gráfica 27) fueron analizados mediante ANOVA (droga x sesiones) resultando significativos  $F(4,84) = 18.80$ ,  $p < 0.0001$  (Gráfica 28). En cuanto a los resultados obtenidos en la sesión de retención posterior a la lesión (Gráfica 29), se analizaron mediante ANOVA (aversivo x no aversivo) poniendo de relieve una preferencia claramente significativa por el estímulo asociado a SFI tanto en los animales lesionados  $F(1,4) = 345.69$ ,  $p < 0.0001$  como en los no lesionados  $F(1,6) = 13.69$ ,  $p < 0.02$ . Ambos grupos tuvieron un comportamiento muy similar por lo que no se apreciaron diferencias significativas entre ellos  $F(1,10) = 0.66$ , NS.

## Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la lesión electrolítica de los Núcleos Internos del Cerebelo (Dentado-Interpósito) no impide la retención de un AAG a Corto Plazo establecido con anterioridad a la realización de la lesión. Sin embargo, experimentos anteriores nos demuestran que esa misma lesión electrolítica sí impide la adquisición de un aprendizaje con similares requisitos. Si tenemos en cuenta ambos resultados tenemos que concluir, al igual que otros autores con respecto a otros aprendizajes (Lye et al., 1988; Daum et al., 1993b; Solomon et al., 1989; Topka et al., 1993; Kapp y Supple, 1992; Marchetti-Gauthier et al., 1990), que el Cerebelo podría ser esencial sólo durante el proceso de adquisición de un aprendizaje asociativo. En concreto, sería esencial para la formación de un AAG a Corto Plazo cuyos requisitos temporales lo asemejan en cierta medida a las exigencias y características de un CC pero no lo sería para el establecimiento de un AAG a Largo Plazo que requiere unas condiciones temporales y anatómicas diferentes (Capítulo I). Estudios anatómicos y electrofisiológicos han puesto de manifiesto que en el Cerebelo pueden converger tanto la información gustativa (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) como la visceral vagal (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978; Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988), convergencia necesaria teóricamente para poder establecer un AAG a Corto Plazo.

Los datos presentados aquí indican, sin embargo, que la lesión en la zona Interpósito-



Dentado no impide la retención de la respuesta aprendida y no permiten, por lo tanto, afirmar como hacen otros autores (Steinmetz et al., 1992; Lavond et al., 1993), que el Núcleo Interpósito sea esencial en el mantenimiento del aprendizaje una vez que éste se ha efectuado, al menos en el caso del AAG. Los resultados del presente estudio estarían más en consonancia con los obtenidos tras lesiones de la corteza del Cerebelo. En efecto, aunque inicialmente Yeo y colaboradores afirmaban que las lesiones corticales impedían igualmente la retención de las respuestas condicionadas (RC) (ver Glickstein, 1992; Hardiman y Yeo, 1992), esta postura ha sido en parte reexaminada ya que, tras intensivos entrenamientos, es posible observar recuperación de algunas RC (Hardiman y Yeo, 1992). De hecho, la readquisición del aprendizaje parece ser bastante fácil de conseguir tras lesiones de la corteza del Cerebelo (Woodruff-Pak, et al., 1993).

Por otra parte, Welsh y Harvey (1991) han demostrado recientemente que la inactivación reversible del Interpósito no impide una normal adquisición de la respuesta condicionada, si bien ésta no se manifiesta durante la inactivación. Estos resultados les permiten afirmar que el Interpósito sería necesario sólo para la expresión motora de la RC y no para la adquisición ni la retención y que, por tanto, el Cerebelo en su conjunto (incluida la corteza) participaría tan sólo en la regulación de centros motores situados en el Tronco Cerebral (Harvey et al., 1993; Bloedel, 1992a). Esta opinión es compartida por otros autores que han encontrado que el impedimento en memoria implícita que presentan los pacientes cerebelares podría explicarse como un déficit secundario a meras funciones ejecutivas (Appollonio et al., 1993).

Sin embargo, las lesiones reversibles realizadas en el Núcleo Interpósito tanto con lidocaina (Nordholm et al., 1993) como con muscimol (Krupa et al., 1993) o con enfriamiento (Clark et al., 1992) han fracasado sistemáticamente a la hora de reproducir los resultados de Welsh y Harvey. Thompson sugiere distintas explicaciones a resultados tan diversos: localización de la cánula, dosis y características del producto utilizado, y transferencia del aprendizaje de RC al no utilizar Welsh y Harvey animales sin experiencia previa (Krupa et al., 1993; Nordholm et al., 1993; Lavond et al., 1993). Thompson y sus colaboradores han contestado específicamente a la posibilidad de que el efecto de las lesiones del Núcleo Interpósito pueda reducirse a un simple defecto en la ejecución de la RC (Steinmetz et al., 1992; Ivkovich et al., 1993) y han diferenciado claramente las distintas consecuencias de inactivar el Núcleo Rojo (interrupción de la manifestación motora de la RC pero no del aprendizaje) (Clark y Lavond, 1993) y el Cerebelo (interrupción tanto de la expresión de la respuesta como del aprendizaje) (Krupa et al., 1993). Todos estos datos les llevan a concluir una vez más que la formación de la memoria de esta respuesta concreta (el

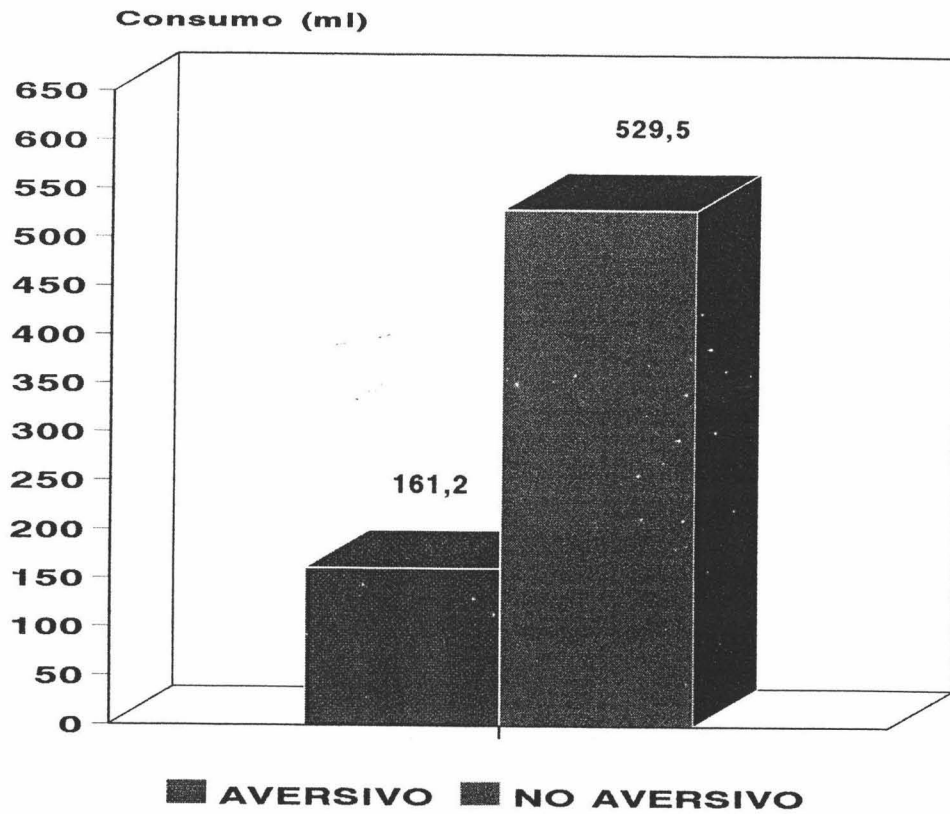
condicionamiento parpebral) es sólo posible en el Cerebelo y no en zonas del Tronco Cerebral como proponen otros (Bracha et al., 1993; Harvey et al., 1993). En cualquier caso, esta es una cuestión a dirimir entre los autores que defienden estas posturas encontradas (Bloedel, 1992b).

Por otra parte, los resultados de este experimento descartan la posibilidad de que la interrupción de AAG que observamos tras la lesión del Núcleo Interpósito se deba a una incapacidad motora (Experimento 1a). En efecto, los animales lesionados están, aparentemente y desde el punto de vista motor, plenamente capacitados para realizar correctamente la tarea indicada. La lesión podría afectar más bien a la convergencia estimular necesaria para conseguir establecer dicho aprendizaje y es en este punto donde podría ser relevante la integridad del Cerebelo al tratarse, como se dijo anteriormente, de una zona anatómica donde convergen tanto el estímulo gustativo como el visceral vagal. Los datos obtenidos en el presente experimento, sin embargo, no parecen indicar que sea el Cerebelo el lugar donde se almacenase el AAG a Corto Plazo una vez establecido.

Resultados similares a estos han sido comunicados en otros paradigmas de aprendizaje como el condicionamiento de evitación pasiva (Guillaumin et al., 1991), en la habituación a Largo Plazo de la respuesta de orientación (ver revisión en Leaton y Supple, 1991) y en el condicionamiento del reflejo de flexión patelar (Marchetti-Gauthier, 1990). Todos estos trabajos, incluidos el ahora presentado, sugieren una participación del Cerebelo en la adquisición de determinados aprendizajes pero cuestionan la importancia de esta estructura en el mantenimiento o el almacenamiento de esas mismas respuestas aprendidas. Esta participación diferenciada de una zona anatómica no parece ser exclusiva del Cerebelo, y así, por ejemplo, las lesiones en el Núcleo Pedunculopontino tegmental producen un impedimento en la adquisición de conductas de evitación sin que se vean afectadas ni la retención ni el recuerdo de esas mismas conductas (Fujimoto et al., 1992). Lo mismo puede afirmarse de la Amígdala en el aprendizaje de las respuestas conductuales de miedo: podría ser esencial en la adquisición del miedo condicionado pero no ser el lugar de almacenamiento del engrama (ver revisión en Lavond et al., 1993). Y, es que, realmente, "el lugar donde se produzca el aprendizaje no tiene que ser necesariamente el lugar donde se almacene la memoria" (Lavond et al., 1993).

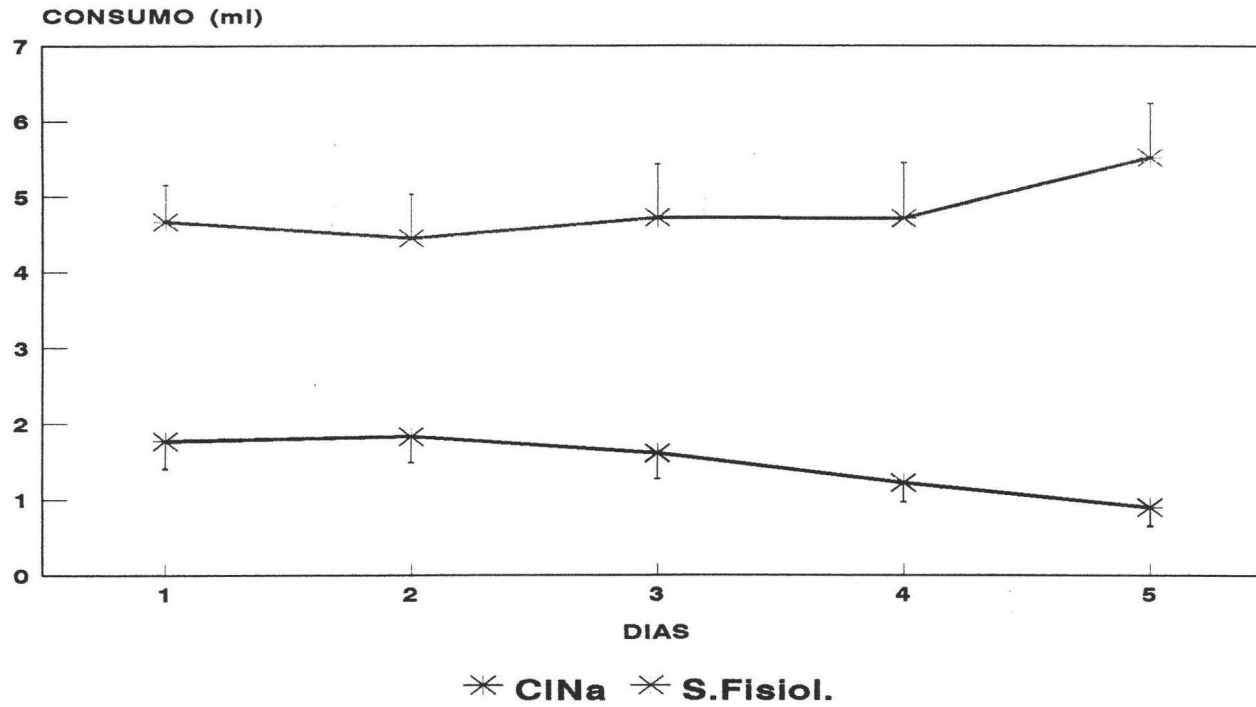
En resumen, el presente trabajo permite afirmar que, si bien el Núcleo Interpósito del Cerebelo podría participar en la adquisición de un Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo, la memoria de dicho aprendizaje podría no residir en esta estructura.

# APRENDIZAJE



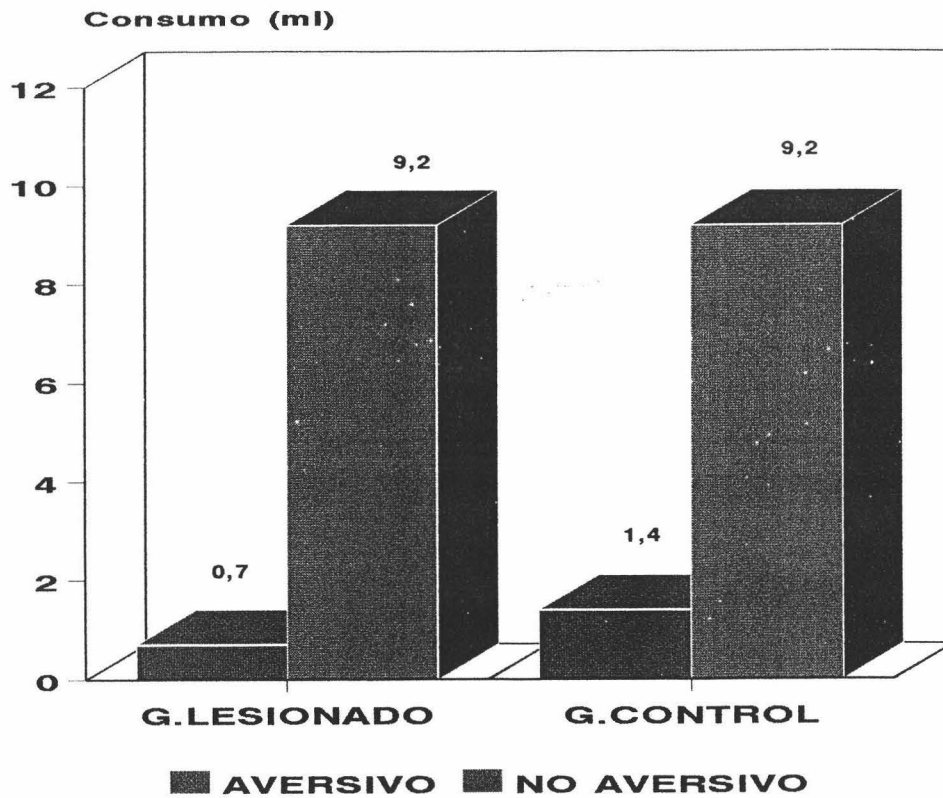
Gráfica 27.- Cantidades totales de ambos estímulos ingeridas por los animales antes de ser lesionados (n = 22).

## APRENDIZAJE



Gráfica 28.- Gráfica correspondiente a las cantidades medias consumidas en las diferentes sesiones experimentales antes de llevar a cabo las lesiones (n = 22).

## RECUERDO (postlesión)



Gráfica 29.- Cantidades medias ingeridas tanto por el Grupo Experimental (lesionado) (n = 5) como por el Grupo Control (no lesionado) (n = 7) durante la sesión de retención del aprendizaje.

## RETENCION

SESIONES										
	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		4 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
	CI <sub>Na</sub>	S.F.	CI <sub>Na</sub>	S.F.	CI <sub>Na</sub>	S.F.	CI <sub>Na</sub>	S.F.	CI <sub>Na</sub>	S.F.
$\Sigma x$	39.0	102.8	40.3	97.9	35.3	103.7	26.9	103.5	19.9	121.3
$\bar{x}$	1.7	4.6	1.8	4.4	1.6	4.7	1.2	4.7	0.9	5.5
S.D.	1.6	2.3	1.6	2.7	1.5	3.3	1.1	3.4	1.1	3.4

**Tabla XXXIV.-** Cantidades en ml ingeridas por los animales en las cinco sesiones experimentales del procedimiento a Corto Plazo antes de ser lesionados.

	CINa	S.F.
$\Sigma x$	3.5	46.0
$\bar{x}$	0.7	9.2
S.D.	0.6	1.1

**Tabla XXXV.-** Cantidades (ml) ingeridas por el grupo lesionado durante la prueba de retención del aprendizaje.

	CINa	S.F.
$\Sigma x$	10.2	64.8
$\bar{x}$	1.4	9.2
S.D.	2.1	3.0

**Tabla XXXVI.-** Cantidades (ml) ingeridas por el grupo no lesionado durante la prueba de retención del aprendizaje.



## DISCUSIÓN FINAL



El estudio de los mecanismos y de los circuitos neurales que determinan los procesos de aprendizaje y memoria ha sido abordado desde distintas perspectivas. Una de ellas es delimitar las estructuras anatómicas que sustentan una forma dada de aprendizaje. En este sentido se sitúan los estudios sobre Aprendizaje Aversivo Gustativo (AAG), una forma de aprender al parecer innata, universal y muy resistente a la extinción (ver revisiones en Gaston, 1979; Braveman y Bronstein, 1985; Chambers, 1990; Agüero, 1990). Fue descrita en primer lugar por García en 1955 y se manifiesta en la tendencia a evitar ingerir sustancias que previamente han estado asociadas con malestar visceral. Este aprendizaje puede ser establecido en el laboratorio siguiendo dos procedimientos experimentales distintos que denominamos a Corto Plazo (simultáneo) y a Largo Plazo (demorado). Diversos estudios han puesto de manifiesto que en este último y habitual paradigma en la mayoría de los laboratorios, el estímulo visceral aversivo se transmite mediante una vía humoral o sanguínea (Arnedo et al., 1991; Gallo et al., 1991; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990) y que estructuras como el Area Postrema (AP) (Ritter et al., 1980; Coil y Norgren, 1981; Gallo y Puerto, 1986; Gallo et al., 1988; Gallo et al., 1990; Gallo et al., 1991; Bernstein et al., 1992) y el Núcleo Parabraquial Lateral (NPBL) (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., 1993a y b) participarían en el.

La otra forma de establecer AAG es según el paradigma que hemos denominado AAG a Corto Plazo y que se caracteriza porque los estímulos gustativos y aversivo (CINa) se presentan simultáneamente (Deutsch et al., 1976), lo que determina la necesaria utilización de vías rápidas de transmisión (ver procedimiento). En este caso, el Nervio Vago parece ser la vía nerviosa inicial encargada de transmitir rápidamente hasta zonas superiores la información del estímulo visceral aversivo. De hecho, vagotomías a distintos niveles impiden este paradigma de AAG (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Se ha demostrado, asimismo, que en el establecimiento de este mismo paradigma estaría también implicado el Núcleo Parabraquial Medial (NPBM) (Agüero y Puerto, 1986; Agüero et al., 1991c).

En este contexto se enmarca la presente Tesis Doctoral que examina la participación de una nueva estructura, el Cerebelo, en el establecimiento de un AAG con las características ya detalladas. En efecto, lesiones electrolíticas de los Núcleos Profundos incapacitan a los animales lesionados para discriminar entre un sabor asociado con la administración de un producto aversivo, CINa, y otro asociado con una sustancia inocua, Suero Fisiológico Isotónico, cuando ambos se presentan de manera simultánea.

El CINa es un producto que reúne las condiciones para ser utilizado como estímulo

visceral aversivo en el procedimiento a Corto Plazo ya que en el sistema gastrointestinal existen receptores sensibles específicamente a la presencia de sodio a nivel digestivo (Mei y Garnier, 1986; Blake y Lin, 1978; Contreras y Kosten, 1981; Kobashi y Adachi, 1990); esta información sería procesada por el Nervio Vago (Simansky et al., 1982; Jerome y Smith, 1982; Jerome y Smith, 1984; Sakaguchi y Yamazaki, 1986). El CINa puede ser, por tanto, detectado y transmitido rápidamente hasta centros nerviosos superiores.

En este contexto, puede afirmarse que la lesión electrolítica de los Núcleos Profundos afecta específicamente al establecimiento de un procedimiento de discriminación simultánea. Esta misma lesión, sin embargo, deja intacta la posibilidad de adquirir un AAG a Largo Plazo o Demorado, de manera similar a lo observado tras lesiones del vermis (Supple et al., 1987) y que sugeriría que esta modalidad de aprendizaje podría utilizar estructuras jerárquicamente superiores y rostrales al Cerebelo y al Tronco Cerebral (Grill y Norgren, 1978).

El efecto de las lesiones parece ser específico en el sentido de que esos mismos animales lesionados adquieren sin dificultad un AAG que no exige simultaneidad entre los estímulos (AAG a Largo Plazo), independientemente de que la dilación estimular establecida sea de unos pocos minutos o más amplia (15 minutos) y del estímulo aversivo que se utilice, CINa o CILi (Experimentos 1b y 1d).

La imposibilidad de adquirir un AAG a Corto Plazo tras lesiones del Cerebelo se corresponde con los resultados observados en otros aprendizajes como el Condicionamiento Clásico (CC) de la membrana nictitante (Clark et al., 1992; Nordholm et al., 1993; Steinmetz et al., 1992; Thompson y Krupa, 1994; Sears y Steinmetz, 1990a) o el Condicionamiento del reflejo patelar (Marchetti-Gauthier et al., 1990) y en otras especies incluidas la humana (Daum et al., 1993b; Topka et al., 1993; Solomon et al., 1989; Canavan et al., 1994).

En general, los datos aportados por esta Tesis pueden inscribirse en las teorías que mantienen que el Cerebelo podría tener más funciones que las meramente motoras asignadas clásicamente (Marr, 1969; Eccles, 1977; Ito, 1982; Leiner et al., 1993; Keely y Ivry, 1990; Ivry y Baldo, 1992). Aunque, debido precisamente a las evidentes implicaciones de esta estructura en comportamiento motor (Thach y Montgomery, 1990; Brooks, 1986; Stein y Glickstein, 1992), fue necesario comprobar este aspecto en los animales lesionados, a pesar de que aparentemente no se detectó en ellos incapacidad motora alguna y a pesar de la existencia de estudios previos que minimizaban los efectos motores de lesiones similares

(Thompson et al., 1984a; Schneiderman-Fish et al., 1979; Supple et al., 1987). Así, las distintas pruebas de Inversión realizadas (Experimentos 1b, 2b y 4b) son indicativas de normalidad motora en los animales lesionados ya que pueden modificar patrones motores previamente establecidos en sesiones anteriores.

Por otra parte, los resultados obtenidos en los Experimentos 1a y 1b no pueden atribuirse a una mayor o menor potencia aversiva de los distintos estímulos aversivos utilizados. La potencia aversiva de un producto con respecto a otro en AAG no es un valor absoluto sino relativo; como se ha demostrado en trabajos previos realizados en nuestro laboratorio y en la presente Tesis Doctoral, está en función de la modalidad de aprendizaje, a Corto o a Largo Plazo, que se emplee, ya que, por ejemplo, el CILi, independientemente de la dosis empleada, se ha mostrado ineficaz para el establecimiento de paradigmas a Corto Plazo (Arnedo et al., datos no publicados). Del mismo modo, el estímulo empleado u otras condiciones (demora estimular) pueden determinar el que intervenga una u otra vía anatómica (vagal o sistémica) (Knox et al., 1994; Arnedo et al., 1993; Arnedo et al., 1991).

Estos resultados no pueden explicarse tampoco como una consecuencia derivada de un diferente grado de dificultad entre ambos paradigmas, puesto que el AAG a Corto Plazo puede establecerse fácilmente tanto en animales no lesionados (Arnedo et al., 1990; Grupos Control de esta Tesis) como lesionados (Arnedo et al., 1990; Agüero et al., 1990; Experimento 2c).

Entre las teorías referidas anteriormente habría que destacar la elaborada y desarrollada por Thompson y colaboradores a lo largo de los últimos años acerca del circuito neuronal que permite el condicionamiento de la membrana nictitante. Los abundantes datos recogidos por este grupo de investigadores procedentes de registros, estimulaciones y lesiones, señalan al Cerebelo como el lugar donde se produciría el cambio plástico responsable de la respuesta aprendida (McCormick y Thompson, 1984; Thompson, 1986 y 1988; Lavond et al., 1993; Thompson et al., 1984a y b; Thompson y Krupa, 1994).

A pesar de esa abundancia de datos, existen una serie de discrepancias entre el grupo liderado por Thompson y otros autores. Una de ellas es la relativa al papel que desempeña la **corteza cerebelar** en el condicionamiento parpebral (McCormick y Thompson, 1984; revisiones en Perret et al., 1993; Hardiman y Yeo, 1992; Lavond et al., 1993; Ver Discusión del Capítulo II). Las dudas planteadas en su momento acerca de si el córtex cerebelar era esencial o no en dicho condicionamiento, hacían necesario estudiar este aspecto también en el AAG a Corto Plazo una vez visto cómo la lesión de los Núcleos Profundos impedía el

establecimiento de una asociación que, por sus requisitos temporales, se asemejaba al CC. Para ello se llevó a cabo el Experimento 2c, en el que se lesionó el cortex cerebelar a un grupo de animales. Esta lesión se efectuó concretamente alrededor de la Fisura Primaria, en los lóbulos V y VI del vermis, ya que estudios anatómicos y electrofisiológicos habían puesto de manifiesto que esta zona contaba con información vagal (Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Nisimaru et al., 1991; Hennemann y Rubia, 1978; Dell y Olson, 1951a; Tong et al, 1991). Dado que la integridad de las aferencias vagales es requisito imprescindible para el establecimiento de un AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1993) parecía lógico, por tanto, lesionar precisamente aquella zona de la corteza cerebelar que recibía aferencias vagales. Las lesiones, sin embargo, no impidieron que los animales lesionados aprendieran a establecer la asociación. Las implicaciones de estos resultados se analizan detalladamente en el Capítulo II pero, en síntesis, dichos resultados no excluyen, sin embargo, alguna aportación del cortex cerebelar en el AAG simultáneo ya que existe evidencia de que posee no sólo aferencias viscerales sino también gustativas (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) necesarias para el establecimiento de un AAG a Corto Plazo.

En la actualidad, y a pesar de discrepancias iniciales, se ha producido un cierto consenso acerca del efecto de las lesiones corticales en el condicionamiento parpebral (Thompson y Krupa, 1994). Así, lesiones limitadas a HVI causan un daño variable en la RC pero se observa una cierta recuperación (Yeo y Hardiman, 1992). Lesiones más amplias que incluyen HVI, Crus I, Crus II y lóbulo paramediano, pueden ocasionar sustanciales incapacidades (Perret et al., 1993) aunque la readquisición del condicionamiento tras lesiones corticales se produce frecuentemente (Clark y Lavond, 1994; Woodruff-Pak et al., 1993). Parece claro que el cortex cerebelar juega un papel crítico en el aprendizaje normal de la RC si bien la cuestión de si es o no esencial permanece sin resolver (Thompson y Krupa, 1994). Sin embargo, a pesar de ese consenso, hay autores que piensan que el cortex sería esencial tan sólo en algún aspecto de la RC (Perrett et al., 1993; Hesslow, 1994), para otros no lo sería en absoluto (Clark y Lavond, 1994) y para otros más la clave estaría en que ambas estructuras, HVI e Interpósito tendrían papeles diferentes en el CC parpebral (Gould y Steinmetz, 1994).

Si como se ha afirmado repetidamente, los engramas de la memoria del condicionamiento parpebral se forman en el cortex cerebelar y se encuentran distribuidos en múltiples lugares de dicho cortex (Thompson, 1986; Thompson, 1991; Lavond et al., 1993; Thompson y Krupa, 1994), es probable que puedan existir también lugares corticales alternativos donde tenga lugar la convergencia vagal-gustativa y que las lesiones realizadas

en el Experimento 2c no hayan incluido. En este sentido, sería interesante ver los resultados que se obtendrían tras la lesión de HVI, la zona cortical que proyecta a la región Interpósito-Dentado, a pesar de no contar con evidencia anatómica que confirme la presencia de información visceral o gustativa en dicha zona. Delimitar ambas estructuras, HVI y Núcleos Profundos, sería tanto más recomendable en cuanto que nuestras lesiones nucleares, en ocasiones, se extienden dorsalmente en dirección al cortex (Figura 4). Pero, lamentablemente, lesionar el cortex cerebelar conlleva numerosas dificultades técnicas (Woodruff-Pak et al., 1993) como hemos podido comprobar.

Con independencia de las zonas que cubran, las aferencias vagales llegan al Cerebelo principalmente mediante fibras trepadoras que tienen su origen en el Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.) (Nisimaru et al., 1991; Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1985; Hennemann y Rubia, 1978). La vía anatómica que sigue la información visceral vagal hasta alcanzar a la O.I. no se conoce con exactitud (Hennemann y Rubia, 1978; Tong et al., 1991) aunque se ha comunicado tanto la existencia de una proyección vagal directa desde la región abdominal hasta la O.I. (Fitzakerley y Lucier, 1988) como desde el Núcleo del Tracto Solitario (Loewy y Burton, 1978). Todo ello ha determinado que se considere a la O.I. como un centro de integración de información visceral, cuyas células responden a la estimulación de los nervios espláncnicos y vagales (Perrin y Crousillat, 1980; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994). Pues bien, lesiones electrolíticas de la región olivar impiden la adquisición de un AAG a Corto Plazo (Experimento 2a) sin afectar al paradigma a Largo Plazo (Experimento 2b). Estos resultados, sin embargo, no bastan para explicar los datos obtenidos en el Experimento 1a ya que, aunque las lesiones electrolíticas del Núcleo Interpósito producen degeneración retrógrada en la O.I. (Thompson y Krupa, 1994), se ha demostrado que la inactivación del Interpósito con ácido Kainico tiene los mismos efectos que las lesiones electrolíticas sobre el condicionamiento de la membrana nictitante (Lavond et al., 1985) indicando así la independencia de ambos efectos. Es más, la interrupción del AAG a Corto Plazo tras la lesión de O.I. podría dotar de significado funcional a la presencia de información vagal en el Núcleo de la O.I.: proporcionar una vía para que esa información visceral alcance al Cerebelo y posibilite en él el establecimiento de un AAG a Corto Plazo.

Además, parece que la información vagal-olivar no sólo llega hasta el cortex cerebelar sino también a los Núcleos Internos del Cerebelo puesto que células de la O.I. envían sus fibras tanto al cortex como a la zona nuclear del Cerebelo (Qvist, 1989; Kitai et al., 1977; Groenewegen y Voogd, 1977; Courville et al., 1977). De hecho, se ha demostrado la existencia de un circuito anatómico olivo-cerebelo-olivar (Buisseret-Delmas y Angaut, 1993)



que para Ito (Ito, 1993a) formaría parte del módulo funcional (corticonuclear) mediante el cual el Cerebelo participaría en el aprendizaje. En cualquier caso, esta zona ha resultado esencial en el establecimiento de otros aprendizajes, además del AAG, como son el aprendizaje espacial en ratas (Dahhaoui et al., 1992), el condicionamiento del reflejo patelar en gatos (Voneida et al., 1990) o el condicionamiento de la membrana nictitante en conejos (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994). Por ello, lesiones electrolíticas o químicas del complejo olivar han suprimido respuestas previamente establecidas e impedido la adquisición de RC nuevas (McCormick et al., 1985; Mintz et al., 1994; Dahhaoui et al., 1992; Voneida et al., 1990). Registros electrofisiológicos han confirmado igualmente la probable participación de la O.I. en el proceso de adquisición ya que conforme se desarrolla el aprendizaje, la actividad de sus células decrece (Sears y Steinmetz, 1991; Gruart, 1993).

Pero, como se dijo más arriba, hay un punto que permanece sin establecer definitivamente y es la ruta anatómica que seguirían las aferencias viscerales vagales hasta alcanzar el Núcleo de la O.I. Se han apuntado algunas posibilidades (Fitzakerley y Lucier, 1988; Loewy y Burton, 1978) pero ahora se puede añadir una más: una conexión indirecta a través del Núcleo Parabraquial (NPB). Esta zona pontina se divide en dos partes denominadas parabraquial lateral (NPBl) y medial (NPBm) que poseen conexiones anatómicas diferentes (Fulwiler y Saper, 1984) y distinta funcionalidad (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Bechara et al., 1993). Así, la zona más medial estaría relacionada con la transmisión de información gustativa (Hermann y Rogers, 1985; Norgren y Pfaffmann, 1975) y recibiría también aferencias vagales (Rogers et al., 1979; Hermann y Rogers, 1985; Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., en vías de publicación). En cuanto al NPBl parece participar fundamentalmente en funciones relacionadas con información de tipo visceral que recibe tanto de zonas caudales del NTS (Ricardo y Koh, 1978; Kobashi et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985) como desde el Área Postrema (AP) (Yamamoto et al., 1992; Lança y Van der Kooy, 1985). La presencia de toda esta información explica que el NPB pontino haya sido repetidamente estudiado en relación al AAG (Flynn, et al., 1991; Spector et al., 1992; Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., 1993a y b; Bechara et al., 1993) y que se le considere un centro de convergencia de aferencias viscerales y gustativas (Rogers et al., 1979; Agüero y Puerto, 1986; Yamamoto et al., 1993; Spector et al., 1992).

Estudios recientes han puesto de manifiesto que en el subnúcleo externo del NPBl (NPBLE) podrían coexistir información visceral vagal (Bernard et al., 1994; Hochstenbach et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Kobashi et al., 1993; Yamamoto et al., 1992; Yamamoto et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985; Suemori et al., 1994) y humoral

(Yamamoto et al., 1992). Este hecho por sí sólo, independientemente de que el NPB fuera o no una estación de relevo de aferencias vagales hacia la O.I., justificaba el estudio de la participación del NPBL en ambos paradigmas de AAG. Al hacerlo, pudimos comprobar que lesiones electrolíticas restringidas a dicho subnúcleo impiden específicamente el AAG a Corto Plazo (Grupo Experimental 3a) que, como venimos discutiendo, requiere la integridad de la vía vagal (Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Conductualmente, pues, parece también factible la existencia de aferencias vagales en el NPBL; si éste envía información vagal a la O.I. está por demostrar anatómicamente. Sin embargo, sí hay constancia de que fibras procedentes del NPB llegan hasta el Cerebelo (Somana y Walberg, 1979b; Saigal et al., 1980; Batini et al., 1978). De estas aferencias cerebelares, la mayor parte proceden del Parabraquial Lateral, en concreto, de una zona que podría corresponder con el lateral externo (NPBL) (Somana y Walber, 1979b) lo que supondría una ruta anatómica alternativa a la O.I. para las aferencias vago-cerebelares.

Por otro lado, los datos obtenidos en el Grupo Lesionado 3a no apoyan la participación del Núcleo Parabraquial Lateral externo en el AAG a Largo Plazo ni probablemente en el eje circulatorio-AP-NPBL. Pero si se amplía la extensión de la zona lesionada de manera que incluya otros subnúcleos como el Núcleo central lateral (NPBLc), entonces se observa la interrupción (Grupo Experimental 3c) o la dificultad (Grupo Experimental 3b) en el establecimiento de un AAG a Largo Plazo con administración de CILi. El hecho de que los animales del Grupo Experimental 3b acaben aprendiendo parece indicar que la lesión no ha interferido con el procesamiento gustativo ya que la demora estimular introducida en el paradigma a Largo (15 minutos) elimina por sí sola la posibilidad de utilizar otros índices (posición, olfato,...) para establecer la asociación (Panhuber, 1982; García, 1989; Bermudez-Rattoni et al., 1989). Además, las lesiones en ningún caso fueron tan ventrales como para afectar al núcleo medial externo, que recibe inputs gustativos (Fulwiler y Saper, 1984). Los resultados obtenidos ahora confirman estudios conductuales previos (Agüero et al., 1993a) y apoyan la existencia en otros subnúcleos del Núcleo Parabraquial de información sensorial necesaria para el establecimiento de AAG a Largo Plazo (Yamamoto et al., 1992; Li y Rowland, 1993).

Si el Cerebelo, como parecen demostrar datos presentados, es esencial en el aprendizaje de discriminación simultánea, parece lógico suponer que la inactivación de una estructura eferente a él produciría resultados similares a los obtenidos tras lesión de la zona nuclear (Experimento 1a). Una de esas estructuras es el Núcleo Pedunculopontino (NPP) (Semba y Fibiger, 1992; Hazrati y Parent, 1992), grupo celular tegmental que forma parte de la Formación Reticular del Mesencéfalo y Puente. Confirmando nuestras previsiones, las

lesiones electrolíticas del NPP impiden también un AAG con los requisitos característicos del paradigma a Corto Plazo (Experimento 4a). Es probable, como decimos, que este aprendizaje no sea posible porque la lesión haya interrumpido la información procedente del Cerebelo ya que el NPP recibe aferencias de todos los Núcleos Profundos del Cerebelo tanto en monos (Hazrati y Parent, 1992) como en ratas (Semba y Fibiger, 1992). Pero otra explicación alternativa es que con la lesión hayamos interferido en el procesamiento del estímulo visceral aversivo. Efectivamente, Bechara y col., (1993) al estudiar las diferentes vías anatómicas que conducen los aspectos recompensantes o aversivos de los opiáceos (ver Capítulo IV), llegan a la conclusión de que el NPP podría también procesar información vagal. De hecho, esta zona del tegmento está relacionada anatómicamente tanto con el NTS como con el NPB (Semba y Fibiger, 1992; Steckler et al., 1994b). Es una posibilidad que no puede descartarse a partir de los datos presentados aquí.

La importancia del NPP en la adquisición de aprendizajes asociativos ha sido puesta de manifiesto recientemente tanto en procedimientos aversivos (Fujimoto et al., 1992) como reforzantes (Bechara y Van der Kooy, 1989; Olmstead y Franklin, 1993) y, aunque se duda de que esté relacionado con procesos de memoria, no se descarta la posibilidad de que participe en funciones cognitivas, aprendizaje incluido (ver Steckler et al., 1994b).

Por otro lado, la inactivación del NPP no impide el aprendizaje de un AAG a Largo Plazo (Experimento 4b) demostrando, en primer lugar, que la lesión no ha producido incapacidades motoras. Realmente, otros estudios ya habían establecido la ausencia de anomalías aparentes tras lesiones similares (Bechara et al., 1993; Bechara y Van Der Kooy, 1992b; Bechara y Van Der Kooy, 1992a; Swerdlow y Geyer, 1993; Koch et al., 1993) pero las relaciones que el NPP mantiene con estructuras del sistema motor extrapiramidal como son los Ganglios Basales y la Sustancia Negra (Semba y Fibiger, 1992; Grunberg et al., 1992; Lavoie y Parent, 1994b y c), así como el componente motor que se le atribuye (Skinner y García-Rill, 1984; García-Rill, 1986) hacían necesaria la comprobación de este aspecto. En segundo lugar, los datos del Experimento 4b, a pesar de la existencia de proyecciones desde zonas gustativas del Núcleo del Tracto Solitario (NTS) hasta el NPP (Semba y Fibiger, 1992), permiten descartar el que la lesión haya interferido con el procesamiento del estímulo gustativo, ya que, de otro modo, ni el aprendizaje se habría efectuado, ni se habría resuelto satisfactoriamente la prueba de Inversión. La independencia anatómica de ambos paradigmas de AAG, a Corto y a Largo Plazo, se ha puesto una vez más de manifiesto.

Una última cuestión abordada en la presente Tesis Doctoral es la que hace referencia



a si el Cerebelo sería o no el lugar donde se almacenasen las respuestas aprendidas. Ya se ha visto que las opiniones acerca del papel exacto que esta estructura desempeña en aprendizaje asociativo distan mucho de ser unánimes (ver Capítulos II y V; Kelly et al., 1990; Topka et al., 1993; Welsh y Harvey, 1991). En concreto, hay quienes, aún admitiendo la intervención del Cerebelo en procesos adquisitivos, dudan de su relevancia como sede de los recuerdos (Marchetti-Gauthier et al., 1990; Guillaumin et al., 1991; Bloedel, 1992a y b). Por este motivo, una vez establecida la participación de los Núcleos Internos del Cerebelo en la adquisición de un AAG a Corto Plazo (Experimento 1a) de manera similar a lo observado en otros aprendizajes (Lye et al., 1988; Daum et al., 1993b; Solomon et al., 1989; Topka et al., 1993; Kapp y Supple, 1992; Marchetti-Gauthier et al., 1990), había que determinar si esta región resultaba o no esencial en la retención del mismo. Al analizar este aspecto, pudo comprobarse que la lesión de los núcleos cerebelares no interrumpía un AAG a Corto Plazo establecido con anterioridad a la lesión (Experimento 5) a diferencia de lo observado por otros autores en el condicionamiento de la membrana nictitante (Steinmetz et al., 1992; Lavond et al., 1993). Nuestros resultados recuerdan, sin embargo, a los que se obtienen a veces tras lesiones del cortex cerebelar ya que, en este caso, es frecuente observar la recuperación de las RC (Hardiman y Yeo, 1992; Woodruff-Pak, et al., 1993).

En cualquier caso, la diferente participación de una estructura en procesos de adquisición y de retención, no es exclusiva del Cerebelo ya que fenómenos similares se han observados en otros lugares y en otros aprendizajes (Fujimoto et al., 1992; Lavond et al., 1993; Steckler et al., 1994b; Bechara y Van der Kooy, 1989).

En resumen, existen pruebas de que el Nervio Vago es la vía de transmisión para el estímulo visceral en el paradigma de AAG a Corto Plazo (Arnedo y Puerto, 1986; Arnedo et al., 1990; Arnedo et al., 1991; Arnedo et al., 1993). Este mismo paradigma de aprendizaje se interrumpe tras lesiones en el NPBm (Agüero y Puerto, 1986; Agüero, 1990; Agüero et al., submitted), en el NPBL (Grupos Experimentales 3a y 3b del presente experimento), en el Núcleo de la Oliva Inferior (O.I.) (Experimento 2a) y en la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo (Experimento 1a). Asimismo, existe abundante información de la existencia de aferencias vagales en todas estas estructuras nerviosas, en el NPBm (Rogers et al., 1979; Hermann y Roger, 1985), en el NPBL (Bernard et al., 1994; Hochstenbach et al., 1993; Gieroba y Blessing, 1994; Kobashi et al., 1993; Yamamoto et al., 1992; Yamamoto et al., 1993; Hermann y Rogers, 1985), en O.I. (Tong et al., 1991; Okahara y Nisimaru, 1991; Perrin y Crousillat, 1980 y 1985; Nisimaru et al., 1991; Fitzakerley y Lucier, 1988; Yousfi-Malki y Puizillout, 1994) y en el Cerebelo (Dell y Olson, 1951; Hennemann y Rubia, 1978). A partir de todos estos datos puede concluirse que las

aferencias vagales que tienen su primer relevo en el NTS (Knox et al., 1994; Kobashi y Adachi, 1986; Kobashi et al., 1993; Cecheto, 1987), alcanzan también al NPBL e y desde aquí, bien directamente o bien a través de O.I., llegarían hasta el Cerebelo.

Por otro lado, el Cerebelo (lóbulo VI) cuenta también con información gustativa (Scalera y Benassi, 1989; Hanamori y Ishiko, 1987; Hanamori et al., 1986) y, aunque desconocemos cómo accede esa información a él, podemos hipotetizar varias posibilidades que aparecen recogidas en la Figura 10. Es posible, por ejemplo, que la transmisión del gusto se efectúe mediante una proyección directa que desde el NTS alcanza no sólo a los lóbulos V y VI del cortex cerebelar (Batini et al., 1978; Somana y Walberg, 1979a; Saigal et al., 1980; Brooks, 1986), sino también a los núcleos cerebelares (Somana y Walberg, 1979a) o bien que se lleve a cabo a través de las proyecciones que el PBNm puede enviar al vermis (Somana y Walberg, 1979b; Batini et al., 1978; Saigal et al., 1980). No obstante, hay que resaltar el hecho de que la conservación de la capacidad de establecer un AAG a Largo Plazo demuestra que la lesión de la zona Interpósito-Dentado no ha afectado a una modalidad sensorial, la gustativa, en función de la cual se logra el AAG a Largo Plazo tal y como pone de manifiesto la prueba de Inversión (Experimento 1b). Esto mismo resulta válido en el caso de las lesiones efectuadas en la O.I., en el N.P.P. y en el NPBL e.

Aunque la mayoría de las conexiones anatómicas expuestas, tanto vagales como gustativas, son conocidas en referencia al vermis cerebelar, no puede descartarse que la información llegue también a la zona nuclear Interpósito-Dentado ya que estudios recientes han confirmado, tanto anatómica como electrofisiológicamente, la existencia de proyecciones directas desde áreas laterales de los Núcleos Pontinos y desde O.I. dorsal accesoria que alcanzan tanto al lóbulo VI del Cerebelo como al Núcleo Interpósito (Courville et al., 1977; Gould et al., 1993; Steinmetz y Sengelaub, 1992; Qvist, 1989). Además, quizá estén por determinar la mayoría de las proyecciones desde núcleos troncoencefálicos hasta los núcleos cerebelares (Dietrichs y Walberg, 1987).

Esta participación del Cerebelo en procesos de aprendizaje ha sido interpretado como un fenómeno de Depresión a Largo Plazo (Ito, 1982) que tiene lugar cuando se activan conjuntamente las fibras paralelas y las trepadoras en una célula de Purkinje lo que se traduce en una depresión prolongada de la sinapsis dendrita de Purkinje-fibra paralela y en el que intervendrían receptores de glutamato no-NMDA (AMPA y metabotrópicos) (Linden, 1994). La intervención del cortex cerebelar en aprendizaje no puede descartarse, por tanto, ni anatómicamente, ni electrofisiológicamente ni conductualmente (Glickstein y Yeo, 1990; Lou

y Bloedel, 1988; Supple y Leaton, 1990; Schreurs et al., 1991; Black et al., 1990; Thompson y Krupa, 1994). La plasticidad sináptica en el Núcleo Interpósito no ha sido tan estudiada como en la corteza pero esta Tesis ofrece evidencia de que en el Cerebelo, núcleos y/o corteza, se produce la convergencia anatómica vago-gustativa necesaria para la adquisición de un AAG a Corto Plazo. En este aprendizaje, el Cerebelo puede ser el sustrato esencial de la asociación entre estímulos que posibilite el proceso adquisitivo aversivo-gustativo, tal y como diversos estudios parecen proponer. Por el contrario, aunque a priori y desde el punto de vista anatómico resulte improbable, podría ser una zona de mayor o menor relevancia dentro de un sistema neurobiológico a través de la cual se procesarían los estímulos viscerales mediados por el Nervio Vago así como la información gusto-olfatoria. Sin embargo, esta última alternativa no puede olvidar que tanto una modalidad de información sensorial (visceral) como la otra (gustativa) permanecen intactas tal y como se desprende de los resultados del Experimento 1b.

Los datos presentados permiten diferenciar una vez más entre los dos paradigmas de AAG utilizados en nuestro laboratorio como dos sistemas o procesos adquisitivos, independientes entre sí y con un soporte anatómico también diferente (Ver Discusión del Experimento 1c). Efectivamente, se ha podido comprobar la independencia anatómica entre ambos ya que ni las lesiones de los Núcleos Profundos cerebelares, ni de la O.I., ni del PBL e ni del NPP que impiden el AAG a Corto Plazo, afectan al procedimiento a Largo Plazo. Y hemos demostrado, asimismo, que se trata de dos formas distintas de aprender y de recordar (Puerto et al., 1986), de manera que, siguiendo la terminología que emplea Squire (Squire, 1986; Squire y Zola-Morgan, 1988), podríamos afirmar que el AAG a Corto Plazo tendría un carácter "procedimental" y, como tal sería accesible sólo a través de la ejecución (Squire, 1992b; Squire, 1986), sería acumulativo en el sentido de que las nuevas asociaciones pueden ser adquiridas implícitamente sólo después de varias repeticiones (Squire, 1992a y b) y dependería, por último, de estructuras jerárquicamente inferiores (Tronco Cerebral y Cerebelo) (Thompson et al., 1984a y b; Thompson, 1988; Glickstein y Yeo, 1990). Además, compartiría con la Memoria no Declarativa el carácter de inflexibilidad en el sentido de que solamente es posible una ejecución concreta cuando se presenta un contexto estimular idéntico en todos los ensayos de aprendizaje y recuerdo (Eichenbaum et al., 1986; Squire, 1992b; Eichenbaum, 1992; Glisky et al., 1986; Glisky y Schacter, 1988). Esta sería la explicación de por qué los animales que establecen un AAG a Corto Plazo fracasan en la Prueba de Inversión, en la que tan sólo se ha modificado la posición de los estímulos gustativos (Experimento 1c).

El AAG a Largo Plazo, por el contrario, sería asimilable al aprendizaje "explícito"

o Memoria Declarativa que permite una recuperación consciente, disponible para múltiples sistemas de respuesta, segura y rápida al tiempo que incorpora la información nueva rápidamente (puede instaurarse en un solo ensayo), y flexible ya que la recuperación puede realizarse en una variedad de contextos fuera de la situación de aprendizaje (Squire, 1986; Squire y Zola-Morgan, 1991; Eichenbaum, 1992; Squire, 1992a; Squire et al., 1993) y en la que intervendrían estructuras superiores (Squire y Zola-Morgan, 1991). Todas estas características son asimilables, como decimos, al AAG a Largo Plazo, ya que hemos comprobado que puede ser establecido en una única sesión (Experimentos 2b y 4b) y que sigue manifestándose aunque las condiciones iniciales de aprendizaje se modifiquen (Experimentos 1b, 1d, 2b y 4b).

En el AAG, por tanto, al igual que en otros procesos adquisitivos, puede comprobarse la realidad biológica de múltiples sistemas de memoria. Los organismos disponen para ello de variadas formas de beneficiarse de la experiencia y del conocimiento adquirido. Estos distintos sistemas de memoria tendrían diferentes formas de operar, adquirirían diferentes clases de conocimiento y dependerían de diferentes estructuras cerebrales y conexiones para su funcionamiento (Squire, 1992a). Todo ello se ha demostrado válido para el AAG ya que los dos paradigmas por los que puede establecerse este aprendizaje difieren en el procedimiento utilizado para su adquisición, en las vías anatómicas que los sustentan, en la rapidez con que se adquieren y en su flexibilidad.

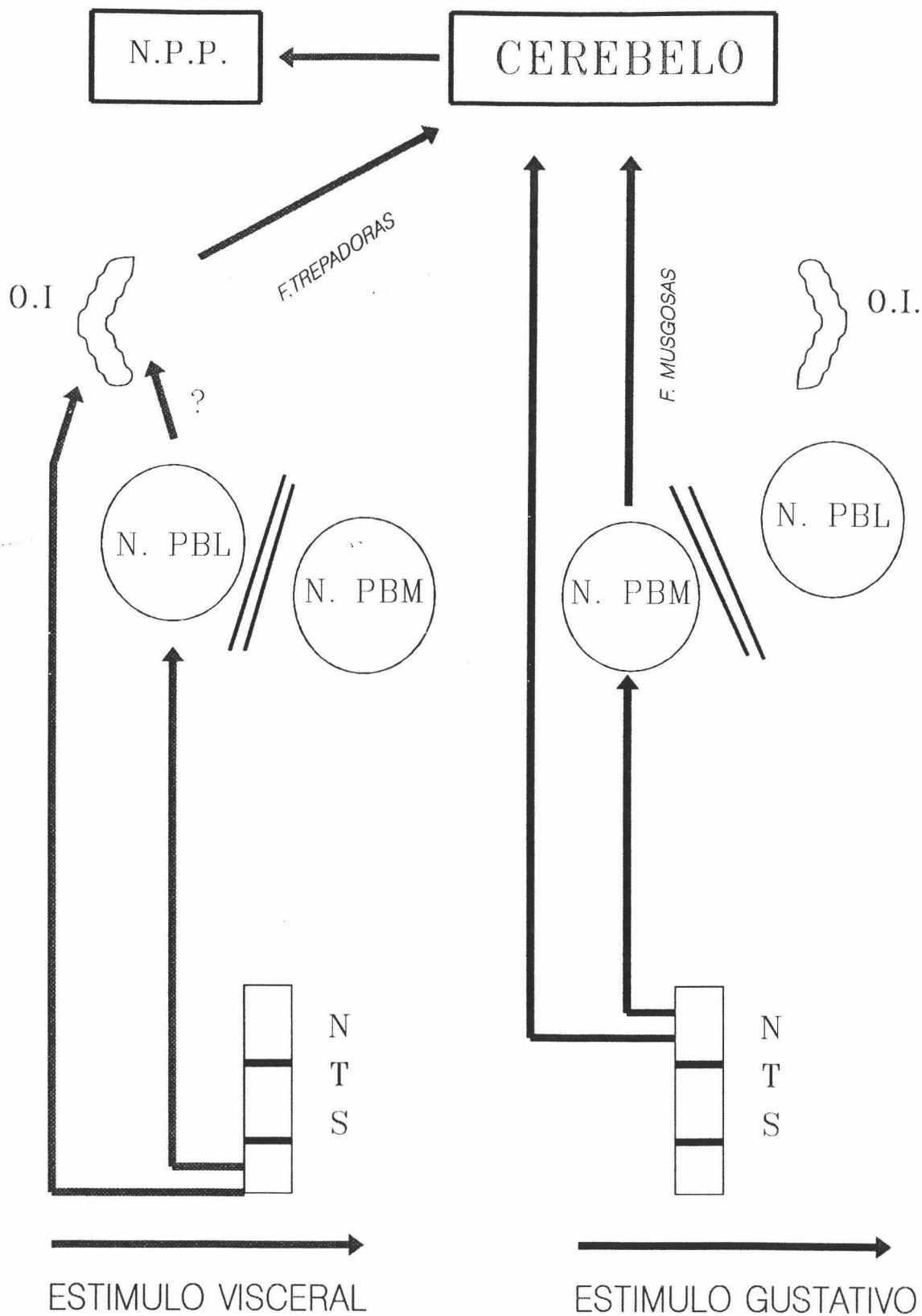


Figura 10.- Esquema representativo de la diferentes propuestas ofrecidas en la presente Tesis Doctoral.

## CONCLUSIONES

De las series experimentales presentadas en esta Tesis pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- 1) Lesiones electrolíticas de la zona Interpósito-Dentado del Cerebelo interrumpen el Aprendizaje Aversivo Gustativo a Corto Plazo. Este resultado demuestra, una vez más, la intervención del Cerebelo en conductas autonómicas, por un lado, y en aprendizaje por otro.
- 2) Esta interrupción del AAG a Corto Plazo es un efecto específico de la lesión ya que los animales lesionados consiguen establecer un Aprendizaje Aversivo Gustativo a Largo Plazo. Esto implica que el Cerebelo no es relevante en esta modalidad de AAG (que podría requerir otras estructuras) y que la lesión no ha afectado ni a la información gustativa ni a la visceral necesarias para establecer un AAG a Largo Plazo.
- 3) Esta interrupción del AAG a Corto Plazo no parece ser debida a déficits motores puesto que los animales lesionados resuelven con éxito la Prueba de Inversión para la que se requiere flexibilidad motora.
- 4) La lesión del Núcleo de la Oliva Inferior, principal fuente de aferencias viscerales vagales al Cerebelo, elimina, también específicamente, la posibilidad de establecer un AAG a Corto Plazo.
- 5) Similares resultados se obtienen tras la lesión del Núcleo Parabraquial Lateral externo (PBL<sub>e</sub>).
- 6) El PBL<sub>e</sub> no resulta esencial para el AAG a Largo Plazo a menos que la lesión incluya otros subnúcleos del Complejo Parabraquial Lateral.
- 7) Las pruebas funcionales aquí presentadas permiten proponer al Cerebelo como lugar de convergencia o procesamiento de la información gustativa y/o visceral necesaria para establecer un AAG que se ajuste a las características del aprendizaje a Corto Plazo.
- 8) Las lesiones electrolíticas del Núcleo Pedunculopontino tegmental (NPP) (que recibe información procedente de los Núcleos Internos del Cerebelo), también impiden la adquisición de un AAG a Corto Plazo sin afectar al procedimiento a Largo Plazo.
- 9) Animales lesionados en la zona Interpósito-Dentado retienen un AAG a Corto Plazo establecido con anterioridad a la lesión lo que implica que esta zona del Cerebelo no sería

el lugar de almacenamiento de esa respuesta aprendida.

10) La electrocauterización de la zona adyacente a la Fisura Primaria del cortex cerebelar no basta para impedir el establecimiento de un AAG a Corto Plazo. Estos resultados, sin embargo, no parecen suficientes por sí solos para excluir un papel de la corteza cerebelar en el aprendizaje.

11) Los resultados presentados confirman finalmente la independencia de ambos paradigmas de AAG, a Corto y a Largo Plazo, que requieren distintas condiciones y distinto soporte anatómico para su adquisición y para su manifestación a través de tareas de Inversión que implican flexibilidad en el proceso de adquisición.





## BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, T.W. y KANDEL, E.R., (1988). Is contiguity detection in classical conditioning a system or a cellular property? Learning in *Aplysia* suggests a possible molecular site. *TINS*, 11(4), 128-135.
- AGUERO, A., (1990). Participación del Núcleo Parabraquial troncoencefálico en el Aprendizaje Interoceptivo: Disociación comportamental de los diferentes subnúcleos (medial y lateral) en el procesamiento visceral y gustativo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- AGUERO, A. y PUERTO, A., (1986). El área parabraquial como centro de convergencias sensoriales relacionadas en el aprendizaje interoceptivo. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 41 (3), 503-510.
- AGUERO, A., GALLO, M., ARNEDO, M., MOLINA, F. y PUERTO, A., (1991a). Medial Parabrachial Nuclei (PBNm): I.- LiCl-induced Taste Aversion Learning after Delayed and Contiguous interstimulus intervals. (submitted)
- AGUERO, A., GALLO, M., ARNEDO, M., MOLINA, F. y PUERTO, A., (1991b). Medial Parabrachial Nuclei (PBNm): II.- Taste discrimination and LiCl induced aversion learning. (submitted)
- AGUERO, A., GALLO, M., ARNEDO, M. y PUERTO, A., (1991c). Medial Parabrachial Nucleus (PBNm): III.- NaCl induced Short-term Taste Aversion learning. (submitted).
- AGUERO, A., ARNEDO, M., GALLO, M. y PUERTO, A., (1993a). The functional relevance of the Lateral Parabrachial Nucleus in Lithium Chloride-Induced Aversion Learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 45, 973-978.
- AGUERO, A., ARNEDO, M., GALLO, M. y PUERTO, A., (1993b). Lesion of the Lateral Parabrachial Nuclei disrupt aversion learning induced by electrical stimulation of the Area Postrema. *Brain Research Bulletin*, 30, 585-592.
- AKSHOOMOFF, N.A. y COURCHESNE, E., (1992). A new role for the Cerebellum in cognitive operations. *Behavioral Neuroscience*, 106 (5), 731-738.
- ALBERTS, J.R., (1987). Early learning and ontogenetic adaptation. En Krasnegor, N.A., Blass, E.M., Hofer, M.A. y Smotherman, W.P. (Ed.) *Perinatal Development. A*

*Psychobiological perspective*. Academic Press.

- ANGAUT, P. y CICIRATA, F., (1994). Organisation anatomo-fonctionnelle de la voie d'influence du néocervelet sur le cortex cérébral moteur. *Rev. Neurol*, 150 (1), 39-45.
- APPOLLONIO, I.M., GRAFMAN, J., SCHWARTZ, V., MASSAQUOI, S. y HALLETT, M., (1993). Memory in patients with cerebellar degeneration. *Neurology*, 43, 1536-1544.
- ARNEDO, M.L. y PUERTO, A., (1986). Funciones del Nervio Vago en el Aprendizaje Interoceptivo. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 41 (3), 487-494.
- ARNEDO, M.L., (1987). Bases Biológicas del Aprendizaje Interoceptivo: Una disociación comportamental de los sistemas periféricos implicados en procesamiento visceral. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- ARNEDO, M., GALLO, M., AGÜERO, A. y PUERTO, A., (1990). Effects of medullary afferent vagal axotomy and Area Postrema Lesion on Short-Term and Long-Term NaCl-Induced Taste Aversion Learning. *Physiology and Behavior*, 47, 1067-1074.
- ARNEDO, M., GALLO, M. AGÜERO, A. y PUERTO, A., (1991). Differential Effects of Subdiaphragmatic Vagotomy on NaCl-Induced Aversion Learning. *Behavioral and Neural Biology*, 55, 141-153.
- ARNEDO, M., GALLO, M. AGÜERO, A., MOLINA, F. y PUERTO, A., (1993). Medullary afferent vagal axotomy disrupts NaCl-Induced short-term Taste Aversion Learning. *Behavioral and Neural Biology*, 59, 69-75.
- ATTIG, E., BOTEZ, M.I., HUBLET, C., VERVONCK, C., JACQUY, J. y CAPON, A., (1991). Diaschisis cérébral croisé par lesion cérébelleuse: Rôle du cervelet dans les fonctions mentales. *Rev. Neurol.*, 147(3), 200-207.
- BAILEY, C.H. y KANDEL, C.H., (1986). Aproximaciones moleculares en el estudio de la memoria a corto y a largo plazo. En C.W. Coen. *Las funciones del cerebro*. Ed. Ariel, 145-180.
- BATINI, C., BUISSERET-DELMAS, J., CORVISIER, J., HARDY, O. y JASSIK-

- GERSCHENFELD, D., (1978). Brain stem nuclei giving fibers to lobules VI and VII of the cerebellar vermis. *Brain Research*, 153, 241-261.
- BEATTY, W.W., SALMON, D.P., BERNSTEIN, N., MARTONE, M., LYON, L. y BUTTERS, N., (1987). Procedural learning in a patient with amnesia due to hypoxia. *Brain and Cognition*, 6, 386-402.
- BEATTY, W.W., MacINNES, W.D., PORPHYRIS, H.S., TRÖSTER, A.I. y CERMAK, L.S., (1988). Preserved topographical memory following right temporal lobectomy. *Brain and Cognition*, 8, 67-76.
- BECHARA, A. y Van Der KOOY, D., (1989). The tegmental Pedunculopontine Nucleus: A brain-stem output of the Limbic system critical for the conditioned place preferences produced by morphine and amphetamine. *The Journal of Neuroscience*, 9 (10), 3400-3409.
- BECHARA, A. y Van Der KOOY, D., (1992a). Lesion of the tegmental Pedunculopontine Nucleus: Effects on the locomotor activity induced by morphine and amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 42, 9-18.
- BECHARA, A. y Van Der KOOY, D., (1992b). A single brain stem substrate mediates the motivational effects of both opiates and food in nondeprived rats but not in deprived rats. *Behavioral Neuroscience*, 106 (2), 351-363.
- BECHARA, A., HARRINGTON, F., NADER, K. y Van Der KOOY, D., (1992). Neurobiology of motivation: Double dissociation of two motivational mechanisms mediating opiate reward in drug-naive versus drug-dependent animals. *Behavioral Neuroscience*, 106 (5), 798-807.
- BECHARA, A., MARTIN, G.M., PRIDGAR, A. y Van Der KOOY, D., (1993). The Parabrachial Nucleus: A Brain Stem substrate critical for mediating the aversive motivational effects of morphine. *Behavioral Neuroscience*, 107 (1), 147-160.
- BERMUDEZ-RATTONI, F., SANCHEZ M.A. y PRADO-ALCALA, R.A., (1989). Learning of external and visceral cue consequences may be subserved by different neuroanatomical substrates. En Archer, T. y Nilsson, L.G. *Aversion, avoidance and anxiety. Perspectives on aversively motivated behavior*. Lawrence Erlbaum Assoc.

Publish, Hillsdale.

- BERNARD, J.F., HUANG, G.F. y BESSON, J.M., (1994). The Parabrachial Area: Electrophysiological evidence for an involvement in visceral nociceptive processes. *Journal of Neurophysiology*, 71 (5), 1646-1660.
- BERNSTEIN, I.L., (1985). Learned food aversions in the progression of cancer and its treatment. En Braveman, N.S. y Bronstein, P. *Experimental assesments and clinical applications of Conditioned Taste Aversion*. Annals of the New York Academy of Sciences, 443, 365-380.
- BERNSTEIN, I.L., CHAVEZ, M., ALLEN, D. y TAYLOR, E.M., (1992). Area Postrema mediation of physiological and behavioral effects of lithium chloride in the rat. *Brain Research*, 575, 132-137.
- BICKFORD, P., (1993). Motor learning deficits in aged rats are correlated with loss of cerebellar noradrenergic function. *Brain Research*, 620, 133-138.
- BISSET, G.W., CHOWDREY, H.S. y FELDBERG, W., (1990). The effect of an osmotic stimulus on the release of neurohypophysial hormones in the cat: Preferential release of vasopressin with a possible involvement of the Area Postrema. *Journal of Neuroendocrinology*, 2(2), 201-207.
- BLACK, J.E., ISAACS, K.R., ANDERSON, B.J., ALCANTARA, A.A. y GREENOUGH, W.T., (1990). Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 87, 5568-5572.
- BLAKE, W.D. y LIN, K.K., (1978). Hepatic portal vein infusion of glucose and sodium solutions on the control of saline drinking in the rat. *J. Physiol.*, 274, 129-139.
- BLOEDEL, J.R., (1992a). Functional heterogeneity with structural homogeneity: How does the cerebellum operate? *Behavioral and Brain Sciences*, 15, 666-678.
- BLOEDEL, J.R., (1992b). Concepts of cerebellar integration: still more question than answers. *Behavioral and Brain Sciences*, 15 (4), 833-838.

- BLOEDEL, J.R., (1993). "Involvement in" versus "Storage of". *TINS*, 16 (11), 451-452.
- BORISON, H.L., (1974). Area Postrema: Chemoreceptor trigger zone for vomiting. Is that all?. *Life Science*, 14(10).
- BOTEZ, M.I., (1992). The neuropsychology of the Cerebellum: An emerging concept. *Arch. Neurol*, 49, 1229-1230.
- BOTEZ-MARQUARD, T. y BOTEZ, M.I., (1993). Cognitive Behavior in heredodegenerative ataxias. *Eur. Neurol*, 33, 351-357.
- BRACKE-TOLKMITT, R., LINDEN, A., CANAVAN, A.G.M., ROCKSTROH, B., SCHOLZ, E., WESSEL, K. y DIENER, H.-C., (1989). The cerebellum contributes to mental skills. *Behavioral Neuroscience*, 103 (2), 442-446.
- BRADLEY, D.J., GHELARDUCCI, B., PATON, J.F.R. y SPYER, K.M., (1987). The cardiovascular responses elicited from the posterior cerebellar cortex in the anaesthetized and decerebrate rabbit. *J. Physiol*, 383, 537-550.
- BRAVEMAN, N.S. y BRONSTEIN, P. (Ed.), (1985). *Experimental Assessments and clinical applications of conditioned food aversion*. Annals of the New York Academy of Sciences, vol. 443.
- BRODAL, A., (1981). *Neurological anatomy in relation to clinical medicine*. Oxford University Press.
- BROOKS, D.N. y BADDELEY, A.D., (1976). What can amnesic patients learn?. *Neuropsychologia*, 14, 111-122.
- BROOKS, V.B., (1986). *The neural basis of motor control*. Oxford University Press. N. York.
- BUISSERET-DELMAS, C. y ANGAUT, P., (1993). The cerebellar olivo-corticonuclear connections in the rat. *Progress in Neurobiology*, 40, 63-87.
- CANAVAN, A.G.M., SPRENGELMEYER, R., DIENER, H.C. y HÖMBERG, V., (1994). Conditional associative learning is impaired in cerebellar disease in humans.

- Behavioral Neuroscience*, 108 (3), 475-485.
- CECHETTO, D.F., (1987). Central representation of visceral function. *Federation Proceedings*, 46, (1), 17-23.
- CHAMBERS, K.C., (1990). A neural model for conditioned taste aversions. *Annu.Rev.Neurosci*, 13, 373-385.
- CHAPMAN, P.F., STEINMETZ, J.E. y THOMPSON, R.F., (1988). Classical conditioning does not occur when direct stimulation of the red nucleus or cerebellar nuclei is the unconditioned stimulus. *Brain Research*, 442, 97-104.
- CHEN, S. y HILLMAN, D.E., (1993). Colocalization of neurotransmitters in the deep cerebellar nuclei. *Journal of Neurocytology*, 22, 81-91.
- CLARK, R.E., ZHANG, A.A. y LAVOND, D.G., (1992). Reversible lesions of the Cerebellar Interpositus Nucleus during acquisition and retention of a Classically Conditioned behavior. *Behavioral Neuroscience*, 106 (6), 879-888.
- CLARK, R.E. y LAVOND, D.G., (1993). Reversible lesion of the Red Nucleus during acquisition and retention of a classically conditioned behavior in rabbits. *Behavioral Neuroscience*, 107 (2), 264-270.
- CLARK, R.E. y LAVOND, D.G., (1994). Readquisition of eyeblink classical conditioning following large cerebellar cortical lesion in dutch belted rabbits. *Behavioral Brain Research*, 61, 101-106.
- COIL, J.D. y NORGREN, R., (1981). Taste Aversion conditioned with intravenous copper sulfate: attenuation by ablation of the Area Postrema. *Brain Research*, 212, 425-433.
- CONTRERAS, R.J. y KOSTEN, T., (1981). Changes in salt intake after abdominal vagotomy: Evidence for hepatic sodium receptors. *Physiology and Behavior*, 26, 575-582.
- COURVILLE, J., AUGUSTINE, J.R. y MARTEL, P., (1977). Projections from the inferior olive to the cerebellar nuclei in the cat demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Research*, 130, 405-419.

- D'AGATA, V., DRAGO, F., SERAPIDE, F. y CICIRATA, F., (1993). Effects of cerebellectomy on motivation-related behavior: A time-course study. *Physiology & Behavior*, 53, 173-176.
- DAHHAOUI, M., STELZ, T. y CASTON, J., (1992). Effects of lesion of the inferior olivary complex by 3-acetylpyridine on learning and memory in the rat. *J. Comp. Physiol.*, 171, 657-664.
- DAUM, I., ACKERMANN, H., SCHUGENS, M.M., REIMOLD, C., DICHGANS, J. y BIRBAUMER, N., (1993a). The Cerebellum and cognitive functions in humans. *Behavioral Neuroscience*, 107 (3), 411-419.
- DAUM, I., SCHUGENS, M.M., ACHERMANN, H., LUTZENBERGER, W., DICHGANS, J. y BIRBAUMER, N., (1993b). Classical conditioning after Cerebellar lesion in humans. *Behavioral Neuroscience*, 107 (5), 748-756.
- DECETY, J., SJÖHOLM, H., RYDING, E., STEMBERG, G. y INGVAR, D.H., (1990). The cerebellum participates in mental activity: tomographic measurements of regional cerebral blood flow. *Brain Research*, 535, 313-317.
- DELL, P. y OLSON, R., (1951a). Projections thalamiques corticales et cerebelleuses des afferences viscerales vagales. *C.R.Soc.Biol (Paris)*, 45, 1084-1088.
- DELL, P. y OLSON, R., (1951b). Projections "secondaires" mésencéphaliques, diencephaliques et amygdaliennes des afférences viscérales vagales. *C.R.Soc.Biol (Paris)*, 45, 1088-1091.
- DEUTSCH, J.A., MOLINA, F. y PUERTO, A., (1976). A conditioned taste aversion causes by palatable nontoxic nutrients. *Behav. Biol*, 16, 161-174.
- DIETRICH, E. y HAINES, D.E., (1986). Do the same Hypothalamic neurons project to both Amygdala and Cerebellum? *Brain Research*, 364, 241-248.
- DIETRICH, E. y WALBERG, F., (1987). Cerebellar nuclear afferents-where do they originate? A re-evaluation of the projections from some lower brain stem nuclei. *Anat. Embryol.*, 177, 165-172.



- Di LORENZO, P.M. y HECHT, G.S., (1993). Perceptual consequences of electrical stimulation in the gustatory system. *Behavioral Neuroscience*, 107 (1), 130-138.
- Di LORENZO P.M. y MONROE, S., (1992). Corticofugal input to taste-responsive units in the Parabrachial Pons. *Brain Research Bulletin*, 29, 925-930.
- DONEGAN, N.H., GLUCK, M.A. y THOMPSON, R.F., (1989). Integrating behavioral and biological models of classical conditioning. En Hawkins, R.D. y Bower, G.H. (Ed.) *The psychology of learning and motivation*. Vol. 23. Academic Press.
- DUNBAR, J.S., HITCHCOCK, K., LATIMER, M., RUGG, E.L., WARD, N. y WINN, P., (1992). Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus of te rat. II. Examination of eating and drinking, rotation, and reaching and grasping following unilateral ibotenate or quinolinate lesions. *Brain Research*, 589, 194-206.
- ECCLES, J.C., (1977). An instruction-selection theory of learning in the cerebellar cortex. *Brain Research*, 127, 327-352.
- EICHENBAUM, H., FAGAN, A. y COHEN, N.J., (1986). Normal olfactory discrimination learning set and facilitation of reversal learning after medial-temporal damage in rats: Implications for an account of preserved learning abilities in amnesia. *The Journal of Neuroscience*, 6 (7), 1876-1884.
- EICHENBAUM, H., (1992). The Hippocampal system and Declarative Memory in animals. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4 (3), 217-231.
- FENANDEZ-RUIZ, J., MIRANDA, M.I., BERMUDEZ-RATTONI, F. y DRUCKER-COLIN, R., (1993). Effects of catecholaminergic depletion of the Amygdala and Insular Cortex on the potentiation of odor by taste aversion. *Behavioral and Neural Biology*, 60, 189-191.
- FITZAKERLEY, J.L. y LUCIER, G.E., (1988). Connections of a vagal communicating branch in the ferret II. Central projections. *Brain Research Bulletin*, 20, 479-486.
- FLYNN, F.W., SCHWARTZ, G.J., GRILL, H.J. y NORGREN, R., (1991). Central gustatory lesions: I. Preference and taste reactivity test. *Behavioral Neuroscience*, 105 (6), 933-943.

- FOX, P.T., RAICHLE, M.E. y THACH, W.T., (1985). Functional mapping of the human cerebellum with positron emission tomography. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*, 82, 7462-7466.
- FUJIMOTO, K., IKEGUCHI, K. y YOSHIDA, M., (1992). Impaired acquisition, preserved retention and retrieval of avoidance behavior after destruction of pedunculopontine nucleus areas in the rat. *Neuroscience Research*, 13, 43-51.
- FUKUDA H. y KOGA, T., (1992). Non-respiratory neurons in the Bötzing complex exhibiting appropriate firing patterns to generate the emetic act in dogs. *Neuroscience Research*, 14, 180-194.
- FULWILER, C.E. y SAPER, C.B., (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the Parabrachial Nucleus in the rat. *Brain Research Review*, 7, 229-259.
- GALLO, M. y PUERTO, A., (1986). Efectos diferenciales de las lesiones del Area Postrema (AP) durante el Aprendizaje Interoceptivo (AI) inducido por rotación. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 43 (3), 495-501.
- GALLO, M., (1987). Participación del Area Postrema en Aprendizaje Interoceptivo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- GALLO, M., ARNEDO, M. AGÜERO, A. y PUERTO, A., (1988). Electrical intracerebral stimulation of the area postrema on taste aversion learning. *Behavioural Brain Research*, 30, 289-296.
- GALLO, M., ARNEDO, M., AGÜERO, A. y PUERTO, A., (1990). The functional relevance of the Area Postrema in drug-induced aversion learning. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 35, 1-9.
- GALLO, M., ARNEDO, M., AGUERO, A. y PUERTO, A., (1991). Participation of the area postrema in learned aversions induced by body rotation. *Behavioural Brain Research*, 42, 13-23.
- GALLO, M. y BURES, J., (1991). Acquisition of conditioned taste aversion in rats is mediated by ipsilateral interaction of cortical and mesencephalic mechanisms.

- Neuroscience Letters*, 133, 187-190.
- GARCIA, J., (1989). Food for Tolman: Cognition and cathexis in concert. En Archer, T. y Nilsson, L.G. *Aversion, avoidance and anxiety. Perspectives on aversively motivated behavior*. Lawrence Erlbaum Assoc. Publish, Hillsdale.
- GARCIA, J., (1990). Learning without memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 2 (4), 287-305.
- GARCIA-RILL, E., (1986). The Basal Ganglia and the locomotor regions. *Brain Research Review*, 11, 47-63.
- GASTON, K.E., (1978). Brain mechanisms of conditioned taste aversion learning: A review of the literature. *Physiological Psychology*, 6 (3), 340-353.
- GIEROBA, Z.J. y BLESSING, W.W., (1994). Fos-containing neurons in medulla and pons after unilateral stimulation of the afferent abdominal vagus in conscious rabbits. *Neuroscience*, 59 (4), 851-858.
- GILBERT, P.F.C., (1993). Theories of motor learning by the Cerebellum. *TINS*, 16 (5), 177.
- GILBERTSON, T.A., (1993). The physiology of vertebrate taste reception. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, 532-539.
- GILMAN, S., (1994). Cerebellar control of movement. *Annals of Neurology*, 35 (1), 3-4.
- GLICKSTEIN, M. y YEO, CH., (1990). The cerebellum and motor learning. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 2 (2), 69-80.
- GLICKSTEIN, M., (1992). The Cerebellum and motor learning. *Current Opinion in Neurobiology*, 2, 802-806.
- GLICKSTEIN, M., (1993). Motor skills but not cognitive tasks. *TINS*, 16 (11), 450-451.
- GLISKY, E.L., SCHACTER, D.L. y TULVING, E., (1986). Computer learning by memory-impaired patients: Acquisition and retention of complex knowledge.

- Neuropsychologia*, 24 (3), 313-328.
- GLISKY, E.L. y SCHACTER, D.L., (1988). Long-Term retention of computer learning by patients with memory disorders. *Neuropsychologia*, 26 (1), 173-178.
- GOLDMAN-RAKIC, P.S., (1992). La memoria funcional y la mente. *Investigación y Ciencia*, 194, 69-75.
- GORDON, B., (1988). Preserved learning of novel information in amnesia: Evidence for multiple memory systems. *Brain and Cognition*, 7, 257-282.
- GOULD, T.J., SEAR, L.L. y STEINMETZ, J.E., (1993). Possible CS and US pathways for rabbit classical eyelid conditioning: electrophysiological evidence for projections from the Pontine Nuclei and Inferior Olive to Cerebellar Cortex and Nuclei. *Behavioral and Neural Biology*, 60, 172-185.
- GOULD, T.J. y STEINMETZ, J.E., (1994). Multiple-unit activity from rabbit Cerebellar Cortex and Interpositus Nucleus during classical discrimination/reversal eyelid conditioning. *Brain Research*, 652, 98-106.
- GRAF, P., SHIMAMURA, A.P. y SQUIRE, L.R., (1985). Priming across modalities and priming across category levels: extending the domain of preserved function in amnesia. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory and Cognition*, 11(2), 386-396.
- GRILL, H.J. y NORGREN, R., (1978). Chronic decerebrate rats demonstrate satiation but not bait-shyness. *Science*, 201, 267-269.
- GROENEWEGEN, H.J. y VOOGD, J., (1977). The parasagittal zonation within the olivocerebellar projection. I. Climbing fiber distribution in the vermis of cat cerebellum. *The Journal of Comparative Neurology*, 174 (3), 417-488.
- GRUART I MASSO, A., (1993). Bases fisiológicas del condicionamiento clásico del reflejo corneal. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- GRUNWERG, B.S., KREIN, H. y KRAUTHAMER, G.M., (1992). Somatosensory input and thalamic projection of pedunculopontine tegmental neurons. *Neuroreport*, 3, 673-

675.

- GU, Y., GONZALEZ, M.F., CHEN, D.Y. y DEUTSCH, J.A., (1993). Expression of c-fos in brain subcortical structures in response to nauseant lithium chloride and osmotic pressure in rats. *Neuroscience Letter*, 157, 49-52.
- GUILLAUMIN, S., DAHHAOUI, M. y CASTON, J., (1991). Cerebellum and memory: An experimental study in the rat using a passive avoidance conditioning test. *Physiology & Behavior*, 49, 507-511.
- HAINES, D.E. y DIETRICH, E., (1990). Neuronal connections between the cerebellar nuclei and hypothalamus in *Macaca Fascicularis*: Cerebello-Visceral circuits. *The Journal of Comparative Neurology*, 299, 106-122.
- HALSELL, C.B., TRAVERS, J.B. y TRAVERS, S.P., (1993). Gustatory and tactile stimulation of the posterior tongue activate overlapping but distinctive regions within the nucleus of the solitary tract. *Brain Research*, 632, 161-173.
- HANAMORI, T., NAKASHIMA, M. y ISHIKO, N., (1986). Responses of cerebellar cortex to electrical stimulation of the glossopharyngeal nerve in the frog. *Neuroscience Letter*, 68 (3), 345-350.
- HANAMORI, T. y ISHIKO, N., (1987). Taste responses of Purkinje cells in the frog cerebellum. *Neuroscience Letter*, 77 (3), 285-290.
- HARDIMAN, M.J. y YEO, C.H., (1992). The effect of Kainic Acid lesions of the cerebellar cortex on the conditioned nictitating membrane response in the rabbit. *European Journal of Neuroscience*, 4, 966-980.
- HARVEY, J.A., WELSH, J.P., YEO, C.H. y ROMANO, A.G., (1993). Recoverable and nonrecoverable deficit in conditioned responses after cerebellar cortical lesions. *The Journal of Neuroscience*, 13 (4), 1624-1635.
- HAZRATI, L.N. y PARENT, A., (1992). Projections from the Deep Cerebellar Nuclei to the Pedunculopontine Nucleus in the squirrel monkey. *Brain Research*, 585, 267-271.
- HENNEMANN, H.E. y RUBIA, F.J., (1978). Vagal representation in the cerebellum of the

- cat. *Pflügers Arch*, 375, 119-123.
- HERMANN, G.E. y ROGERS, R.C., (1985). Convergence of vagal and gustatory afferents input within the parabrachial nucleus of the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 1-17.
- HESSLOW, G., (1994). Inhibition of classically conditioned eyeblink responses by stimulation of the cerebellar cortex in the decerebrate cat. *Journal of Physiology*, 476 (2), 245-256.
- HOCHSTENBACH, S.L., PASTOR SOLANO-FLORES, y CIRIELLO, J., (1993). Fos induction in brainstem neurons by intravenous hypertonic saline in the conscious rat. *Neuroscience Letter*, 158, 225-228.
- HYDE, T.M. y MISELIS, R.R., (1992). Subnuclear organization of the human caudal Nucleus of the Solitary Tract. *Brain Research Bulletin*, 29, 95-109.
- ITO, M. , SAKURAI, M. y TONGROACH, P., (1982). Climbing fibre induced depression of both mossy fibre responsiveness and glutamate sensitivity of cerebellar purkinje cells. *J. Physiol*, 324, 113-134.
- ITO, M., (1993a). Movements and thought: identical control mechanisms by the Cerebellum. *TINS*, 16 (11), 448-450.
- ITO, M., (1993b). Cerebellar flocculus hypothesis. *Nature*, 363, 24-25.
- ITO, M., (1993c). Neurophysiology of the nodulofloccular system. *Rev. Neurol.*, 149 (11), 692-697.
- ITO, M., (1993d). New concepts in cerebellar function. *Rev. Neurol.*, 149 (11), 596-599.
- ITO, M., (1994). La plasticidad de las sinapsis. *Mundo Científico*, 150, 846-853.
- ITO, S., (1992). Multiple projection of vagal non-myelinated afferents to the anterior Insular Cortex in rats. *Neuroscience Letters*, 148, 151-154.
- IVKOVICH, D., LOCKARD, J.M. y THOMPSON, R.F., (1993). Interpositus lesion

- abolition of the eyeblink conditioned response is not due to effects on performance. *Behavioral Neuroscience*, 107 (3), 530-532.
- IVRY, R.B. y KEELE, S.W., (1989). Timing functions of the Cerebellum. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 1, (2), 136-152.
- IVRY, R.B. y BALDO, J.V., (1992). Is the Cerebellum involved in learning and cognition? *Current Opinion in Neurobiology*, 2, 212-216.
- JEROME, C. Y SMITH, G.P., (1982). Gastric vagotomy inhibits drinking after hypertonic saline. *Physiology and Behavior*, 28, 371-374.
- JEROME, C Y SMITH, G.P., (1984). Development of the drinking deficit to hypertonic saline in rats after abdominal vagotomy. *Physiology and Behavior*, 32, 819-821.
- KAPP, B.S. y SUPPLE, W.F., (1992). Neural substrates of classical conditioning. En Squire L.R. *Encyclopedia of Learning and Memory*. Macmillan Publ. Co.
- KAWATO, M. y GOMI, H., (1992). The Cerebellum and VOR/OKR learning models. *TINS*, 15 (11), 445-453.
- KEELE, S.W. y IVRY, R., (1990). Does the Cerebellum provide a common computation for diverse tasks? En A. Diamond. *The development and neural bases of higher cognitive functions*. Annals of the New York Academy of Sciences. Vol. 608. N. York.
- KELLY, T.M., ZUO, C. y BLOEDEL, J.R., (1990). Classical conditioning of the eyeblink reflex in the decerebrate-decerebellate rabbit. *Behavioral Brain Research*, 38, 7-18.
- KIEFER, S.W. y ORR, R., (1992). Taste avoidance, but not aversion, learning in rats lacking Gustatory Cortex. *Behavioral Neuroscience*, 106 (1), 140-146.
- KITAI, S.T., McCREA, R.A., PRESTON, R.J. y BISHOP, G.A., (1977). Electrophysiological and horseradish peroxidase studies of precerebellar afferents to the Nucleus Interpositus anterior. I. Climbing fiber system. *Brain Research*, 122, 197-214.



- KLEIMAN, M.D., NEFF, S. y ROSMAN, N.P., (1992). The brain in infantile autism: Are posterior fossa structures abnormal? *Neurology*, 42, 753-760.
- KNOX, A.P, STROMINGER, N.L., BATTLES, A.H. y CARPENTER, D.O., (1994). The central connections of the Vagus Nerve in the ferret. *Brain Research Bulletin*, 33, 49-63.
- KOBASHI, M. y ADACHI, A., (1986). Projection of nucleus tractus solitarius units influenced by hepatoportal afferent signal to parabrachial nucleus. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 16, 153-158.
- KOBASHI, M. y ADACHI, A., (1990). A hepatoportal osmoreceptive afferent projection from Nucleus Tractus Solitarius to Caudal Ventrolateral Medulla. *Brain Research Bulletin*, 24, 775-778.
- KOBASHI, M., ICHIKAWA, H., SUGIMOTO, T. y ADACHI, A., (1993). Response of neurons in the Solitary Tract Nucleus, Area Postrema and lateral Parabrachial Nucleus to gastric load of hypertonic saline. *Neuroscience Letter*, 158, 47-50.
- KOCH, M., KUNGEL, M. y HERBERT, H., (1993). Cholinergic neurons in the Pedunculopontine tegmental nucleus are involved in the mediation of prepulse inhibition of the acoustic startle response in the rat. *Exp.Brain.Res.*, 97, 71-82.
- KOGA, T. y FUKUDA, H., (1992). Neurons in the Nucleus of the Solitary Tract mediating inputs from emetic vagal afferents and the Area Postrema to the pattern generator for the emetic act in dogs. *Neuroscience Research*, 14, 166-179.
- KRUPA, D.J., THOMPSON, J.K. y THOMPSON, R.F., (1993). Localization of a memory trace in the mammalian brain. *Science*, 260, 989-991.
- LAINE, J. y AXELRAD, H., (1994). The Candelabrum cell: A new interneuron in the cerebellar cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 339, 159-173.
- LALONDE, R. y BOTEZ, M.I., (1990). The Cerebellum and learning processes in animals. *Brain Research Reviews*, 15, 325-332.



- LALONDE, R., (1994). Cerebellar contributions to instrumental learning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18 (2), 161-170.
- LANÇA, A.J. y Van Der KOOY, D., (1985). A serotonin-containing pathway from the Area Postrema to the Parabrachial Nucleus in the rat. *Neuroscience*, 14 (4), 1117-1126.
- LAVOIE, B. y PARENT, A., (1994a). Pedunclopontine Nucleus in the Squirrel Monkey: Distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the Mesopontine Tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *The Journal of Comparative neurology*, 344, 190-209.
- LAVOIE, B. y PARENT, A., (1994b). Pedunclopontine Nucleus in the Squirrel Monkey: Projections to the Basal Ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *The Journal of Comparative Neurology*, 344, 210-231.
- LAVOIE, B. y PARENT, A., (1994c). Pedunclopontine Nucleus in the Squirrel Monkey: Cholinergic and glutamatergic projections to the Substantia Nigra. *The Journal of Comparative Neurology*, 344, 232-241.
- LAVOND, D.G., HEMBREE, T.L. y THOMPSON, R.F., (1985). Effect of kainic acid lesion of the cerebellar Interpositus Nucleus on eyelid conditioning in the rabbit. *Brain Research*, 326, 179-182.
- LAVOND, D.G., KNOWLTON, B.J., STEINMETZ, J.E. y THOMPSON, R.F., (1987). Classical conditioning of the rabbit eyelid response with a mossy-fiber stimulation CS: II. Lateral reticular nucleus stimulation. *Behavioral Neuroscience*, 101 (5), 676-682.
- LAVOND, D.G., KIM, J.J. y THOMPSON, R.F., (1993). Mammalian brain substrates of aversive classical conditioning. *Annu.Rev.Psychol*, 44, 317-42.
- LEATON, R.N. y SUPPLE, W.F., (1991). Medial Cerebellum and Long-Term Habituation of acoustic Startle in rats. *Behavioral Neuroscience*, 105 (6), 804-816.
- LEHR, P.P. y NACHMAN, M., (1973). Lateralization of learned taste aversion by cortical spreading depression. *Physiology and Behavior*, 10, 79-83.
- LEINER, H.C., LEINER, A.L. y DOW, R.S., (1989). Reappraising the Cerebellum: What

- does the Hindbrain contribute to the Forebrain?. *Behavioral Neuroscience*, 103 (5), 998-1008.
- LEINER, H.C., LEINER, A.L. y DOW, R.S., (1993). Cognitive and language functions of the human cerebellum. *TINS*, 16 (11), 444-447.
- LI, B. y ROWLAND, N.E., (1993). Dexfenfluramine induces Fos-like immunoreactivity in discrete brain regions in rats. *Brain Researcs Bullein*, 31, 43-48.
- LINDEN, D.J., (1994). Long-Term synaptic depression in the mammalian brain. *Neuron*, 12, 457-472.
- LISBERGER, S.G., (1988a). The neural basis for motor learning in the vestibulo-ocular reflex in monkeys. *TINS*, 11 (4), 147-152.
- LISBERGER, S.G., (1988b). The neural basis for learning of simple motor skills. *Science*, 242, 728-735.
- LOEWY, A.D. y BURTON, H., (1978). Nuclei of the Solitary Tract: Efferent projections to the lower brain stem and spinal cord of the cat. *J.Comp.Neur.*, 181, 421-450.
- LOGUE, A.W., (1979). Taste aversion and the generality of the laws of learning. *Psychological Bulletin*, 86 (2), 276-296.
- LOU, J. y BLOEDEL, J.R., (1988). A study of cerebellar cortical involvement in motor learning using a new avoidance conditioning paradigm involving limb movement. *Brain Research*, 445, 171-174.
- LYE, R.H., O'BOYLE, D.J., RAMSDEN, R.T. y SCHADY, W., (1988). Effects of unilateral cerebellar lesion on the acquisition of eye-blink conditioning in man. *Journal of Physiology*, 403, 58P.
- MACKLIS, R.M. y MACKLIS, J.D., (1992). Historical y phrenologic reflections on the nonmotor functions of the Cerebellum: Love under the tent? *Neurology*, 42, 928-932.
- MAHLER, P., GUASTAVINO, J.M., JACQUART, G. y STRAZIELLE, C., (1993). An unexpected role of the Cerebellum: involvement in nutritional organization.

- Physiology & Behavior*, 54, 1063-1067.
- MARR, D., (1969). A theory of cerebellar cortex. *J. Physiol.*, 202, 437-470.
- MARCHETTI-GAUTHIER, E., MEZIANE, H., DEVIGNE, C. y SOUMIREU-MOURAT, B., (1990). Effects of bilateral lesions of the cerebellar Interpositus nucleus on the conditioned forelimb flexion reflex in mice. *Neuroscience Letters*, 120, 34-37.
- MARTIN, J.R. CHENG F.Y. y NOVIN D., (1978). Acquisition of learned taste aversion following bilateral subdiaphragmatic vagotomy in rats. *Physiology and Behavior*, 21, 13-17.
- MARTONE, M., BUTTERS, N., PAYNE, M., BECKER, J.T. y SAX, D.S., (1984). Dissociations between skill learning and verbal recognition in amnesia and dementia. *Arch. Neurol.*, 41, 965-970.
- MASSION, J., (1993). Grandes relations anatomo-fonctionnelles dans le Cervelet. *Rev. Neurol*, 149 (11), 600-606.
- McCORMICK, D.A. y THOMPSON, R.F., (1984). Cerebellum: Essential Involvement in the classically conditioned eyelid response. *Science*, 223, 296-299.
- McCORMICK, D.A., STEINMETZ, J.E. y THOMPSON, R.F., (1985). Lesion of the Inferior Olivary Complex cause extinction of the classically conditioned eyeblink response. *Brain Research.*, 359, 120-130.
- McCREA, R.A., BISHOP, G.A. y KITAI, S.T., (1977). Electrophysiological and horseradish peroxidase studies of precerebellar afferents to the Nucleus Interpositus anterior. II. Mossy fiber system. *Brain Research*, 122, 215-228.
- MEACHUM, C.L. y BERNSTEIN, I.L., (1992). Behavioral conditioned responses to contextual and odor stimuli paired with LiCl administration. *Physiology and Behavior*, 52, 895-899.
- MEI, N. y GARNIER, L., (1986). Osmosensitive vagal receptors in the small intestine of the cat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 16, 159-170.

- MEI, N. y LUCCINI, S., (1992). Current data and ideas on digestive sensitivity. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 41, 15-18.
- MIDDLETON, F.A. y STRICK, P.L., (1994). Anatomical evidence for cerebellar and Basal Ganglia involvement in higher cognitive function. *Science*, 266, 458-461.
- MILNER, B., (1962). Les troubles de la mémoire accompagnant des lésions hippocampiques bilatérales. En *Physiologie de l'Hippocampe*. P. Passouant, Paris: Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- MILNER, B. (1970). Memoria y las regiones temporales mediales del cerebro. *Biology of memory*. Academic Press Inc. N. York.
- MINTZ, M., LAVOND, D.G., ZHANG, A.A., YUN, Y, y THOMPSON, R.F., (1994). Unilateral Inferior Olive NMDA lesion leads to unilateral deficit in acquisition and retention of eyelid classical conditioning. *Behavioral and Neural Biology*, 61, 218-224.
- MISHKIN, M. y APPENZELLER, T., (1987). Anatomía de la memoria. *Investigación y Ciencia*, 8, 15-25.
- MOLINA, F. y PUERTO, A., (1981). El Condicionamiento Aversivo Gustativo como modelo especializado de aprendizaje. En Tudela, P. *Psicología Experimental*. Madrid. UNED.
- MUGNAINI, E. y FLORIS, A., (1994). The unipolar brush cell: A neglected neuron of the mammalian cerebellar cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 339, 174-180.
- MURAKAMI, J.W., COURCHESNE, E., PRESS, G.A., YEUNG-COURCHESNE, R. y HESSELINK, J.R., (1989). Reduced cerebellar hemisphere size and its relationship to vermal hypoplasia in autism. *Archives of Neurology*, 46(6), 689-694.
- NADEL, L., (1992). Multiple memory systems: What and why. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4 (3), 179-188.
- NACHMAN, M. y ASHE, J.H., (1973). Learned taste aversion in rats as a function of dosage, concentration and route of administration of LiCl. *Physiology and Behavior*,

10, 73-78.

NAUTA, W.J.H. y FEIRTAG, M., (1987). *Fundamentos de Neuroanatomía*. Labor.

NICHELLI, P., BAHMANIAN-BEHBAHANI, G., GENTILINI, M. y VECCI, A., (1988). Preserved memory abilities in thalamic amnesia. *Brain*, 111, 1337-1353.

NISIMARU, N., OKAHARA, K. y NAGAO, S., (1991). Olivocerebellar projection to the cardiovascular zone of rabbit cerebellum. *Neuroscience Research*, 12, 240-250.

NORDHOLM, A.F., THOMPSON, J.K., DERSARKISSIAN, C. y THOMPSON, R.F., (1993). Lidocaine infusion in a critical region of cerebellum completely prevents learning of the conditioned eyeblink response. *Behavioral Neuroscience*, 107 (5), 882-886.

NORGREN, R. y LEONARD, C.M., (1971). Taste pathways in rat brainstem. *Science*, 173, 1136-1139.

NORGREN, R., (1974). Gustatory afferents to ventral forebrain. *Brain Research*, 81, 285-295.

NORGREN, R. y PFAFFMANN, C., (1975). The pontine taste area in the rat. *Brain Research*, 91, 99-117.

NORGREN, R., (1990). Gustatory System. En Paxinos G. (Ed). *The Human Nervous System*. Academic Press, Inc.

NOVIN, D., (1983). The integration of visceral information in the control of feeding. *Journal of Autonomic Nervous System*, 9, 233-246.

OKAHARA, K. y NISIMARU, N., (1991). Climbing fiber responses evoked in lobule VII of the posterior cerebellum from a vagal nerve in rabbits.

OLMSTEAD, M.C. y FRANKLIN, K.B.J., (1993). Effects of Pedunculopontine tegmental nucleus lesions on morphine-induced conditioned place preference and analgesia in the formalin test. *Neuroscience*, 57 (2), 411-418.

- OTTERSEN, O.P., (1993). Neurotransmitters in the Cerebellum. *Rev. Neurol.*, 149 (11), 629-636.
- PACKARD, M.G. y McGAUGH, J.L., (1992). Double dissociation of Fornix and Caudate Nucleus Lesion on acquisition of two water maze tasks: Further evidence for multiple memory systems. *Behavioral Neuroscience*, 106 (3), 439-446.
- PADEL, Y., (1993). Les noyaux rouges magnocellulaire et parvocellulaire. Aspects anatomo-fonctionnels de leurs relations avec le cervelet et d'autres centres nerveux. *Rev. Neurol*, 149 (11), 703-715.
- PANHUBER, H., (1982). Effect of odor quality and intensity on conditioned odor aversion learning in the rat. *Physiology and Behavior*, 28, 149-154.
- PAPAS, S y FERGUSON, A.V., (1990). Electrophysiological characterization of reciprocal connections between the Parabrachial Nucleus and the Area Postrema in the rat. *Brain Research Bulletin*, 24, 577-582.
- PATON, J.F.R., LA NOCE, A., SYKES, R.M., SEBASTIANI, L., BAGNOLI, P., GHELARDUCCI, B. y BRADLEY, D.J., (1991). Efferent connections of lobule IX of the posterior cerebellar cortex in the rabbit. Some functional considerations. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 36, 209-224.
- PAULIN, M.G., (1993). The role of the Cerebellum in motor control and perception. *Brain Behav. Evol.*, 41, 39-50.
- PAXINOS, G. y WATSON, Ch., (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. 2<sup>a</sup> Ed., Academic Press, N. York.
- PERRETT, S.P., RUIZ, B.P. y MAUK, M.D., (1993). Cerebellar Cortex lesion disrupt learning-dependent timing of conditioned eyelid responses. *The Journal of Neuroscience*, 13(4), 1708-1718.
- PERRIN, J. y CROUSILLAT, J., (1980). Responses of single units in the inferior olive nucleus to stimulation of the splanchnic afferents in the cat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 2, 15-22.

- PERRIN, J. y CROUSILLAT, J. (1985). The projection of vagal afferents on the cerebellar vermis of the cat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 13, 175-177.
- PLATA-SALAMAN, C.R., SCOTT, T.R. y SMITH-SWINTOSKY, V.L., (1992). Gustatory neural coding in the monkey cortex: L-Amino Acids. *Journal of Neurophysiology*, 67 (6), 1552-1561.
- PLATA-SALAMAN, R.C. y SCOTT, T.R., (1992). Taste neurons in the cortex of the alert cynomolgus monkey. *Brain Research Bulletin*, 28, 333-336.
- PLATA-SALAMAN, R.C., SCOTT, T.R. y SMITH-SWINTOSKY, V.L., (1993). Gustatory neural coding in the monkey cortex: The quality of Sweetness. *Journal of Neurophysiology*, 69 (2), 482-493.
- PUERTO, A., (1980). Aprendizaje Interoceptivo. En Gillamón Fernandez, A. *Fundamentos Biológicos de la conducta II*. Madrid. UNED.
- PUERTO, A., AGUERO, A., ARNEDO, M, GALLO, M. y MOLINA, F., (1986). Aprendizaje Interoceptivo: especificidad neuroanatómica y funcional en el doble sistema de procesamiento de la información visceral. *Sociedad Española de Psicología: XXX Reunión Anual*, Madrid.
- QVIST, H., (1989). Demonstration of axonal branching of fibres from certain precerebellar nuclei to the cerebellar cortex and nuclei: a retrograde fluorescent double-labelling study in the cat. *Experimental Brain Research*, 75, 15-27.
- RESCORLA, R.A., (1988a). Pavlovian conditioning. It's not what you think it is. *American Psychologist*, 151-160.
- RESCORLA, R.A., (1988B). Behavioral studies of pavlovian conditioning. *Ann.Rev.Neurosci.*, 11, 329-352.
- RICARDO, J.A. y KOH, E.T., (1978). Anatomical evidence direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Research*, 153, 1-26.
- RITTER, S., McGLONE, J.J. y KELLEY, K.W., (1980). Absence of lithium-induced taste



- aversion after area postrema lesion. *Brain Research*, 201, 501-506.
- ROGER, R.C., NOVIN, D. y BUTCHER, L.L., (1979). Electrophysiological and anatomical studies of the hepatic portal osmo- and sodium-receptive afferent projections within the brain. *J. Autonomic Nervous System*, 1, 183-202.
- ROPER, S.D., (1992). The microphysiology of peripheral taste organs. *The Journal of Neuroscience*, 12 (4), 1127-1134.
- ROSENBLUM, K., MEIRI, N. y DUDAI, Y., (1993). Taste memory: The role of protein synthesis in Gustatory Cortex. *Behavioral and Neural Biology*, 59,49-56.
- SAIGAL, R.P., KARAMANLIDIS, A.N., VOOGD, J., MICHALOUDI, H. y MANGANA, O., (1980). Cerebellar afferents from motor nuclei of cranial nerves, the nucleus of the solitary tract, and nuclei coeruleus and parabrachialis in sheep, demonstrated with retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Research*, 197, 200-206.
- SAKAGUCHI, T. y YAMAZAKI, M., (1986). Changes in water intake following hepatic vagotomy in young rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 17, 243-246.
- SCALERA, G. y BENASSI, C., (1989). Taste preference and fluid intake after cerebellar cortex lesion in the rat. *Med.Sci.Res.*, 17 (2), 103-104.
- SCHMAHMANN, J.D., (1991). An emerging concept. The cerebellar contribution to higher function. *Arch Neurol*, 48, 1178-1187.
- SCHNEIDERMAN-FISH, B., BAISDEN, R.H. y WOODRUFF, M.L., (1979). Cerebellar nuclear lesions in rats: Subsequent avoidance behavior and ascending anatomical connections. *Brain Research*, 166, 27-38.
- SCHREURS, B.G., SANCHEZ-ANDRES, J.V. y ALKON, D.L., (1991). Learning-specific differences in Purkinje-cell dendrites of lobule HVI (Lobulus simplex): intracellular recording in a rabbit cerebellar slice. *Brain Research*, 548, 18-22.
- SEARS, L.L. y STEINMETZ, J.E., (1990a). Acquisition of classically conditioned-related activity in the Hippocampus is affected by lesions of the cerebellar Interpositus Nucleus. *Behavioral Neuroscience*, 104(5), 681-692.



- SEARS, L.L. y STEINMETZ, J.E., (1990b). Haloperidol impairs classically conditioned nictitating membrane responses and conditioning-related cerebellar interpositus nucleus activity in rabbits. *Pharmacology, biochemistry & Behavior*, 36, 821-830.
- SEARS, L.L. y STEINMETZ, J.E., (1991). Dorsal accessory inferior olive activity diminishes during acquisition of the rabbit classically conditioned eyelid response. *Brain Research*, 545, 114-122.
- SEMBA, K. y FIBIGER, H.C., (1992). Afferent connections of the Laterodorsal and the Pedunculopontine Tegmental Nuclei in the rat: A retro and antero-grade transport and immunohistochemical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 323, 387-410.
- SHIMAMURA, A.P., (1986). Priming effects in amnesia: Evidence for a dissociable memory function. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 38A, 619-644.
- SHINODA, Y., SUGIUCHI, Y., FUTAMI, T. y IZAWA, R., (1992). Axon collaterals of mossy fibers from the Pontine Nucleus in the cerebellar Dentate Nucleus. *Journal of Neurophysiology*, 67 (3), 547-560.
- SIMANSKY, K.J., JEROME, C., SANTUCCI, A. y SMITH, G.P., (1982). Chronic hypodipsia to intraperitoneal and subcutaneous hypertonic saline after vagotomy. *Physiology and Behavior*, 28, 367-370.
- SKELTON, R.W., (1988). Bilateral cerebellar lesions disrupt conditioned eyelid responses in unrestrained rats. *Behavioral Neuroscience*, 102(4), 586-590.
- SKINNER, R.D. y GARCIA-RILL, (1984). The mesencephalic locomotor region (MRL) in the rat. *Brain Research*, 323, 385-389.
- SOLOMON, P.R., STOWE, G.T. y PENDLBEURY, W.W., (1989). Disrupted eyelid conditioning in a patient with damage to cerebellar afferents. *Behavioral Neuroscience*, 103 (4), 898-902.
- SOMANA, R. y WALBERG, F., (1979a). Cerebellar afferents from the nucleus of the Solitary Tract. *Neuroscience Letter*, 11, 41-47.
- SOMANA, R. y WALBERG, F., (1979b). The cerebellar projection from the parabrachial

- nucleus in the cat. *Brain Research*, 172, 144-149.
- SPANN, B.M. y GROFOVA, I., (1992). Cholinergic and non-cholinergic neurons in the rat Pedunculopontine Tegmental Nucleus. *Anat. Embryol.*, 186, 215-227.
- SPECTOR, A.C., NORNGREN, R. y GRILL, H.J., (1992). Parabrachial gustatory lesion impair taste aversion learning in rats. *Behavioral Neuroscience*, 106(1), 147-161.
- SQUIRE, L. y BUTTERS N., (1984). *Neuropsychology of memory*. The Guilford Press, N.York.
- SQUIRE, L.R., (1986). Mechanisms of memory. *Science*, 232, 1612-1618.
- SQUIRE, L.R., (1987). *Memory and Brain*. Oxford University Press. N. York.
- SQUIRE, L.R. y ZOLA-MORGAN, S., (1988). Memory: brain systems and behavior. *TINS*, 11 (4), 170-175.
- SQUIRE, L.R. y ZOLA-MORGAN, S., (1991). The Medial Temporal Lobe memory system. *Science*, 253, 1380-1386.
- SQUIRE, L.R., (1992a). Declarative and Nondeclarative Memory: Multiple Brain Systems supporting learning an memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4 (3), 232-243.
- SQUIRE, L.R., (1992b). Memory and the Hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99 (2), 195-231.
- SQUIRE, L.R., KNOWLTON, B. y MUSEN, G., (1993). The structure and organization of memory. *Ann. Rev. Psychol.*, 44, 453-495.
- STECKLER, T., KEITH, A.B. y SAHGAL, A., (1994a). Lesion of the Pedunculopontine Tegmental Nucleus do not alter delayed non-matching to position accuracy. *Behavioural Brain Research*, 61, 107-112.
- STECKLER, T., INGLIS, W., WINN, P. y SAHGAL, A., (1994b). The pedunculopontine tegmental nucleus: a role in cognitive processes? *Brain Research Review*, 19, 298-318.

- STEIN, J.F. y GLICKSTEIN, M., (1992). Role of the Cerebellum in visual guidance of movement. *Physiological Reviews*, 72 (4), 967-1017.
- STEINMETZ, J.E. ROSEN, D.J., CHAPMAN, P.F., LAVOND, D.G. y THOMPSON, R.F., (1986). Classical conditioning of the rabbit eyelid response with a mossy-fiber stimulation CS: I. Pontine nuclei and middle cerebellar peduncle stimulation. *Behavioral Neuroscience*, 100 (6), 878-887.
- STEINMETZ, J.E. y SENGELAUB, D.R., (1992). Possible Conditioned for direct stimulus pathway for classical eyelid conditioning in rabbits. I. Anatomical evidence for direct projections from the Pontine Nuclei to the Cerebellar Interpositus Nucleus. *Behavioral and Neural Biology*, 57, 103-115.
- STEINMETZ, J.E., LOGUE, S.F. y STEINMETZ, S.S., (1992). Rabbit classically conditioned eyelid responses do not reappear after interpositus nucleus lesion and extensive post-lesion training. *Behavioral Brain Research*, 51, 103-114.
- STROMINGER, N.L., KNOX, A.P. y CARPENTER, D.O., (1994). The connectivity of the Area Postrema in the ferret. *Brain Research Bulletin*, 33, 33-47.
- STUSS, D.T., GUBERMAN, A., NELSON, R. y LAROCHELLE, S., (1988). The neuropsychology of paramedian Thalamic infarction. *Brain and Cognition*, 8, 348-378.
- SUEMORI, K., KOBASHI, M. y ADACHI, A., (1994). Effects of gastric distension and electrical stimulation of dorsomedial medulla on neurons in Parabrachial Nucleus of rats. *Journal of Autonomic Nervous System*, 48, 221-229.
- SUPPLE, W.F., LEATON, R.N. y FANSELOW, M.S., (1987). Effects of cerebellar vermal lesions on species-specific fear responses, neophobia, and taste-aversion learning in rats. *Physiology and Behavior*, 39, 579-586.
- SUPPLE, W.F. y LEATON, R.N., (1990). Lesions of the cerebellar vermis and cerebellar hemispheres: Effects on heart rate conditioning in rats. *Behavioral Neuroscience*, 104 (6), 934-947.
- SUPPLE, W.F., (1993). Hypothalamic modulation of Purkinje cell activity in the anterior

- cerebellar vermis. *Neuroreport*, 4, 979-982.
- SUPPLE, W.F., SEBASTIANI, L. y KAPP, B.S., (1993). Purkinje cell responses in the anterior cerebellar vermis during pavlovian fear conditioning in the rabbit. *Neuroreport*, 4, 975-978.
- SUPPLE, W.F. y KAPP, B.S., (1993). The anterior cerebellar vermis: Essential involvement in classically conditioned bradycardia in the rabbit. *The Journal of Neuroscience*, 13 (9), 3705-3711.
- SWAIN, R.A., SHINKMAN, P.G., NORDHOLM, A.F., y THOMPSON, R.F., (1992). Cerebellar stimulation as an unconditioned stimulus in classical conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 106 (5), 739-750.
- SWERDLOW, N.R. y GEYER, M.A., (1993). Prepulse Inhibition of acoustic startle in rat after lesions of the Pedunculopontine Tegmental Nucleus. *Behavioral Neuroscience*, 107 (1), 104-117.
- TANJI, J., (1987). Neuronal activity in the primate cortex is different from that in the primary motor cortex. En *Motor Areas of the cerebral cortex*. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 132), 142-150.
- THACH, W.T., (1987). Cerebellar inputs to motor cortex. En *Motor Areas of the cerebral cortex*. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 132), 201-220.
- THACH, W.T. y MONTGOMERY, E.B., (1990). Motor system. En Pearlman, A.L. y Collins, R.C. *Neurobiology of Disease*. Oxford Univ. Press.
- THOMPSON, R.F., CLARK, G.A., DONEGAN, N.H., LAVOND, D.G., MADDEN J., MAMOUNAS, L.A. MAUK, M.D. y MCCORMICK, D.A., (1984a). Neuronal substrates of basic associative learning. En L.R. Squire y N. Butters. (Eds.) *Neuropsychology of memory*. The Guilford Press. N. York.
- THOMPSON, R.F., CLARK G.A., DONEGAN, N.H., LAVOND, D.G., LINCOLN, J.S., MADDEN J., MAMOUNAS, L.A., MAUK, M.D., MCCORMICK, D.A. y THOMPSON, J.K., (1984b). Neuronal substrates of learning and memory: A "Multiple-Trace" view. En G. Lynch. *Neurobiology of learning and memory*. The

Guilford Press. N. York.

- THOMPSON, R.F., (1986). The neurobiology of learning and memory. *Science*, 233, 941-947.
- THOMPSON, R.F., DONEGAN, N.H., CLARK, G.A., LAVOND, D.G., LINCOLN, J.S., MADDEN IV, J., MAMOUNAS, L.A., MAUK, M.D. y McCORMICK, D.A., (1987). Neuronal substrates of discrete, defensive conditioned fear states, and their interactions in the rabbit. En Gormezano, I., Prokasy, W.F. y Thompson R.F. (Ed.) *Classical Conditioning*. LEA.
- THOMPSON, R.F., (1987). Neural circuitry of basic associative learning and implications for ontogeny. En Krasnegor, N.A., Blass, E.M., Hofer, M.A. y Smotherman, W.P. (Ed.) *Perinatal Development. A Psychobiological perspective*. Academic Press.
- THOMPSON, R.F., (1988). The neural basis of basic associative learning of discrete behavioral responses. *TINS*, 11 (4), 152-15.
- THOMPSON, R.F., (1991). Are memory traces localized or distributed? *Neuropsychologia*, 29 (6), 571-582.
- THOMPSON, R.F. y KRUPA, D.J., (1994). Organization of memory in the mammalian brain. *Ann.Rev.Neurosci.*, 17, 519-549.
- TONG, G., ROBERTSON, L.T. y BRONS, J. (1991). Vagal and somatic representation by the climbing fiber system in lobule V on the cat Cerebellum. *Brain Research*, 552, 58-66.
- TOPKA, H., VALL-SOLE, J., MASSAQUOI, S.G. y HALLETT, M., (1993). Deficit in classical conditioning in patients with cerebellar degeneration. *Brain*, 116, 961-969.
- TSUKAHARA, N., (1984). Classical conditioning mediated by the Red Nucleus: An Approach beginning at the cerebellar level. En G. Lynch. *Neurobiology of learning and memory*. The Guilford Press. N. York.
- TSUKAMOTO, G. y ADACHI, A., (1994). Neural responses of rat area postrema to stimuli producing nausea. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 49, 55-60.

- Van HAM, J.J. y YEO, C.H., (1992). Somatosensory Trigeminal projections to the Inferior Olive, Cerebellum and other Precerebellar Nuclei in rabbits. *European Journal of Neuroscience*, 4, 302-317.
- Van KAN, P.L.E., GIBSON, A.R. y HOUK, J.C., (1993). Movement-related inputs to intermediate Cerebellum of the Monkey. *Journal of Neurophysiology*, 69 (1).
- VONEIDA, T.J., CHRISTIE, D., BOGDANSKI, R. y CHOPKO, B., (1990). Changes in instrumentally and classically conditioned limb-flexion responses following Inferior Olivary lesions and Olivocerebellar tractotomy in the cat. *The Journal of Neuroscience*, 10 (11), 3583-3593.
- VOOGD, J., FEIRABEND, H.K.P. y SCHOEN, J.H.R., (1990). En Paxinos, G. (Ed.) *The Human Nervous System*. Academic Press.
- WALLESCH, C.W., y HORN, A., (1990). Long-Term effects of cerebellar pathology on cognitive functions. *Brain and Cognition*, 14, 19-25.
- WARRANTONG, E.K. y WEISKRANTZ, L., (1982). Amnesia: A disconnection syndrome?. *Neuropsychologia*, 20 (3), 233-248.
- WATSON, P.J., (1978). Nonmotor functions of the Cerebellum. *Psychological Bulletin*, 85 (5), 944-967.
- WELSH, J.P. y HARVEY, J.A., (1991). Pavlovian conditioning in the rabbit during inactivation of the Interpositus Nucleus. *Journal of Physiology*, 444, 459-480.
- WOODRUFF-PAK, D.S., LOGAN CH.G. y THOMPSON, R.F., (1990). Neurobiological substrates of classical conditioning across the life span. En A. Diamond. *The development and neural bases of higher cognitive functions*. Annals of the New York Academy of Sciences. Vol. 608. N. York.
- WOODRUFF-PAK, D.S., LAVOND, D.G., LOGAN, C.G., STEINMETZ, J.E. y THOMPSON, R.F., (1993). Cerebellar cortical lesions and reacquisition in classical conditioning of the nictitating membrane response in rabbits. *Brain Research*, 608, 67-77.

BIBLIOGRAFIA

- YAMAMOTO, T., SHIMURA, T., SAKO, N., AZUMA, S., BAI, W.-ZH. y WAKISAKA, S., (1992). C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *NeuroReport*, 3, 1049-1052.
- YAMAMOTO, T., SHIMURA, T., SAKO, N., SAKAI, N., TANIMIZU, T. y WAKISAKA, S., (1993). C-Fos expression in the Parabrachial Nucleus after ingestion of sodium chloride in the rat. *NeuroReport*, 4, 1223-1226.
- YEO, C.H. y HARDIMAN, M.J., (1992). Cerebellar cortex and eyeblink conditioning: A reexamination. *Exp. Brain Res.*, 88, 623-638.
- YOUSFI-MALKI, M. y PUIZILLOUT, J.J., (1994). Induction of Fos-like protein in neurons of the medulla oblongata after electrical stimulation of the vagus nerve in anesthetized rabbit. *Brain Research*, 635, 317-322.
- ZOLA-MORGAN, S., SQUIRE, L.R., REMPEL, N.L., CLOWER, R.P. y AMARAL, D.G., (1992). Enduring memory impairment in monkeys after oschemic damage to the Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 12 (7), 2582-2596.
- ZOLA-MORGAN, S., SQUIRE, L.R., CLOWER, R.P. y REMPEL, N.L., (1993). Damage to the Perirhinal Cortex exacerbates memory impairment following lesion to the Hippocampal formation. *The Journal of Neuroscience*, 13 (1), 251-265.